

실험적 심근경색 Model에서 Superoxide Dismutase와 Catalase 투여가 심근경색부위와 심근장애에 미치는 영향*

서울대학교 의과대학 내과학교실

김철호 · 박승우 · 오병희 · 이명목 · 박영배 · 최윤식 · 서정돈 · 이영우

= Abstract =

Effect of Superoxide Dismutase and Catalase on the Reduction of Postischemic Myocardial Dysfunction and the Extent of Myocardial Necrosis in Experimental Myocardial Infarct

Cheol Ho Kim, M.D., Seung Woo Park, M.D., Byung Hee Oh, M.D.,
Myoung Mook Lee, M.D., Young Bae Park, M.D., Yoon Sik Choi, M.D.,
Jung Don Seo, M.D., Young Woo Lee, M.D.

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

Background : To evaluate the hypothesis that reperfusion injury and reperfusion arrhythmia could be caused by oxygen free radicals and that prolonged myocardial dysfunction could be induced by oxygen free radical.

Methods : Experimental model of anesthetized open chest dogs was used. Coronary artery was occluded for 60 minutes and reperfusion was performed for 4 hours. In 5 dogs, superoxide dismutase and catalase were infused concomitantly 15 minutes after coronary occlusion to 15 minutes after reperfusion. In 9 dogs, 0.9% saline was infused instead of free radical scavengers. Hemodynamic parameters such as heart rate, left ventricular peak systolic pressure, end-diastolic pressure, peak positive dp/dt, and peak negative dp/dt were analysed. Infarct size was estimated by the unstained area in nitroblue tetrazolium staining and risk area was calculated from the unstained area after methylen blue infusion. Regional systolic function was observed in systolic thickening of ischemic area by echoacardiogram.

Results :

- 1) Reperfusion arrhythmia occurred in 67% of control group and in 50% of drug treated group.
- 2) Systolic hemodynamic parameters such as peak systolic pressure, peak positive dp/dt showed no differences between control and drug-treated group.
- 3) Diastolic parameters such as end-diastolic pressure and peak negative dp/dt were not different in two groups.

*본 연구는 1988년 서울대학교병원 대단위연구비의 일부보조로 이루어진 것임.

4) Regional systolic parameter measured by systolic thickening in ischemic area improved after reperfusion and continued to be better in durg treated group than in control group.

5) Infarct size, risk area, ratio of infarct size to risk area were not different in two groups.

Conclusion : Superoxide dismutase and catalase showed no effect in reducing the infarct size in anesthetized open chest canine model with 60 minutes of coronary occlusion and 4 hours of reperfusion. However, postischemic prolonged myocardial dysfunction tended to improve after reperfusion in durg treated group.

KEY WORDS : Reperfusion injury · Free radical · Superoxide dismutase · Catalase.

서 론

급성심근경색시 허혈에 의한 심근괴사의 wave front 현상을 감소시켜, 전체적인 심근괴사량을 감소시키려는 방법으로 적절한 재관류가 중요하다는 사실은 실험적 및 임상연구에서 잘 밝혀져 있다¹⁻⁵⁾. 그러나 재관류 자체가 허혈에 의해 가역적 손상을 받은 심근이나 혈관내막에 손상을 줄수 있다는 소위 “재관류손상”(reperfusion injury)의 가설에 대두되어 있고⁶⁾, 재관류시에는 흔히 재관류 부정맥이 발생하여 이에 의한 사망이 보고되어 있으며, 허혈후 재관류하더라도 심기능 장애가 장시간 계속되는 지연성 심기능장애(prolonged myocardial dysfunction)가 발생하므로 이들의 기전을 밝혀, 부정맥이나 심부전에 의한 사망을 감소시키는 연구가 요구된다.

재관류손상은 Hearse등⁷⁾이 백서심장의 분리관류(isolated perfusion) 실험에서 20분간 저산소에 노출후 산소를 재공급하면 심근손상의 지표인 creatine phosphokinase(이후 CK로 약함) 농도가 감소하지만, 100분간의 저산소에 노출후 산소를 재공급시킬 때는 오히려 CK 농도가 급격히 상승함을 관찰하여, 허혈에 의해 변성된 심근에 산소가 손상을 가중시키는 oxygen paradox라는 개념이 도입되면서 연구되기 시작했다. 한편 Zimmerman등⁸⁾은 백서심근의 홍분교합 실험에서 칼슘이 없던 용액으로 관류한 후, 칼슘이 포함된 용액으로 관류하면 심한 심근손상이 생기는 것을 관찰하여 이를 calcium paradox라고 하였는데, 이때 나타나는 형태학적 변화는 oxygen paradox시에 나타나는 변화와 유사한 면이 많아 Hearse등⁹⁾은 이 두가지 paradox는 동일한 문제의 다른 면을 보여주는 것이 아닌가 하고

주장하였다. 이상과 같은 재관류손상의 기전은 재관류시 생성되는 독성 산소대사물들이 심근이나 혈관내막에 영향을 미쳐 세포내의 칼슘이 증가되고, 세포의 삼투적 팽창등이 일어난다는 가설이 유력하다¹⁰⁾. 실제로 허혈성 심근을 재관류시킬때 electron spin resonance 방법으로 측정하여 보면 hydrogen peroxide(H_2O_2), hydroxyl radical($\cdot OH$), superoxide radical($\cdot O_2$)등이 유리산소 radical의 생성이 증가됨이 관찰되므로 이들 유리산소 radical의 작용이 중요하다고 생각된다.

이와 같은 재관류 손상을 방지하기 위해서 xanthine, hypoxanthine과 산소를 요산과 H_2O_2 , $\cdot O_2$ 로 전환하는 xanthine oxidase 억제제를 이용하여 유리산소 radical의 생성을 줄이거나, 생성된 유리산소 radical의 대사를 촉진시키는 방법들이 연구되고 있다. Xanthine oxidase 억제제로는 allopurinol이 사용되고 있는바, allopurinol을 사용하여 부정맥의 발생 및 CK를 혈중농도를 감소시키고, 심근괴사의 정도를 줄였다는 Myers등¹¹⁾, Chambers등¹²⁾, Werns등¹³⁾의 보고와 감소되지 않았다는 Reimer등¹⁴⁾, Kinsman등¹⁵⁾, Puett등¹⁶⁾의 보고가 상반되어 있다. 한편 유리산소 radical의 대사를 촉진시키는 scavenger로서는 superoxide dismutase(SOD)나 catalase(CAT)등이 있는데 이들을 이용하여 심근허혈시와 재관류시 심근의 수축기능이 개선되고 미세구조의 손상이 작다는 보고가 있지만 경색부위 감소의 여부에 관하여는 논란이 많다. Jolly등¹⁰⁾, Werns등¹⁷⁾, Chambers등¹²⁾, Ambrosio등¹⁸⁾은 경색부위가 감소한다고 보고하였으나, Gallergher등¹⁹⁾, Uraizee등²⁰⁾, Nejima등²¹⁾, Richard등²²⁾은 감소하지 않는다고 보고하였다.

이상과 같이 결과가 상반됨에는 여러가지 원인이

있겠으나 첫째로는 결찰시간이 상이하다는 점으로 60분내지 90분사이의 결찰인 경우에는 SOD에 의한 경색범위의 감소가 가능하였지만 40분이나 3시간 결찰인 경우에는 경색범위의 감소가 없었다는 점에서 재관류손상은 허혈기간이 60분이나 90분간 지속시 발생하는 것으로 이 기간에는 미세혈관의 손상이 생겨 no-reflow 현상²³⁾이 발생하고 이것이 SOD의하여 방지되지만, 40분이전에는 미세혈관의 손상이 없고 3시간에는 비가역적 손상이 생겼다고 생각할 수도 있다. 또한 허혈시 부행혈관의 공급이 많은 심의와하의 심근이 허혈시간이 60분에서 90분일 경우에 유리산소 radical의 형성에 의해 더 많은 손상을 받는다고 생각할 수도 있다. 둘째로는 부행혈관을 통한 혈류의 차이에 의하여 부행혈관의 발달이 클수록 심근경색부위가 작아진다고 생각할 수도 있다. Uraizee등²⁰⁾과 Ambrosio등¹⁸⁾의 연구에서 보면 부행혈관의 혈류와 경색범위는 역비례하나 대부분의 연구에서 부행혈관을 통한 혈류의 고려는 없었으므로 선택의 오류가 작용했을 가능성이 있다. 세째로는 SOD 단독으로의 효과 보다는 CAT와 복합시 좋은 결과가 생길 가능성이 높다. 그러나 CAT를 동시에 투여한 실험들에서도 결과가 상반되어 있어 이런 점만으로는 실험의 차이점을 설명하기에는 미흡하며, 아직까지 유리산소 radical의 생성장소와 재관류손상의 정도에는 불투명한 점이 많다.

재관류시 또하나의 문제점으로는 허혈에 의하여 발생하는 심근의 기능의 장애가 즉시 회복되지 않는 지연성 심근장애로써 이를 stunned myocardium이라고 한다^{4,24-26)}. 여러 연구에서 유리산소 radical이 stunned myocardium내에서 증가되며, 단백질을 변성시켜 효소를 비활성화 시키고, 불포화지방산의 peroxidation에 의해 세포막의 투과성을 변화시켜 심근기능의 장애를 초래할 수 있다고 알려져 있다²⁷⁾. Xanthine oxidase의 억제제인 oxypurinol이나 allopurinol을 사용하여^{16,28)} stunned myocardium이 감소되었다는 보고도 있고, SOD나 CAT를 투여하여 좌심실기능이 향상되며 국소수축기능의 향상이 현저하였다는 보고들이 많았다²⁹⁻³²⁾. 대부분의 연구에서 15분간의 허혈후 시행된 것이나 임상적으로는 심근경색이 유발된 환자에서의 심근기능장애가 중요하나 60분이나 90분간의 허혈 이후에서의

결과는 Puett등의 연구¹⁶⁾를 제외하면 알려진바 없다.

허혈성 심근을 재관류하면 심실빈맥이나 심실세동이 빈발한다는 사실은 Cornheim등³³⁾이 보고한 이래 여러 보고자에 의해 확인되었으며³⁴⁻³⁷⁾, 임상적으로도 관동맥 경련후 이완시나, 심근경색초기에 혈전용해제를 사용하거나³⁸⁾ 경피적관동맥확장술을 실시하여 관동맥 재관류에 성공하였을 때 재관류 부정맥을 관찰할수 있다^{39,40)}. Shen등⁴¹⁾은 재관류 부정맥이 호발하는 40분간의 관동맥결찰후 10분간의 재관류시 심근의 calcium uptake이 18배 증가된 반면, 재관류부정맥의 발생이 작은 10분간 관동맥결찰에 의한 가역적 심근 손상뒤의 재관류시나, 재관류 없는 90분간의 허혈시에는 calcium uptake의 증가가 없다고 보고함으로써 재관류부정맥에 calcium이 작용한다고 보고하였다. 한편 재관류 부정맥의 발생에는 재관류 자체보다 재산소화가 중요하다는 연구⁴³⁾도 있고, 재산소화의 중요성과 calcium농도의 증가로 유리산소 radical의 중요성을 착안하여 Manning등⁴³⁾은 백서에서 allopurinol을 투여한 후 심실세동이 감소하였다고 보고하였고, Pieper등³¹⁾도 당료가 유발된 백서 심장의 분리 관류 실험에서 SOD와 CAT를 동시에 투여하여 심실세동이 감소한다고 보고하였으나 심근경색의 감소 및 이와 동반된 재관류부정맥의 발생빈도 감소 여부에 대한 결과는 확실치 않은 점이 많다.

이상과 같은 배경에서 잡견을 이용하여 실험적 관동맥 결찰후 SOD와 CAT를 투여한후 재관류 시킴으로서 1) 투여군과 대조군간의 부정맥발생빈도 및 혈역학적 인자등에 차이가 발생하는가를 관찰하고, 2) 투여군과 대조군간의 경색범위를 정량적으로 측정하여 경색의 범위에 차이가 있는가를 관찰하며, 3) 투여군과 대조군 사이에 국소심근운동의 차이가 허혈시 및 재관류시 생기는가를 비교관찰하려 하였다.

연구 대상 및 방법

1) 실험대상

21마리의 건강한 잡견(체중 10~15kg)을 성별에 관계없이 사용하였으나 관동맥 결찰후 심한 심실 부정맥을 보이거나 제세동후 심근 기능이 저하되어

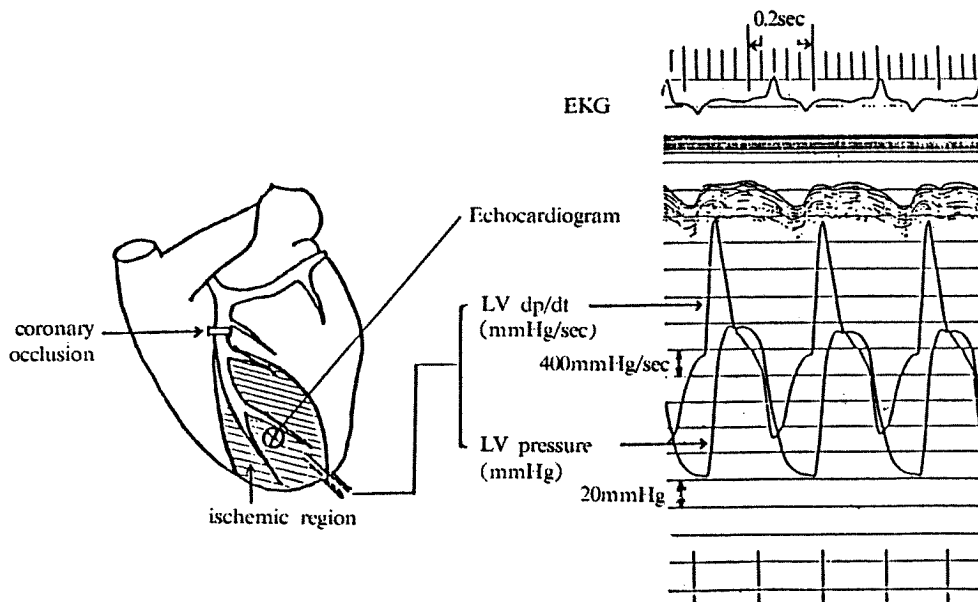


Fig. 1. Diagram of experimental instrumentation.

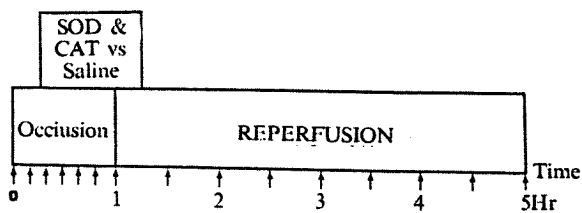


Fig. 2. Diagram showing experimental procedure SOD & CAT : Superoxide dismutase and catalase were infused for one hour beginning 15 minutes after coronary occlusion. Arrows(→) show the timing of tracing of hemodynamic data.

실험을 계속할 수 없었던 6마리는 제외하였고, 나머지 15마리 중 9마리는 대조군으로 6마리는 약물 투여군으로 실험하였다.

2) 실험방법

Pentobarbital sodium을 kg당 30mg 주사하여 마취한 후 기관지삽관하여 인공호흡기로 양호흡을 시켰다. 심전도를 감시하여 양와위에서 정중선으로 절개한 후 심낭을 절개하여 심낭요람을 만든후 제1대각지의 원위부의 좌전하동맥을 박리하였다. 심첨부를 천자하여 7F 동맥관을 삽입하여 좌심실압과 일차미분치 dp/dt를 구하였다. 좌전하동맥의 관류부위의 심외막에 3.5MHz ultrasound transducer를 부착하여 전벽의 운동을 감시하였다(Fig. 1). 실험중

기록은 Electronic for Medicine 사의 VR-12를 이용하여 초당 100mm 속도로 하기방법으로 실시하였다.

3) 실험설계(Fig. 2)

가) 기본 상태

실험동물의 관동맥에 아무 조작도 하지 않은 상태에서 심전도, 심초음파도, 좌심실압과 및 dp/dt를 호흡주기상 호기 시작부터 4~5 심박주기 동안 150mm/s의 속도로 기록하였다.

나) 관동맥의 폐색

Harris 2단계 방법⁴⁴⁾에 의하여 관동맥위에 guide-wire를 위치시킨후 관동맥을 결찰하고 15분이 경과한 후 완전히 결찰하였다. 실험초기에는 2단계법을 거치지 않고 1단계로 결찰하였으나 심한 심실부정맥이 유발되어 이를 채택하였다.

관동맥 결찰 15분후 약물투여군 6마리는 bovine erythrocyte superoxide dismutase(Sigma 회사, 미국)를 kg당 15,000U와 catalase(Sigma회사제, 미국)를 kg당 5mg을 생리식염수를 150ml에 희석하여 1시간에 걸쳐 주입하였으며 대조군은 생리식염수만을 정맥주사했다. 1시간의 관동맥결후 혈관감자를 풀어 재관류시켰다. 기록은 관동맥 결찰중 10분 간격으로 6회 실시하였다.

다) 재관류

혈액이 관동맥으로 재관류되는가를 확인하면서 30분 간격으로 8회 기록하였다. 4시간이 경과하면 다시 관동맥을 결찰하여 혈류를 차단하고 심첨부의 동맥관을 통해 methylene blue 3% 용액 50ml를 주사한 후, potassium chloride 40mEq를 주사하여 안락사 시킨후 심장이 정지하는 즉시 대동맥, 폐동맥, 상, 하공정맥, 폐정맥을 잘라 심장을 적출했다.

관동맥결찰 도중이나 재관류시 심실세동이 발생하면 직경 5cm짜리 paddle이 달린 제세동기(78620 A defibrillator-monitor, Hewlett Packard)를 이용하여 10J의 에너지로 제세동을 시도했다.

4) 측정 한 지표

좌심실압과 이의 일차미분치인 dp/dt에서 좌심실 수축기최고압(peak left ventricular systolic pressure : LVSP), 좌심실확장기말압(left ventricular end-diastolic pressure : LVEDP), 양성 dp/dt의 최고치(peak positive dp/dt), 음성 dp/dt의 최저치(peak negative dp/dt)를 측정하여 구하였으며, 좌심실의 급격한 압력상승점을 확장기말, peak negative dp/dt 때를 수축기말로 측정하여 수축기와 확장기말의 벽두께를 차이를 확장기말의 벽두께로 나뉘서 100을 곱하여 systolic thickening으로 하였다.

5) 심근경색 부위와 위험부위의 염색

적출된 심장은 37도의 생리식염수에 세척하고 우심실, 좌심방, 우심방을 제거하여 유두근에 평행하게 4개의 절편을 만들어 각 절편의 무게를 측정하고 37도의 0.05% nitroblue tetrazolium(NBT) 용액을 0.5Mol의 Tris Buffer 용액에 제조하여 이 용액에 심첨부에 가까운 쪽을 37도의 incubator에 넣어 경색부위에 염색했다. 이후 심장절편은 10%의 formalin 용액에 넣어 고정시켰다.

6) 경색 및 위험 부위의 계측 방법

경색부위는 NBT 염색상 염색이 되지않은 부위의 넓이를 투명한 용지에 옮겨 그린 후 digitizer로 computer program을 이용하여 측정하고 관동맥관류범위도 methylene blue가 염색되지 않은 부분의 면적을 구하여 각 절편의 면적에 대한 비로 결정했다. 여기에 각 절편의 무게를 곱하여 이들을 합하면 전체 경색의 중량과 관류부분의 중량을 도출하여

이 두개의 비로써 경색부위와 관류부위의 비를 계산했다.

7) 해석 및 통계방법

통계처리는 통계처리 프로그램인 SAS를 이용하였다. 실측치는 평균±표준 편차로 표시하였고 유의성의 검정은 Wicoxon rank sum test를 사용하였으며 유의수준은 p value가 0.05 이하로 하였다.

결 과

1) 재관류 부정맥의 빈도

국소 심근허혈을 유도한 후 심실빈맥이나 심실세동은 대조군에서는 9마리중 2마리(22%)에서 약물군에서는 6마리중 1마리(16%)에서 나타났고, 재관류시 심실빈맥이나 심실세동은 대조군 9마리중 6마리(67%)에서, 약물군 9마리중 3마리(50%)에서 관찰되어 두 군사이에 유의한 차이는 없었다(Table 1).

2) 혈압 및 맥박수의 비교

Table 1. Incidence of ventricular tachycardia and fibrillation

	occlusion VT/VF	reperfusion VT/VF
control(n=9)	2/9(22%)	6/9(67%)
SOD+CAT(n=6)	1/6(16%)	3/6(50%)

VT : ventricular tachycardia,

VF : ventricular fibrillation

SOD : superoxide dismutase, CAT : catalase

Table 2. Hemodynamic parameters during coronary occlusion and reperfusion

		Blood pressure(mmHg)		Heart rate(/min)	
		control*	drug*	control**	drug**
Basal		158±25	178±16	114±19	129±24
O	30	144±23	171±30	104±21	114±43
O	60	138±20	167±29	99±26	122±21
R	60	118±48	154±30	115±26	127±33
R	120	116±51	99±45	119±28	119±28
R	180	109±47	137±33	104±47	122±17
R	240	111±47	127±28	106±49	124±18

O : coronary occlusion, R : reperfusion

*, ** : all parameters were statistically insignificant

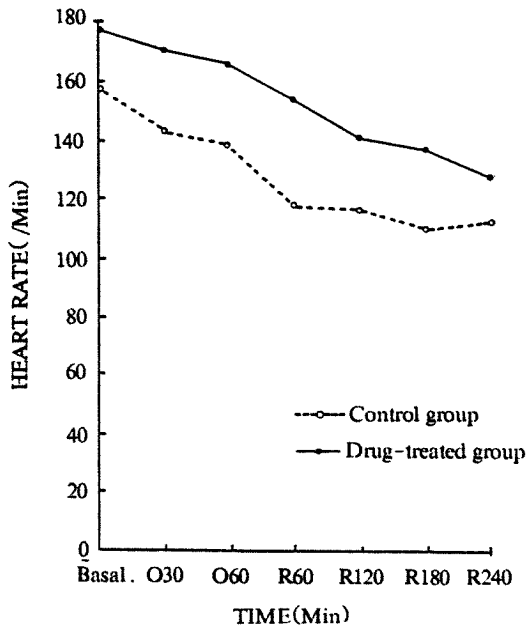


Fig. 3. Change of heart rate in control and drug-treated groups.
(O ; occlusion, R ; reperfusion)

대조군과 약물군 간의 혈압 및 맥박수는 Table 2에 비교하였다. 맥박수와 혈압은 관동맥 결찰 전 대조군에 비하여 약물군이 약간 높았으며, 관동맥 결찰 중이나 재관류시에도 계속 같은 양상이었으나 두 군 사이에는 통계적으로 유의한 차이는 관찰할 수 없었다(Fig. 3 & 4).

3) 좌심실 확장기 압력의 비교

좌심실 확장기 압은 대조군과 약물군 사이에 유의한 차이는 없었다.

4) peak positive dp/dt와 peak negative dp/dt의

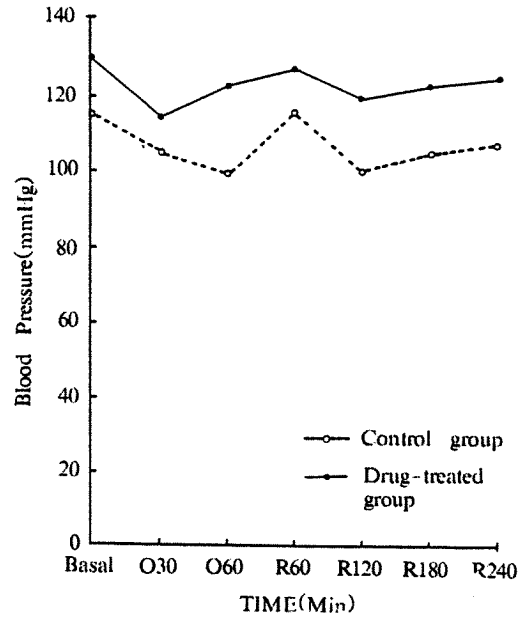


Fig. 4. Change of blood pressure in control and drug-treated groups.
(O ; occlusion, R ; reperfusion)

비교

좌심실 압력곡선의 1차도함수에서 구한 peak positive dp/dt치와 peak negative dp/dt치를 Table 3에 표시하였는데, 이중 관동맥 결찰 60분때의 peak negative dp/dt치를 제외하고는 대조군과 약물군 사이에 통계적으로 유의한 차이를 관찰할 수 없었다(Fig. 5 & 6).

5) Systolic thickening의 변화

벽두께의 차이를 관찰한 결과(Table 4, Fig. 7), 관동맥 결찰중이나 관동맥 재관류시 약물군에서 현저히 개선되는 양상을 보였는데, basal 상태 및

Table 3. Parameters derived from first derivative of left ventricular pressure

	peak(+) dp/dt(mmHg/s)		peak(-) dp/dt(mmHg/s)	
	control	drug	control	drug
Basal	1744±551	1996±404	1210±240	1383±136
O 30	1308±366	1736±883	908±303	1163±815
O 60	1245±467	1773±605	853±343*	1391±325*
R 60	1522±427	1773±607	1068±287	1328±463
R 120	1378±732	1580±491	951±497	1266±320
R 180	1390±662	1598±418	964±508	1246±245
R 240	1380±653	1595±435	935±528	1201±261

* : statistically significant(p<0.05)

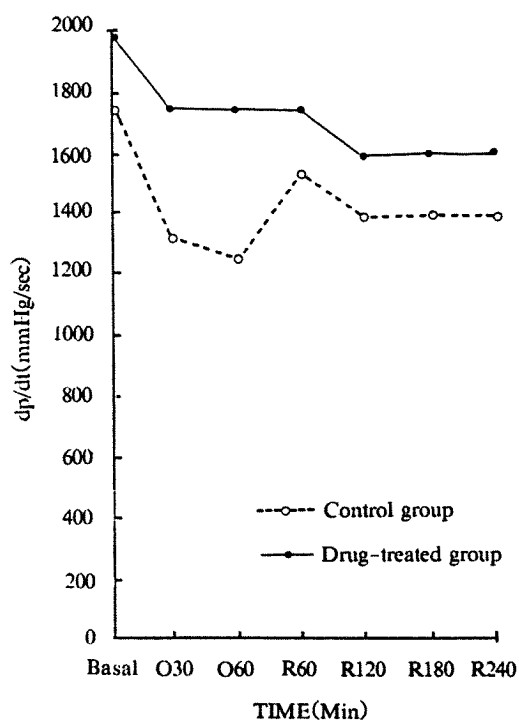


Fig. 5. Left ventricular peak positive dp/dt in control and drug-treated groups.
(O : occlusion, R ; reperfusion)

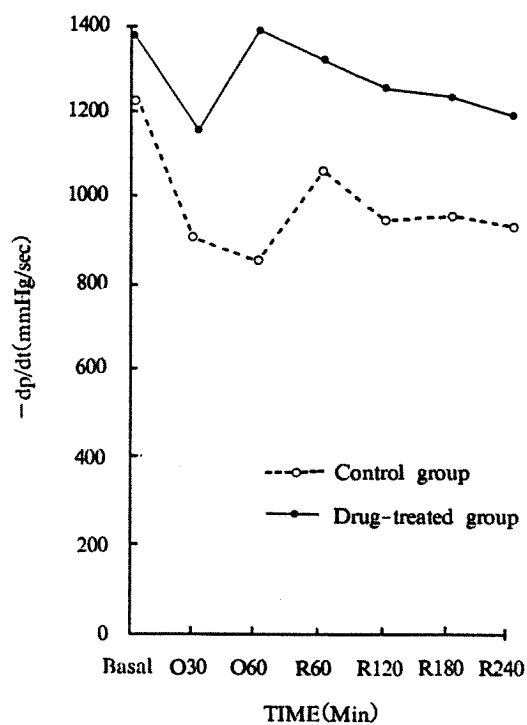


Fig. 6. Left ventricular peak negative dp/dt in control and drug-treated groups.
(O : occlusion, R ; reperfusion)

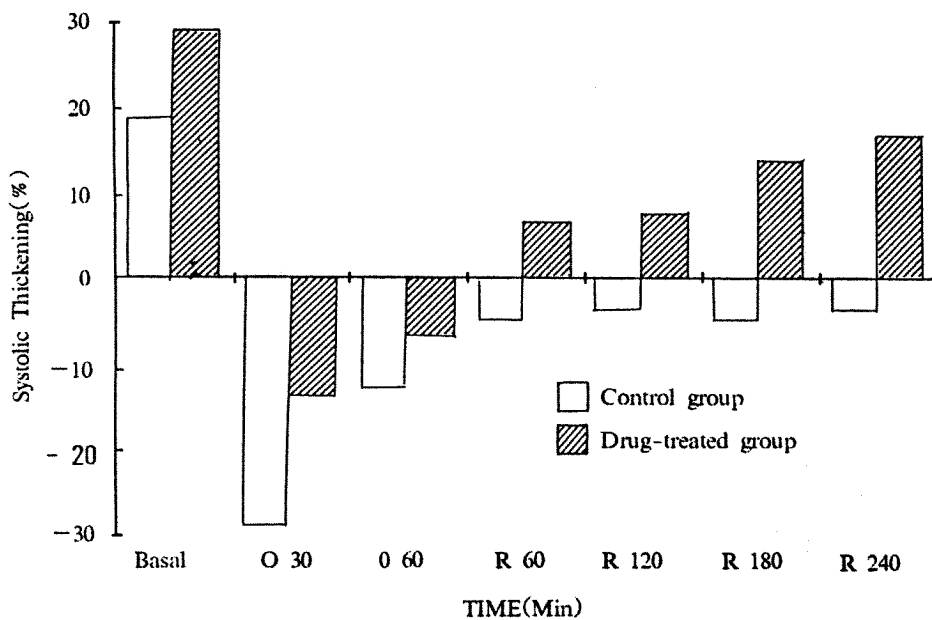


Fig. 7. Systolic thickening in control and drug-treated group.
(O : occlusion, R ; reperfusion)

Table 4. Changes of systolic thickening ic control and drug-treated group

	Basal	O 30	O 60	R 60	R 120	R 180	R 240
Control(%)	19±5	-29±28	-13±9	-5±9	-4±2	-5±6	-4±4
drug(%)	29±9	-14±7	-7±8	7±6	8±6	14±9	17±12
Significance	ns	ns	ns	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05

ns : not significant

Table 5. Risk and infarct area in control and drug treated group

	Control*	Drug-Tx*
LV weigint(gm)	31.98±2.99	28.73±4.61
risk weighth(gm)	7.60±6.55	6.39±2.77
infarct weighth(gm)	4.23±3.44	4.00±1.78
risk/LV ratio(%)	23.54±19.88	23.55±11.68
infarct/LV ratio(%)	13.23±10.07	14.75±7.98
infarct/risk ratio(%)	57.73±17.73	64.95±21.38

* : all parameters were statistically insignificant

관동맥결찰 중에는 통계적으로 유의한 차이는 없었으나, 재관류 60분에 대조군에서 $-5\pm 9\%$, 약물군에서 $7\pm 6\%$ ($p<0.05$), 재관류 120분에 대조군에서 $-4\pm 7\%$, 약물군에서 $8\pm 6\%$ ($p<0.05$), 재관류 180분에 대조군에서 $-5\pm 6\%$, 약물군에서 $14\pm 9\%$ ($p<0.05$), 재관류 240분에 대조군에서 $-4\pm 4\%$, 약물군에서 $17\pm 12\%$ ($p<0.05$)로 재관류 시간이 지속됨에 따라 현저히 개선됨을 관찰할 수

있었다.

6) 경색부위의 비교

경색부위를 중량 및 좌심실 중량에 대한 비율로서 비교하였다(Table 5). 좌심실의 중량은 대조군에서 $31.98\pm 2.99\text{gm}$, 약물군에서 $28.73\pm 4.61\text{gm}$, 위험부위의 중량은 대조군에서 $7.70\pm 6.55\text{gm}$, 약물군에서 $6.39\pm 2.77\text{gm}$, 경색부위의 중량은 대조군에서 $4.23\pm 3.44\text{gm}$, 약물군에서 $4.00\pm 1.78\text{gm}$ 으로 통계학적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 8).

한편 위험부위와 좌심실 중량의 비는 대조군에서 $23.54\pm 19.88\text{gm}$, 약물군에서 $23.25\pm 11.63\text{gm}$, 경색부위와 좌심실중량의 비는 대조군에서 $13.23\pm 10.07\text{gm}$, 약물군에서 $14.75\pm 7.98\text{gm}$, 경색부위와 위험부위의 비는 대조군에서 $57.73\pm 17.73\text{gm}$, 약물군에서 $64.95\pm 21.38\text{gm}$ 로 이들 역시 두군 사이에

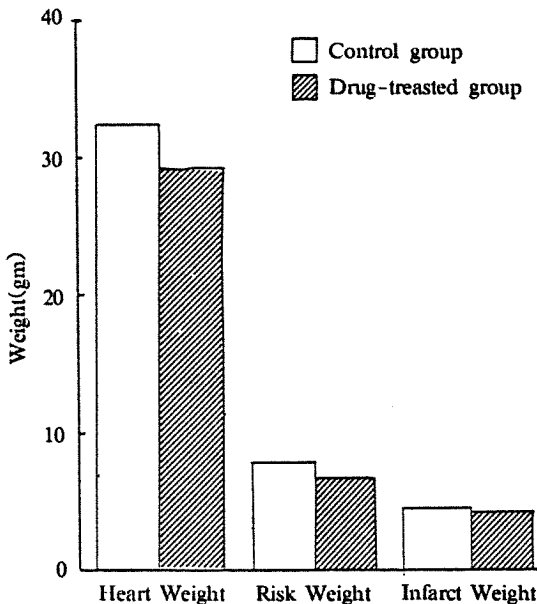


Fig. 8. Risk and infarct weight in control and drug-treated groups.

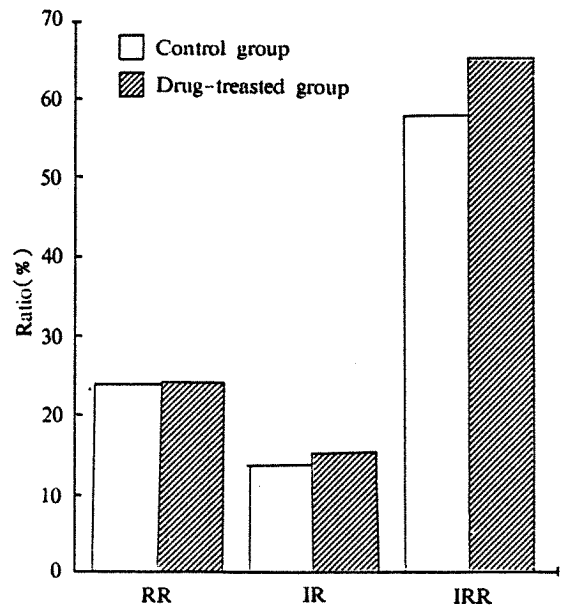


Fig. 9. Risk and infarct to left ventricular ratio in control and drug-treated groups.

RR : Risk to left ventricular ratio in weight
IR : Infarct to left ventricular ratio in weight
IRR : infarct to risk ratio in weight

통계학적으로 유의한 차이가 없었다(Fig. 9).

고 안

장시간의 허혈 후 심근의 괴사를 감소시키기 위해 재관류를 시키면 재관류손상, 지연성심기능장애 및 재관류부정맥이 발생하며, 그 원인에는 여러가지가 있을 수 있으나 유리 산소 radical이 중요한 역할을 한다는 증거가 많다. 유리산소 radical의 생성은 2가지 효소를 통한다고 생각되고 있다^{45,46}). 즉, xanthine oxidase와 환원된 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADP) oxidase이다. Xanthine oxidase는 심근허혈시 심근세포나 혈관내막등에 있는 xanthine dehydrogenase로부터 변화되는 것으로 hypoxanthine, xanthine 및 산소분자로부터 요산과 H_2O_2 및 $\cdot O_2$ 를 생성하는 효소이다. 심근허혈시에는 ATP가 빠른 속도로 분해되고 많은 양의 hypoxanthine이 축적되어 있다가, 재관류시 산소 분자가 공급되면 xanthine oxidase에 의해 많은 양의 유리산소 radical이 생성된다⁴⁷). 유리산소 radical은 허혈시 부행혈관(collateral circulation)으로 공급되는 산소에 의해서도 소량 형성될 수 있으나, 대부분은 재관류시 반응성 hyperemia에 의해 공급되는 대량의 산소에 의해 생성된다. 한편 허혈시 조직 내에는 glutathione이나 SOD가 감소되어 유리산소 radical의 처리능력이 감소되므로 허혈시 살아 남은 심근세포가 재관류시 형성되는 유리산소 radical에 의해 더욱 세포가 괴사되어 재관류손상이 발생할 수 있다. 본 연구에서는 유리산소 radical scavenger인 SOD, CAT를 이용하여 이들이 재관류부정맥의 발생빈도, 지연성심근장애 및 심근경색의 범위에 미치는 영향을 밝히고자 하였다.

연구의 대상으로 잡견을 선택한 것은 xanthine oxidase가 잡견의 심근내에 많고¹²), 부행혈관의 형성이 많아 허혈성부정맥의 발생이 적다고 알려져 있기 때문이었다. 관동맥의 폐쇄는 LAD의 제1대 각지 직하부를 박리하여 사용하였으므로 LAD 기시부를 사용한 경우보다 위험부위가 현저히 작았던 것으로 생각되나 심근허혈시 부정맥의 발생을 감소시키고, 심부전을 방지하기 위해서는 필수적인 선택이었다. 또한 폐색여부는 폐쇄혈관의 원위부의 심근이 창백하여지고, 모순적 심근운동이 나타나는

것으로 확인하였는데 이는 동위원소를 이용하여 부행혈관의 정도를 정확한 정량하는 방법에 비하여, 폐쇄의 정도를 평가하기엔 미흡하였다고 생각되었다.

관동맥결찰을 1단계로 시행할 경우 심실빈맥이나 세동이 생기고 제세동후에도 심한 심근장애가 수반되어 6마리의 대상잡견에서 실험이 불가능하였으므로, Harris 2단계 결찰⁴⁴)을 실시하였다. 2단계 결찰 방법은 1단계 결찰에 의해 일부의 혈류를 차단하고, 이로써 부행혈관이 개방되도록 한 후, 2차 결찰에 의해 완전히 혈류가 차단되도록 하는 방법으로 급작스런 심근의 허혈을 방지하여 허혈성부정맥을 예방하자는 것이었다. 그러나 1단계 결찰보다 급격한 혈류차단이 생기지 않으므로 경색의 위험부위 및 경색부위가 감소되어 경색유발이 불충분 할 가능성이 있으나, 본 실험의 경우 재관류부정맥의 빈도가 대조군의 67% 및 약물군의 50%에서 발생되어 심근허혈은 충분히 보장된 것으로 사료되었다.

관동맥결찰 시간은 심근경색을 유발시킨 후 약물을 사용하여 재관류 효과를 판정하는데 대단히 중요한바 일반적으로 관동맥 결찰시간이 20분이상 일때 심근경색이 발생하며, 이후 wave front로 심외막쪽으로 진행하여 40분내지 90분사이에는 심내막하에 국한되나 180분이상 지속시에는 전벽경색(transmural infarct)이 발생된다고 밝혀져 있다³). 한편 유리산소 radical의 형성은 심근 허혈시간이 10분에서 60분사이에 최고에 이른다고 보고되어 있다⁴⁸). 따라서 많은 연구에서 관동맥 결찰시간을 40분, 60분, 또는 90분으로 결정하여 사용하고 있으나, 최근 40분간의 관동맥결찰 후 많은 약제를 투여하였으나 경색부위를 감소시키는데 성공하지 못하였다는 보고²⁰)도 많아, 본 연구에서는 관동맥 결찰시간을 60분으로 정하여 충분한 경색과 산소 radical의 생성을 유도하려고 하였다.

실험에 사용된 약제 중 superoxide dismutase는 superoxide($\cdot O_2$)를 hydrogen peroxide(H_2O_2)로 전환시키는 효소로써, 많은 연구에서 SOD를 단독으로 투여하여 경색범위의 축소를 관찰하려 하였으나, 이론적으로 H_2O_2 는 Fenton반응을 유발시켜 hydroxyl radical을 생성할 수도 있으므로, 이를 방지하기 위해 일부의 연구에서 경색을 감소시키려는

목적으로 생체에 SOD와 catalase를 동시에 투여하여 경색부위를 축소하고자 하였다. 그러나 본연구에서는 SOD와 catalase를 투여하여 경색부위의 축소뿐 아니라 지연성 심근장애를 감소시키는데 어떤 영향을 줄 수 있는가를 분석하고자 하였다. 그 결과 SOD와 catalase를 투여한 군에서 systolic thickening이 현저히 개선됨을 알 수 있었고, 이는 15분간의 허혈 후 4시간 재관류시키며 SOD와 catalase를 투여한 군에서 SOD나 catalase를 단독으로 투여한 군보다 systolic thickening의 회복이 향상된다는 보고³²⁾와 일치된 결과였고, 이로써 stunning 효과의 유발에는 superoxide뿐만이 아닌 hydrogen peroxide도 관련된다고 사료되었다.

관동맥폐쇄에 의한 허혈 후 재관류시 나타나는 재관류부정맥은 임상적으로도 드물지 않은 현상으로서, 심근경색시 혈전용해제 치료시나 응급 관동맥확장술 시에도 경험할수 있고, 관동맥 경련이 장기간 계속후 이완될 때도 사망 원인으로 작용할수 있으므로 매우 중요한 현상이다. 본 연구에서 재관류부정맥의 빈도는 대조군에서 67%, 약물군에서 50%로서, 이는 외국의 conscious dog를 대상으로 하였을 때의 8%내지 29%의 빈도와 비교할 때 매우 높은 빈도라 하겠으나 마취된 잠견을 이용한 Werns등의 보고¹⁷⁾에서도 제세동이 2회 이상 요구되거나 치명적인 부정맥이 있던 예가 22%였던 것으로 보면 마취의 유무가 빈도에 중요한 요인이 될 것으로 추정되나, 이에 대한 확실한 원인은 현재로는 규명할 수 없었다.

심근의 국소기능은 재관류시 대조군에 비하여 현저한 향상을 보여 지속성 심기능장애가 산소 radical에 의해 유발된다는 증거가 될 것으로 사료되었다. 심근의 국소기능은 향상되나 경색부위는 감소하지 않았다는 결과는 모순적으로도 생각되나 경색 후 살아남은 심근세포는 심외막하에 위치한다고 생각되는 바, 허혈시 허혈이 가장 심한 심내막하에서는 부행혈관에 의한 혈류가 차단되어 약제의 투입이 어렵고, 경색이 완전히 발생하지만, 심외막하의 심근에서는 허혈시에도 부행동맥으로 전해진 효소들이 허혈시 생성되는 소량의 산소 radical을 제거하며, 재관류시 손상을 받은 심근에 약제의 투입에 의해 심외막하의 심근만이 stunning효과를 적게 받을 것으로 생각된다. 이는 실

제로 심근경색 후 좌심실조영술을 시행하면 재관류 시도 후 즉시에는 기능이 없던 부위가 2주후에는 약간의 기능이 회복한다는 점⁴⁹⁾과도 부합된다고 사료되었다. 그러나 이들 심외막하 심근 기능의 측정은 본 연구에서 사용한 systolic thickening보다 microsonometer를 이용하여 근육의 수축 방향에 평행한 segmental thickening을 측정하는 것이 훨씬 정확한 방법이라 사료된다.

혈역학적 인자 중 모든 인자가 대조군과 약물군 사이에 차이를 보이지 않았는데 이는 각 대상에서 시간에 따른 차이는 거의 비슷하기 때문인 것으로 생각되었고, 특히 국소기능의 평가에 전체적 심기능의 혈역학적인자인 LVEDP, peak positive dp/dt 들을 이용하는 데에는 많은 제약이 있다는 사실을 뒷바침해 주는 소견이라 할 수 있다.

유리 산소 radical scavenger에 의해 심근경색의 부위가 감소되지 않은 것은 유리 산소 radical은 작용시간이 매우 짧고, 확산거리도 매우 짧으므로 어떤 원인으로든 사용한 약제가 유리산소 radical이 발생하는 국소에 도달하지 못했을 가능성이 높다. 이에 대한 가능성으로는 유리산소 radical은 세포 내에서 작용하는데 비하여 SOD와 catalase는 분자량이 크기 때문에 세포막을 투과할 수 없는 것이 아닌가 생각되기도 하고, 둘째로는 허혈에 의하여 no reflow 현상이 발생했을 가능성도 있다. 그러나 본 연구에서는 심근의 혈류를 측정하지 않았으므로 이 두가지 가능성 중 무엇이 원인인가를 밝힐 수 없었다. 동위원소를 동시에 사용하여 심근내로의 혈류량을 동시에 측정한 연구에 의하면 경색부위는 부행혈관의 정도에 반비례한다고 한다²⁰⁾. 한편 Gallagher등¹⁹⁾은 bovine erythrocyte에서 추출한 SOD는 개의 혈청내에서 효과가 없다고 주장하였으나, systolic thickening은 현저히 개선되었으므로 이러한 가능성은 희박할 것으로 사료되었다. 유리산소 radical의 scavenger가 경색부위의 감소에 효과적이지 못하였던 또 하나의 원인으로 본 연구에서 위험 부위가 작아 약제의 효과를 뚜렷이 알수 없었던 점을 생각할 수 있다. 본 연구에서 위험부위는 좌심실 중량의 평균 23.54%로 다른 연구자들의 35%보다 작았고, 경색 부위도 평균 14%정도로 외국의 20%보다 작았다. 위험부위 및 경색부위가 작았던 이유는 첫째, 좌전하동맥 기시부가 아닌

제일대각지를 분지한 원위부에서 관동맥을 결찰하였기 때문이기도 하며, 둘째로는 허혈성부정맥을 예방하려는 목적으로 Harris 2단계 결찰법을 시행하여 1단계 결찰시 부행동맥을 개방시킨후 2단계로 완전히 혈류를 차단하였기 때문이기도 하다고 생각된다.

본 연구에서 경색부위와 위험부위의 비는 60% 정도로 외국인 conscious model을 사용한 연구의 25% 내지 30%보다 높았으나, 마취된 잠견에서는 conscious model보다 2배의 경색이 초래된다는 사실⁵⁰⁾로 미루어 볼 때 본 연구의 방법적인 문제는 없을 것으로 사료되었다. 그러나 본 연구에서 사용한 염색법은 실제로 염색부위와 비염색부위의 경계를 얼마나 확실히 구별지을 수 있는가가 문제가 되며 이는 NBT나 triphenyl tetrazolium chloride(TTC) 등의 염색방법이 가지고 있는 한계점이라고 생각된다⁵¹⁾.

유리산소 radical은 심근허혈시에도 생성되나 대부분이 급격한 산소가 공급되는 재관류의 초기에 형성되며 매우 짧은 시간만 존재하므로 심근경색시 경색부위의 감소를 목적으로 사용하려면, 분자량이 작고 세포내로의 유입이 용이한 물질을 사용해야 할것으로 생각된다. 이러한 물질로는 첫째 철의 chelating 제제인 deferoxamine이 있다. Deferoxamine을 투여하여 H_2O_2 나 O_2 가 $\cdot OH$ 로 전환되는 과정인 Fenton반응, Haber-Weiss반응을 차단하여 실제로 세포독성을 야기하는 $\cdot OH$ 를 감소시키려는 시도로 Ambrosio등⁵²⁾은 isolated 가토심장을 사용하여 30분간의 허혈과 45분의 재관류시 deferoxamine 투여군에서 현저히 심근의 phosphokinase의 보충이 빠르고 세포내 pH의 상승이 빠른 것으로 보고하였다. 둘째로는 $\cdot OH$ 를 제거한다고 알려진 dimethylthiourea(DMTU)를 이용하여 세포독성을 감소시키려는 실험도 있다. Bolli등⁵³⁾은 15분간의 허혈후 40분간의 재관류를 실시하며 허혈유도 30분전부터 45분에 걸쳐 DMTU를 주입하여 재관류후 국소심근의 수축이 현저히 개선된다는 것을 보고하였다. 그러나 지연성 심기능 장애의 예방에는 본 연구에서도 밝혀졌듯이 주로 심외막에 분포한 세포들에게 허혈시 도달할 수 있는 SOD와 CAT가 효과가 있을 것으로 생각되며, 향후 conscious model에서 microsonometer를 이용하여 segmental sho-

rtening의 측정등의 보다 정밀한 실험이 요구된다.

요 약

연구배경 :

심근허혈후 재관류시 발생한다고 알려진 재관류부정맥, 재관류 손상에 의한 경색부위의 확대, 지연성심근장애등이 유리산소 radical에 의한 것이 아닌가 하는 가설을 증명하기 위하여 실험하였다.

방 법 :

실험적 개흉술을 시행한 잠견 model에서 관동맥을 60분간 폐쇄후 4시간동안 재관류시키면서, 관동맥결찰후 15분후부터 60분간 유리산소 radical의 scavenger인 superoxide dismutase와 catalase를 동시에 투여한 군 6마리와, 생리적 식염수를 투여한 9마리를 대상으로 부정맥의 빈도, 혈역학적 인자, 경색의 범위, 심근의 국소 기능이 두군간에 차이를 보이는가 연구하여 유리산소 radical이 재관류손상 및 stunning 효과에 대한 영향을 연구하였다.

재관류부정맥은 심실세동 및 심실빈맥의 발생빈도로 비교하였고, 수축기지표는 positive dp/dt, 좌심실수축기압 및 심초음파도의 기록에 의한 systolic thickening을 사용하였으며, 확장기 지표로는 peak negative dp/dt, 좌심실확장기말압을 사용하였다. 경색부위는 nitroblue tetrazolium 염색을 이용하여 염색되지 않은 부분으로, 위험부위는 관동맥결찰후 methylene blue를 주입하여 염색되지 않은 부위로 정하였다.

결 과 :

1) 재관류 부정맥은 대조군에서 67%, 약물투여군에서 50%에서 관찰되어 두 군사이에 유의한 차이는 없었다.

2) 수축기 인자인 좌심실수축기압과 peak positive dp/dt 및 확장기인자인 확장기말압과 peak negative dp/dt는 대조군과 약물투여군간에 유의한 차이는 없었다.

3) 국소심근운동의 지표인 systolic thickening은 재관류 60분부터 회복되어 약물투여군이 대조군에 비해 높은 값을 보였다.

4) 경색부위의 무게 및 경색부위와 위험부위의 비는 약물군과 대조군 사이에 유의한 차이는 없었다.

결 론 :

유리산소 radical scavenger는 마취된 개흉 잡견의 심근경색 model에서 경색부위를 감소시키는 못하나, 지연성 심근장애를 개선시킬 것으로 생각된다.

References

- 1) Reimer KA and Jennings RB : *The wave front phenomenon of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size(myocardium at risk) and collateral flow. Lab Invest* 40 : 633-644, 1979
- 2) Jennings RB and Reimer KA : *Factors involved in salvaging ischemic myocardium : effect of reperfusion of arterial blood. Circulation* 68(suppl 1) : I 25-I36, 1983
- 3) Kloner RA, Ellis SG, Lang R, et al : *Studies of experimental coronary artery reperfusion : effects on infarct size, myocardial function, biochemistry, ultrastructure and microvascular damage. Circulation* 68(suppl 1) : I8-I25, 1983
- 4) Ellis SG, Henschke CI, Sander T, et al : *Time course of functional and biochemical recovery of myocardium salvaged by reperfusion. J Am Coll Cardiol* 1 : 1047-1055, 1983
- 5) Chesbro JH, Knatterud G, Roberts R, et al : *Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial, Phase 1 : a comparison between intravenous tissue plasminogen activator and intravenous streptokinase : clinical findings through hospital discharge. Circulation* 76 : 142-154, 1987
- 6) Braunwald E and Kloner RA : *Myocardial perfusion : A double edged sword. J Clin Invest* 76 : 1713-1719, 1985
- 7) Hearse DJ, Humphrey SM and Chain EB : *Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium arrested-perfused rat heart : A study of myocardial enzyme release. J Mol Cell Cardiol* 5 : 395-407, 1973
- 8) Zimmerman AN and Hulsman DW : *Paradoxical influence of calcium inos on the permeability of the cell membrane of the isolated heart. Nature* 211 : 646-647, 1976
- 9) Hearse DJ, Humphrey SM and Bullock GR : *The oxygen paradox and calcium paradox : the two facet of the same problem ? J Mol Cell Cardiol* 10 : 641-668, 1978
- 10) Jolly SR, Kane WJ, Bailie MB, et al : *Canine myocardial reperfusion injury : its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. Circ Res* 54 : 277-285
- 11) Myers ML, Weiss SJ, Kirsh MM, et al : *Involvement of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in the oxygen paradox : reduction of creatinine kinase release by catalase, allopurinol or deferoxamine, but not by superoxide dismutase. J Mol Cell Cardiol* 17 : 675-684, 1985b
- 12) Chambers DE, Parks DA, Patterson G, et al : *Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia. J Mol Cell Cardiol* 17 : 145-152, 1985
- 13) Werns SW, Shea MJ, Mitsos SE, et al : *Reduction in the size of infarction by allopurinol in the ischemic-reperfused canine heart. Circulation* 73 : 518-524, 1986
- 14) Reimer KA and Jennings RB : *Failure of the xanthine oxidase inhibitor allopurinol to limit infarct size after ischemia and reperfusion in dogs. Circulation* 71 : 1069-1075, 1985
- 15) Kinsman JM, Murry CE, Richard VJ, et al : *The Xanthine oxidase inhibitor oxypurinol does not limit infarct size in a canine model of 40 minutes of ischemia and reperfusion. J Am Coll Cardiol* 12 : 209-217, 1988
- 16) Puett DW, Forman MB, Cates CU, et al : *Oxypurinol limits myocardial stunning but does not reduce infarct size after reperfusion. Circulation* 76 : 678-686, 1987
- 17) Werns SW, Shea MJ, Driscoll EM, et al : *The independent effects of oxygen radical scavenger on canine infarct size by superoxide dismutase but not catalase. Circ Res* 56 : 895-898, 1985
- 18) Ambrosio G, Becker LC, Hutchins GM, et al : *Reduction in experimental infarct size by recombinant human superoxide dismutase : insights into the pathogenesis of reperfusion injury. Circulation* 74 : 1424-1433, 1986
- 19) Gallagher KP, Buda AJ, Pace D, et al : *Failure of superoxide dismutase and catalase to alter size of infarction in conscious dogs after 3 hours of occlusion followed by reperfusion. Circulation* 73 : 1065-1076, 1986
- 20) Uraizee A, Reimer KA, Murry CE, et al : *Failure*

- of superoxide dismutase to limit size of myocardial infarction after 40 minutes of ischemia and 4 days of reperfusion in dogs. *Circulation* 75 : 1237-1248, 1987
- 21) Nejima J, Canfield DR, Manders WT, et al : Failure of superoxide dismutase and catalase to alter the size of infarct and functional recovery in conscious dogs with reperfusion. *Circulation* 76(Suppl IV) : IV-198, 1987
 - 22) Richard VJ, Murry CE, Jennings RB, et al : Superoxide dismutase and catalase do not limit infarct size after 90 minutes of ischemia and 4 days of perfusion in dogs. *Circulation* 76(Suppl IV) : IV-199, 1987
 - 23) Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB : The "No Reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. *J Clin Invest* 54 : 1496-1508, 1974
 - 24) Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, et al : Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *J Clin Invest* 56 : 978-985, 1975
 - 25) Theroux P, Ross J Jr, Franklin D, et al : Coronary arterial reperfusion. III. Early and late effects of regional myocardial function and dimensions in conscious dogs. *Am J Cardiol* 38 : 599-606, 1976
 - 26) Buch LR, Buja LM, Samowitz W, et al : Recovery of left ventricular segmental function after long term reperfusion following temporary coronary occlusion in conscious dogs : comparison of 2 and 4 hours occlusions. *Circ Res* 53 : 248-263, 1983
 - 27) Bolli R : Oxygen derived free radicals and postischemic myocardial dysfunction ("stunned myocardium"). *J Am Coll Cardiol* 12 : 239-249, 1988
 - 28) Charlat ML, O'Neil PG, Egan JM, et al : Evidence for a pathogenetic role of xanthine oxidase in the stunned myocardium. *Am J Physiol* 252 : H566-H577, 1987
 - 29) Myers ML, Bolli R, Lekich RF, et al : Enhancement of recovery of myocardial function by oxygen free radical scavengers after reversible regional ischemia. *Circulation* 72 : 915-921, 1985a
 - 30) Przyklenk M and Kloner RA : Superoxide dismutase plus catalase improve contractile function in the canine model of the stunned myocardium. *Circ Res* 58 : 148-156, 1986
 - 31) Pieper GM : Superoxide dismutase plus catalase improves postischemic recovery of diabetic heart. *Circulation* 76(Suppl IV) : IV-200, 1987
 - 32) Jaroudi MO, Patel B and Bolli R : Does superoxide dismutase or catalase alone attenuate myocardial stunning ? *Circulation* 78(Suppl II) : II-78, 1988
 - 33) Cornheim J, von Schulthess, Rechberg A : Über die Folgen der Kranzarterienverschlüssung für das Herz. *Virchows Arch Pathol Anat* 85 : 503-537, 1881
 - 34) Tennant R, Wiggers CJ : The effect of coronary occlusion myocardial contraction. *Am J Physiol* 112 : 351-361, 1935
 - 35) Harris AS, Estandia A, Tillotson RF : Ventricular ectopic rhythms and ventricular fibrillation following cardiac sympathectomy and coronary occlusion. *Am J Physiol* 165 : 505-512, 1951
 - 36) Sewell WH, Koth DR, Huggins CE : Ventricular fibrillation in dogs after sudden return of flow to the coronary artery. *Surgery* 43 : 1050-1053, 1955
 - 37) Corbalan R, Verrier RL, Lown B : Differing mechanisms for ventricular vulnerability during coronary occlusion and release. *Am Heart J* 93 : 223-230, 1976
 - 38) Markis JE, Malagold M, Parker JA, et al : Myocardial salvage after intracoronary thrombolysis with streptokinase in acute myocardial infarction. Assessment by intracoronary thallium-201. *N Engl J Med* 305 : 777-782, 1981
 - 39) Goldberg S, Greenspon AJ, Urban PLM, et al : Reperfusion arrhythmias : A marker of restoration of antegrade flow during intracoronary thrombolysis for acute myocardial infarction. *Am Heart J* 105 : 26-32, 1983
 - 40) Sheehan FH, Epstein SE : Effects of calcium channel blocking agents on reperfusion arrhythmias. *Am Heart J* 103 : 973-977, 1982
 - 41) Shen AC, Jennings RB : Kinetics of calcium accumulation in acute myocardial ischemic injury. *Am J Pathol* 67 : 441-452, 1972
 - 42) Yamada M, Curtis MJ and Hearse DJ : Is reperfusion-induced ventricular fibrillation an oxygen dependent or a flow dependent phenomenon ? *Circulation* 78(Suppl II) : II-638, 1988
 - 43) Manning AS, Hearse DJ : Reperfusion-induced arrhythmias : Mechanisms and prevention. *J Mol Cell*

Cardiol 16 : 497-518, 1984

- 44) Harris AS : *Delayed development of ventricular ectopic rhythms following experimental coronary occlusion*. *Circulation* 1 : 1318-1328, 1950
- 45) Freeman BA, Crapo JD : *Biology of disease : Free radicals and tissue injury*. *Lab Invest* 47 : 412-426, 1982
- 46) Hess ML and Manson NH : *Molecular oxygen : friend and foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury*. *J Mol Cell Cardiol* 16 : 969-985, 1984
- 47) McCord JM : *Oxygen derived free radicals in postischemic tissue injury*. *N Engl J Med* 312 : 159-163, 1985
- 48) Zweier JL : *Determination of the window of ischemic duration which results in myocardial free radical generation upon reperfusion*. *Circulation* 78(Suppl II) : II-373, 1988
- 49) Stack RS, Phillips HR, Grierson DS, et al : *Functional improvement of jeopardized myocardium following intracoronary streptokinase infusion in acute myocardial infarction*. *J Clin Invest* 72 : 84-95, 1983
- 50) Reimer KA, Jennings RB, Cobb FR, et al : *Animal models for protecting ischemic myocardium : Results of the NHLBI Cooperative Study. Comparison of unconscious and conscious dog models*. *Circ Res* 56 : 651-665, 1985
- 51) Factor SM, Cho S and Kirk ES : *Nonspecificity of triphenyl tetrazolium chloride for the gross diagnosis of acute myocardial infarction(abstr)*. *Circulation* 66(Suppl II) : 84, 1982
- 52) Ambrosio G, Zweier JL, Jacobus WE, et al : *Improvement of postischemic myocardial function and metabolism induced administration of deferoxamine at the time of reflow : the role of iron in the pathogenesis of reperfusion injury*. *Circulation* 76 : 906-915, 1987
- 53) Bolli R, Zhu WX, Hartley CJ, et al : *Attenuation of dysfunction in the postischemic stunned myocardium by dimethylthiourea*. *Circulation* 76 : 458-468, 1987