

개의 관상동맥을 이용한 Cyclic Flow Variations의 제작

— 허혈성심질환증후군의 동물실험모델 —

가톨릭의과대학 내과학교실

박 인 수

= Abstract =

A Model of Cyclic Flow Variations Using Canine Coronary Artery

— An Experimental Model for Ischemic Heart Disease Syndrome —

In Soo Park, M.D.

Dept. of Internal Medicine, Catholic University Medical College, Seoul, Korea

Background : Cyclic flow variations(CFVs) is defined as morphological evidence of wide flow velocity variations in the Doppler signals due to rapid spontaneous changes showing cyclic reduction and abrupt reperfusion of blood flow velocity seen in the critically stenotic arteries. Since first development of the CFVs model using dog by Folts and Uchida, it has been widely used as excellent experimental model for study of the 'Acute ischemic heart disease syndrome' including unstable angina. Nowadays it has been well documented that these CFVs are closely associated with temporal platelet aggregation and followed thrombus formation at the stenotic arterial lesion with endothelial or medial injury and subsequent release of various chemical mediators, eg. thromboxan A_2 and serotonin.

Also the CFVs can be seen in some patients of coronary artery stenosis during underwent PTCA, femoral artery stenosis and carotid or cerebral artery stenosis as well as in animal models. Moreover, CFVs has been thought to be the natural preconditioning in the unstable angina.

Method : We tried to make the CFVs model using left anterior descending coronary artery (LAD) in 6 dogs. Pericardial cradle was made through 5th intercostal thoracotomy.

The LAD was isolated carefully and critically stenosed by plastic constrictor. And Doppler velocimeter probe was placed under the constrictor. After then intimal and medial layer of the LAD was damaged by a forcep. After appearing of CFVs, we observed and recorded for an hour. Myeloperoxidase(MPO) activity in the ischemic and non-ischemic area of the myocardium were studied and compared after sacrifice.

Result : CFVs was found in all 6 dogs within an hour. The mean frequency of the CFVs was 9.8 ± 4.45 times/hour. The mean coronary blood flow was 5.7 ± 2.7 ml/min. And MPO activity was 1.47 ± 0.5 units/g tissue in the ischemic myocardium and 0.49 ± 0.27 units/g tissue in the non-ischemic area with statistical significance($P < 0.005$).

Conclusion : CFVs model using various animal models and arterial sites can widely provide

usefulness to document pathophysiology and pharmacologic mechanism in human acute ischemic heart disease syndromes.

KEY WORDS : Cyclic flow variations · Acute ischemic heart disease syndrome · Myeloperoxidase activity.

서 론

최근 20여년간 불안정 협심증(unstable angina), 심장성 돌연사(sudden cardiac death), 급성 심근경색(acute myocardial infarction), PTCA(percutaneous transluminal coronary angioplasty) 시술후 재협착과 관동맥 우회술(coronary artery bypass graft, CABG) 후 재협착이 비슷한 병태생리 기전을 보인다고 알려져 이들을 급성 허혈성 심질환 증후군(acute ischemic heart disease syndrome)이라고 부르게 되었고 이에 관한 연구가 활발하게 진행되어 왔다^{1,2)}. 이의 병태연구에서 동물실험 모델로 관상동맥 색전모델등 여러가지가 고안되어 사용되고 있으나^{3,4)} 그 중에서도 Folts들^{5,6)}과 Uchida들⁷⁾에 의하여 고안된 가장 진보된 형태인 cyclic flow variation(CFVs) model이라고 불리워지는 동물실험 모델이 인간의 관상동맥 질환에 병태생리적으로 가장 근접한 모델로 알려져 있고 'Folts씨 모델'이라 불리워지고 있다.

이는 동물의 동맥에 인공적 협착과 내피와 중피에 손상을 줌으로서 혈소판응고를 유발하여 동맥내 혈전형성(thrombus formation)과 자연혈전용해가 cyclic하게 반복되는 것으로 이 현상은 혈관 Doppler velocimeter에 혈류속도의 변화로 나타난다⁸⁾.

지금까지 이 모델을 이용한 급성 허혈성 심질환 증후군의 병태생리와 약물에 대한 연구결과가 임상에 중요한 정보를 제공해 왔다. 이에 저자들은 최근 6마리 개에서 관상동맥을 이용한 Folts씨 모델을 만들고 CFVs를 1시간이상 관찰하였기에 보고하는 바이다.

실험대상 및 방법(Fig. 1)

개는 체중 15~20Kg의 잠전을 암수 구분없이 사용하였다. 처음 Ketamin 2cc를 근주하고 상복의 털을 제거하였다. 5~10분 후 sodium pentobarbital

(Nembutal) 5~6cc를 상복정맥에 빠르게 정주하여 혼미상태에 빠지면 수술대로 옮긴 후 기관지삽관하여 Harvard respirator와 연결된 마취기로 전신 마취를 실시하였다. 이때 마취제는 N₂O를 주로 사용하고 flow는 N₂O 2L/min, O₂ 2L/min 정도로 하였다.

실험중 동물이 일시적으로 깨어날 때는 Halothane 0.3~2L/min를 수심초~수분간 투여하였다.

마취유도가 성공하면 동물을 좌와위로 수술대위에 고정시키고 좌흉부의 털을 광범위하게 깎고 povidine으로 소독하였다. 그위에 공포를 wrapping하고 전기메스를 이용, 신속히 좌흉부 제 5 늑간 절개술(5th left thoracotomy)을 실시하였다.

흉부절개후 retractor로 넓게 벌리고 pericardium을 상하로 절개한 후 1.0견사를 이용 좌우의 절개부를 retractor 밑에서 위로 잡아당겨 묶어 pericardial cradle을 만들었다. 좌우심방이를 거상하여 가위로 조금 절개한 후 채혈과 약물투여용의 polyethylene cannule를 삽입하였다.

이로서 심장의 left anterior descending(LAD)과 left circumflex artery(LCx) 그리고 좌우심실이 노출되었다. 날카로운 forcep과 가위만을 사용하여 LAD근위부를 길이 2~3cm정도 조심스럽게 노출 박리시키고 주위의 작은 분지는 모두 박리하여 4.0 silk로 결찰하였다.

retractor주위의 피부하에 심전도 전선을 심고 우대동맥에 Seldinger술기로 electromagnetic catheter(Mikro-tip®, USA)를 삽입, dicrotic notch가 보일때까지 대동맥에 진입시켜 대동맥압의 변화를 관찰하였다.

박리된 LAD위엔 직경 2.0~2.5mm의 원형의 25 MHz Doppler velocimeter probe를 거치시키고 그 밑에 plastic constrictor를 거치시켰다. 좌우 심외막에 원형의 patch-type ultrasonic probe를 붙여 실험중 심근외벽의 운동, 두께의 변화를 관찰하였다.

Plastic constrictor의 silk를 조작하여 LAD를 적당

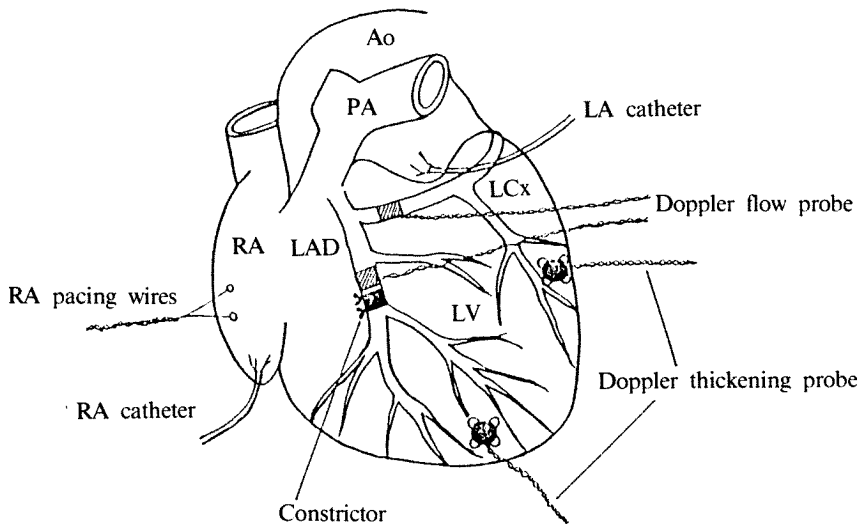


Fig. 1. Animal preparation to make Cyclic Flow Variations

히 협착하고 그 원위부를 지혈감자(forcep)로 20 초정도 완전 clamping하여 혈류를 막은 후 급히 이완시켜 심근충혈(hyperemia)을 야기하였다. 그리고 협착부의 직하부를 약 10회정도 friction하여 내피(intima)와 중피(media)에 손상을 주었다.

다음 혈관내경을 서서히 70~80% 정도 협착시킨 후 CFVs가 나타날 때까지 약 1시간 동안 반복하여 조작 관찰을 계속하였고 CFVs의 출현 후 다시 한 시간 정도를 관찰 기록하였다.

혈관 Doppler Velocimeter의 본체는 Crystal Biotech(USA)사의 System VF-1을, recorder는 Sanei(Japan)사의 Recti-Horz-8k를 이용하여 기록하였고 기록속도는 5 mm/sec로 하였다. 혈류량은 mean flow의 1시간 연속기록을 Uchida사(Japan)제의 planometer를 이용하여 계산하였다.

CFVs 관찰후 대상동물은 즉시 KCl을 우심이 canule에 주입하여 희생하고 심장을 적출하였다. 적출된 심장은 1cm간격으로 횡으로 절단하여 TTC 용액에 담귀 허혈부와 비허혈부를 구분하여 각각 300~600mg 정도의 절편으로 채취, 질소액에 보존 실험실로 운반하였다.

MPO의 측정방법은 Bradley들⁹⁾이 기술한 방법을 준용하였다. 요약하면, 채취된 심근절편은 적당량

취하여 MPO추출용해제인 0.5% hexa-decyltrimethylammonium(HTAB)이 포함된 50mM의 potassium phosphate에 섞서 25.8도에서 1~5분간 녹이고 이것을 mechanical mortar로 잘게 부순 후, 10초간 3 회정도 sonication을 실시하여 균질액(homogenate)을 만들었다.

이것을 저온고속 원심분리기(Beckman Co.)를 이용하여 섞씨 4 도에서 24,000 rpm으로 15분간 원심분리하였다. 0.1ml의 상청액에 0.167ng/ml O-dianisidine HCl과 0.0005% hydrogen peroxide가 포함된 2.9ml의 50M phosphate buffer(pH 6.0)을 혼합하여 Spectrophotometer의 흡광도를 460nm으로 하여 측정하였다. 여기서 측정된 수치는 units of MPO/g tissue로 표시하였고 통계처리는 Student's paired t-test로 P값이 0.05 이하인 경우 유의하다고 판정하였다.

결 과

1) 사용한 6마리 개의 관상동맥에서 모두 CFVs가 관찰되어 1시간이상 계속되었다(Fig. 2).

2) CFVs의 평균출현빈도는 9.8 ± 4.45 회/시간이었다.

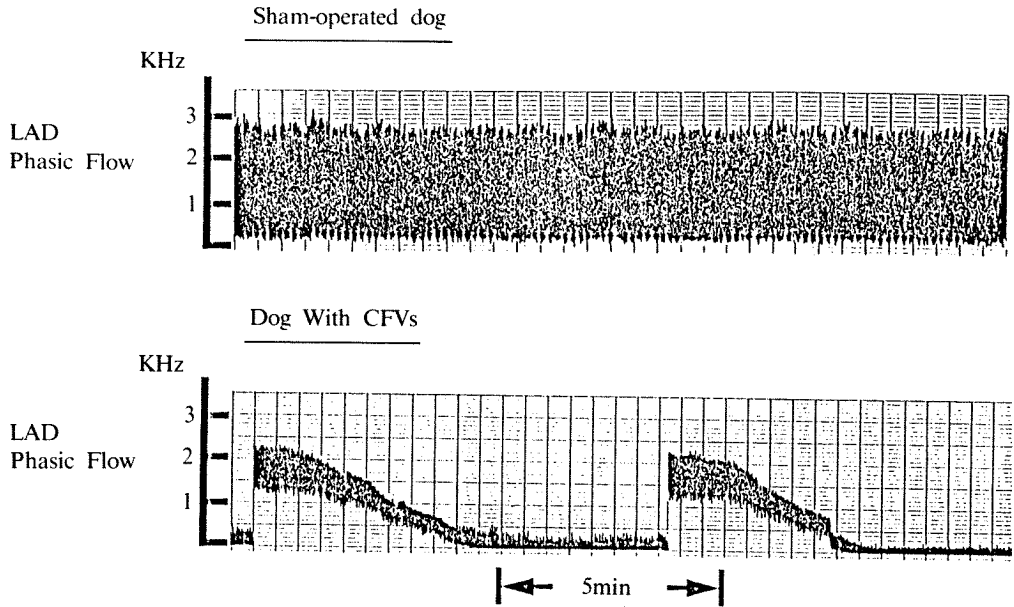


Fig. 2. Typical Cyclic Flow Variations of the left anterior descending coronary artery comparing to normal(upper, Sham-operated dog). Complete CFVs(lower) shows sudden restoration of flow with slowly decline to near the zero(low flow state,nadir) continuing over 5 minutes.

3) 1시간 동안 관찰된 평균관동맥혈류량은 $5.7 \pm 2.7 \text{ ml/min}$ 이었다.

4) 사후 근조직내에서 관찰된 MPO의 농도는 허혈부에서 $1.47 \pm 0.5 \text{ units/g tissue}$, 비허혈부에서 $0.49 \pm 0.27 \text{ units/g tissue}$ 로 허혈부위와 비허혈부위간에 유의한 차이를 보였다($P < 0.005$)(Fig. 1).

고 안

불안정 협심증 환자에서 관동맥 협착부나 GABG를 시술한 부위에 혈전으로 인한 심근경색이 다발하여 이 현상이 주목을 받기 시작한 이래¹⁰⁾ 근래에는 여러가지 혈전용해제(urokinase, tPA 등)가 관동맥혈전치료에 효과적으로 사용되고 있으나 많게는 25% 정도의 재혈전이 문제가 되고 있다¹¹⁾.

최근 PTCA가 보편화되어 관상동맥질환 치료에 획기적인 발전이 있었다. 그러나 시술에 중 약 7%에서 시술중의 내피(intima, endothelium) 및 중피(media) 손상으로 시술후 관동맥내 혈전으로 인한 조기 재협착(early restenosis)이 유발된다^{2,3)}.

이들과 같은 병태생리를 갖고 있다고 믿어지는 일련의 관상동맥질환(불안정 협심증, 심장성 돌연

사의 일부등)은 임상적에서 급성 허혈성 심장병 증후군이라 불려지고 있으며¹⁾, 이의 병태생리는 심장학연구의 주요 관심사이다.

최근까지 이를 뒷바침할 동물실험으로 관상동맥에 인공적으로 혈전을 삽입하는 방법등을 이용한 모델이 개발사용되고 있으나 충분치 못하였다⁴⁾. 1974년 Folts가 이 증후군의 연구를 위한 동물실험 모델을 처음으로 만들었다^{5,6)}. 이는 'Folts model' 혹은 'Folts씨의 관상동맥 혈전 모델'이라고 불리워지게 되었고 이를 이용해서 상기 질환군의 병태생리의 규명과 약제개발이 획기적인 발전을 보게 되었다.

이에 앞서 일본에서도 Uchida들이 1973년 동일한 모델제작에 성공하고 1975년에 발표하였으나 그는 관상동맥 연축(spasm)을 CFVs의 주된 기전으로 생각하였다⁷⁾.

최근 임상에서도 Willerson들이 관상동맥 협착부위에 초음파혈속계를 삽입 관찰하여 협착부위에 CFVs현상이 있는 것을 확인한 바 있다¹²⁾. 이로서 이 질환군의 병태생리는 관동맥협착과 내피손상으로 인한 주기적인 혈소판응집, 혈전형성 그리고 동반된 연축(spasm)이라고 이해되고 있으며 그

혈관내의 혈류속도도 동물실험의 예와 같이 주기적으로 변화한다는 것이 확실하다.

Cyclic Flow Variations란 Cyclic Flow Reductions라고도 하며 약자로는 보통 CFVs혹은 CFRs라고도 한다^{5,6,8)}. 동물의 관상동맥(coronary artery), 경동맥(carotid artery), 또는 대퇴동맥(femoral artery)을 인공적 협착후 혈관내피-중피에 적절한 손상을 가하면 협착상부의 혈관내에서 혈전(thrombus)이 발생하고 3~8분후 용해되면서 말초부위로 색전된다.

이 때 Doppler velocimeter로 혈속을 재면 혈전 형성시기에는 혈속이 낮아지고(nadir, low flow state), 수분후 혈전 용해시에는 다시 혈류가 급속히 회복(reperfusion state)하는데 이것이 계속 반복되는 양상을 보인다. 이 현상을 CFVs라고 한다.

CFVs의 초음파적 정의는 양적정의(quantitative definition)와 질적정의(qualitative definition)로 나누는데 정상적인 동맥의 혈류속도에도 조건에 따라 일시적인 변동이 있으므로 혈관 Doppler장치를 사용할때는 주로 양적개념으로 정의한다. 즉 급작스런 mean Doppler frequency shift가 평균 38% 이상 차이가 있을때(95% 신뢰도), CFVs가 일어났다고 정의한다. 그러나 단 이런 혈류속도의 변화가 혈압, 호흡, 맥박의 변동이나 catheter flushing과 관계가 없어야 한다. 저혈류 상태(nadir, low flow state)라고 하는 것은 Doppler frequency shift가 1.5KHz 이하로 5분이상 지속되는 것을 말한다¹²⁾.

실험대상은 일반적으로 저자들의 연구에서와 같이 개를 이용하고 있으나 실험조건이나 목적에 따라 토끼, 원숭이, 돼지도 이용될 수 있다. 이용하는 혈관부위도 목적에 따라 다양하게 carotid artery, femoral artery, LAD, LCx등을 선택할 수도 있으나 전반적인 조작법은 동일하다⁸⁾. 그러나 관상동맥을 이용 실험하는 경우 돼지는 내외피가 너무 약하고 심장 자율신경이 예민해서 적당치 못하며 또한 사육에 문제가 있다. 토끼는 너무 작아 조작이 불편하며 원숭이는 성격이 난폭하여 전처치가 힘들다. 그러나 개의 관상동맥은 내외피가 비교적 견고하고 심장의 크기도 적당하며 성질이 대부분 온순하고 구하기도 쉬워 실험에 적당하다.

CFVs모델의 제작에는 몇가지 성공의 변수가 있다⁸⁾. 첫째 실험중 동물의 체온이 떨어지면 성공율이

낮고, 일어난다고 해도 불완전형이거나 도중에 사라지기 쉽다.

둘째로 전신마취제로 halothane을 사용할 경우 혈중 epinephrine의 작용을 방해하여 CFVs의 생성을 저해한다¹³⁾.

세째 혈소판감소가 있는 동물은 CFVs가 일어나기 어렵다¹⁴⁾. 만약 CFVs가 일어나는 경우에도 너무 시간이 지나면 혈소판이 소모되어 그 수가 감소하므로 CFVs가 사라지기 쉽다.

네째 충분치 못한 내피의 손상으로는 혈소판 혈전형성과 호중구 활성화의 전제조건이 되지 않으므로 CFVs가 일어나지 않는다^{5,6,8)}. 더우기 개의 관상동맥은 비교적 견고하므로 충분한 손상을 주어야 한다.

다섯째 시간이 지날수록 실험동물 체액은 산성화(pH의 저하)되므로 혈소판 혈전형성이 어렵게 된다¹⁶⁾. 저자들의 경우 항문체온계와 전기패드를 이용하여 실험동물의 체온을 가장 적절한 온도인 섭씨 37도로 유지하였다. 또한 지속마취제로 N₂O를 이용하였다. 각성시 보조마취제(supplemental anesthesia)로 halothane 0.3~1 L/min를 수식초-수분 정도 투여하였으나 모든 예에서 CFVs의 출현에는 영향이 없었다.

혈소판수는 좌우심이 cannule에서 채혈하여 중간에 확인하였으나 모두 100,000/mm³ 이상으로 혈소판감소증이 있는 예는 없었다.

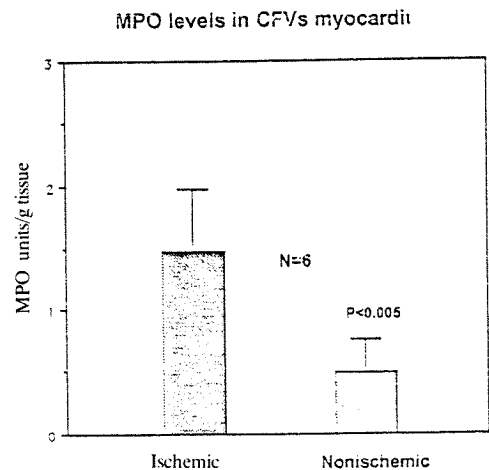


Fig. 3. MPO(myeloperoxidase) difference between ischemic area and non-schemic area of the CFVs dogs. Statistically significant difference is noted.

CFVs의 출현빈도는 서양견을 이용한 타연구자들에 의하면 저혈류 상태가 3~8분으로 구성되는 주기가 시간당 8~10회정도가 평균이라고 하였다^{5, 6, 16)}. 본 연구의 경우 시간당 평균 9.8회를 보여 타연구자들과 같았다.

CFVs가 일어나면 심근에서는 허혈-재관류심근 손상을 계속적으로 반복하여 받게된다. 실제로 radioactive microspheres를 사용한 혈류감소기에서의 심근 국소 혈류량(myocardial regional blood flow, RMBF)는 거의 zero상태에 달하고 있다¹⁶⁾. 반면 재관류시에는 peak flow는 거의 정상에 가깝다. 이것은 직접 측정한 관상동맥 혈류변화의 소견과도 일치한다⁸⁾. 그러므로 이런 현상은 인위적으로 심근에 preconditioning을 주는 것과 같은 효과가 있으며 관상동맥 결찰로 인한 심근경색에보다 심근 손상이 가볍다고 알려지고 있다¹⁷⁾.

CFVs의 경우 뿐아니라 일반적인 허혈-재관류 심근손상에는 내피-혈소판, 내피-호중구의 상호 작용이 관계하며 특히 재관류시에는 소위 "respiratory burst-oxygen paradox"로 인한 호중구나 호흡효소(mitochondria)에서 유래한 여러 free radical들로 인하여 심한 심근손상이 유발된다는 것은 잘알려진 바이다¹⁸⁾.

한편 endoperoxide의 metanbolite인 thromboxane A₂와 혈소판의 serotonin은 혈소판혈전 형성에 커다란 기여를 한다고 알려지고 있다¹⁹⁾. 실제로 항혈소판제인 aspirin은 가장 강력하게 CFVs를 소거하며^{5, 6)}, thromboxane A₂ synthetase 저해제인 dazoxiben²⁰⁾과 serotonin receptor길항제인 retanserine²¹⁾도 비슷한 효과를 보인다.

그 외 항혈소판 활성인자(platelet activating factor, PAF)의 길항제의 투여도 효과가 있다고 보고되었다²¹⁾.

반대로 catecholamine인 epinephrine은 aspirin의 투여로 사라진 CFVs를 다시 출현하게 한다²²⁾. 이는 불안정협심증 환자가 혈전예방목적으로 aspirin을 투여받더라도 epinephrine이 올라가는 상태 즉 과도한 흡연이나 스트레스에서의 심근은 보호를 받지 못할 수도 있다는 것을 시사한다²³⁾.

손상받은 혈관내 환경에서 소위 흡착단백(adhesive protein), 즉 von Willwebrand factor, fibrinogen, fibronectin, thrombospondin등은 노출된 혈관내피

하의 collagen fiber와 결합하게 되는데 이와외의 결합을 위하여 혈소판표면에 glycoprotein(GP)으로 구성된 다양한 receptor들이 다량으로 출현한다²⁴⁾.

이 흡착단백들과 receptor들을 매개로한 혈소판 응집(aggregation)과 혈소판-혈관내피하 collagen의 결합이 일어난다. 이 혈소판 응집에는 receptor들 중 특히 GPIIb/IIIa가 가장 중요한 역할을 하는 것 같으며²⁵⁾ 실제로 이에 대한 단일클론항체(monomoclonal antibody)를 투여하여 심근손상을 감소시켰다는 보고도 있다²⁶⁾.

재관류손상을 감소시키는 radical scavenger는 CFVs를 소거하며 혈류속도를 상승시킬 가능성이 있어, superoxide dismutase(SOD)나 catalase의 단독 혹은 병용투여를 시도한 바효과가 있었다(그림 4). 또한 Allopurinol도 상당한 효과가 있음을 관찰하였다(그림 5).

최근 임상에서도 GABG수술전 allopurinol로 전처치한 관상동맥 질환군에서 수술후 경과가 의외 있게 향상되었다는 보고가 있어 주목되고 있으며²⁷⁾, 향후 활발한 임상적용이 기대된다. 그리고 Free radical생성에 전반적으로 관여하는 Fe⁺⁺의 chelator인 deferoxmine의 투여로 재관류손상을 감소시켰다는 보고도 있어²⁸⁾ 이의 투여가 CFVs를 없앨 가능성도 충분하다.

지방질의 이상산화로 발생하는 free radical의 scavenger이며 항혈소판 응집능이 있다고 알려진 vitamin E의 투여가 항협심증의 효과가 있다고 알려진 것은 이미 40여년전의 일이며²⁹⁾, 그후의 교차대조 실험에서도 협심증 환자에서의 nitroglycerin 사용량을 의외있게 경감시킬 수 있었다고 한다³⁰⁾.

동물에서의 허혈-재관류시 vitamin E의 전처치로 심근손상이 경감되었고³¹⁾ 심실세동의 발현빈도도 저하시켰다는 보고가 있어³²⁾ 저자들도 vitamin E 투여실험을 시행한 바 결과는 성공적이었다(그림 6). 그러나 CFVs를 소거할 수 있는 Vitamin E의 양은 과량이었고(40mg/kg) 또한 지용성(oil-soluble)이어서 폐동맥색전으로 급사한 실험예가 있어 안전한 실험과 임상적용을 위하여는 수용성 vitamin E의 사용이 필요하다고 생각된다.

혈관내피는 정상 또는 비정상 상태에서 내피혈관 확장인자(endothelium-derived relaxing factor, EDRF) 즉 nitric oxide(NO)를 분비한다³³⁻³⁵⁾.

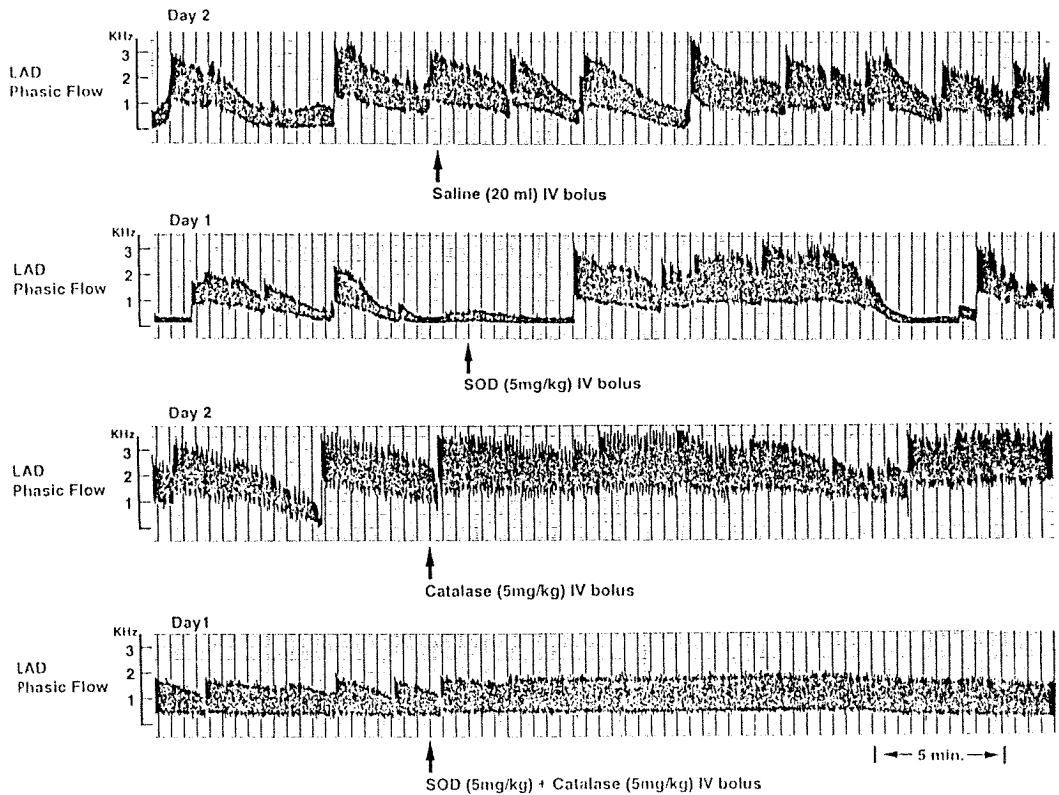


Fig. 4. Antioxadants(catalase and/or SOD) effect on CFVS : After single adminstration of the catalase or SOD, its effectiveness was incomplete. But after combined administration, the CFVs was completely blocked.

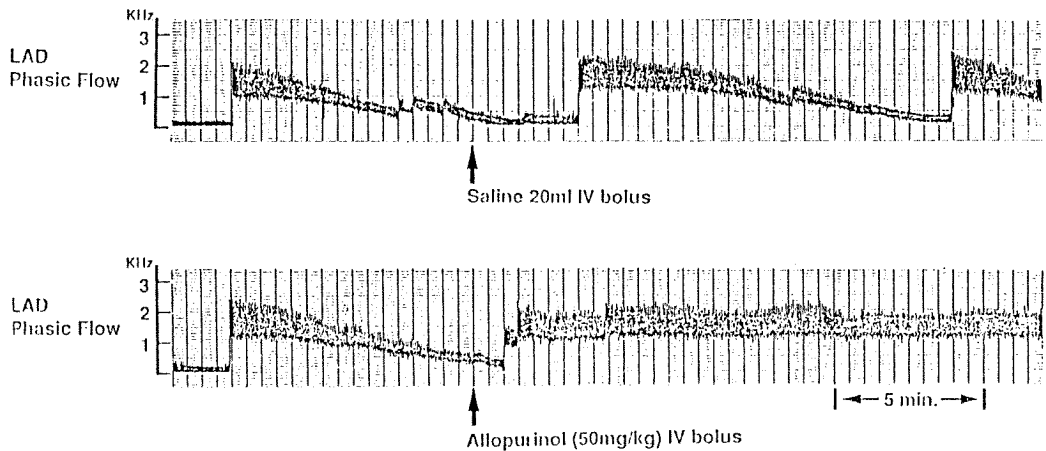


Fig. 5. CFVs was completely disappered soon after allopurinol infusion.

최근의 연구에 의하면 L-arginine, SIN-1, S-No-Cys등 NO전구물질의 투여는 CFVs를 소거시키며 항혈소판 응집효과에 의한 것이라고 밝혀지고 있다^{36,37,38}. 이의 분비와 혈관 확장능은 L-arginin의 투여로 항진되며 L-LNMMA의 투여시 방해받

는다.

호중구(neutorphil, PMN)는 허혈시 chemoattractant(endotoxin, C5a, leukotrien B4)들에 의하여 심장에 모이고 재관류시 소위 respiratory burst의 현상으로 serine protease (myeloperoxidase, elastase,

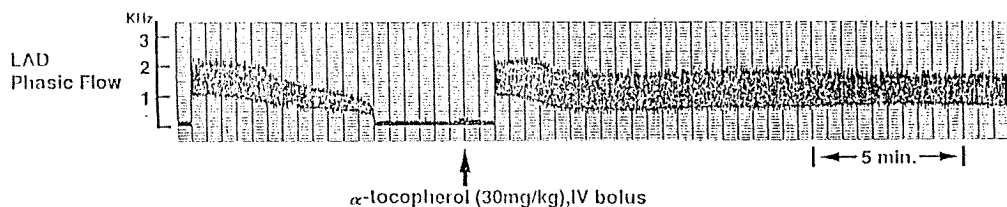


Fig. 6. CFVs was also completely disappeared just after infusion of vitamin E.

Catepsin B)들의 작용으로 free radical을 생성한다. 이들은 심근에 직간접 손상을 야기한다.

저자들은 심근손상의 지표로 호중구 azurophilic granule에서 분비되는 myeloperoxidase(MPO) 활성도를 측정하였고 허혈부에서 비허혈부보다 의의 있게 상승됨을 관찰하였다. 이는 CFVs가 일어나는 관상동맥이 지배하는 심근의 의의 있는 손상을 의미한다^{8,39)}.

한편 타보고자들에 의해 호중구내에 존재하고 있는 여러 cytosol-thiol -protease(CANP)저해제인 NCO-700로 전처치한 예에서 재관류후 심근손상이 감소하였다는 보고가 있어⁴⁰⁾, 이는 향후 다양한 호중구유래 protease이 저해제가 실험동물에서의 CFVs소거는 물론 임상에서도 유용할 것임을 시사한다.

최근에는 호중구 침착으로 인한 심근손상 기전의 최초단계에서 노출된 혈관 내피하와 호중구가 흡착하는 기전에 대하여 대강 밝혀졌다. 현재까지 알려진 바에 의하면 cytokine등 자극인자에 의하여 출현되는 호중구 표면receptor 중 Mac-1(CD 11b/¹⁸)이 중요한 역할을 한다고 믿어지며 또한 ICAM-1, ELAM-1등 소위 integrin들의 역할이 거론되고 있다⁴¹⁾.

실제 Mac-1의 단일클론항체로 전처치한 예에서 재관류손상(reperfusion injury)이 감소하였다는 보고가 있어⁴²⁾ CFVs의 모델에도 적용될 수 있고 나아가서는 임상에서도 관상동맥질환의 치료에도 유용하리라고 사료된다.

결론적으로 불안정 협심증을 중심으로한 소위 급성 허혈성 심장병 증후군의 병태생리연구에 Folts model의 제작은 필수적이며 이를 이용한 많은 연구가 계속되어야 한다고 생각한다.

요 약

연구배경 :

Cyclic Flow Variations(CFVs)는 심한 협착과 내피의 손상을 가한 동맥에서 반복되는 혈류의 급격한 감소와 재관류가 나타나는 현상으로 이 것은 혈관 Doppler signal로 심한 혈류속도의 변화가 규칙적 반복적으로 나타난다. 이것은 불안정 협심증이 포함된 소위 ‘급성 허혈성 심장병 증후군’의 좋은 동물실험의 모델이며 Folts와 Uchida에 의하여 개발되었다.

이는 혈관내피 손상후 내피하 조직의 노출로 생긴 혈소판 혈전형성과 자연용해로 인한 것이며 여기에는 내피와 혈소판 뿐 아니라 호중구도 중요한 역할을 담당한다. 동물을 이용한 대퇴동맥, 경동맥 협착예에서 뿐만 아니라 실제로 인간의 관상동맥 협착예에서도 발견되고 있으며 더우기 이는 불안정 협심증의 예에서 자연적 preconditioning으로도 생각되고 있다. 그러므로 저자들은 CFVs모델이 허혈성 심장질환의 연구에 필수적이라 생각되어 개의 관상동맥을 이용하여 이의 제작을 시도하였다.

방 법 :

저자들은 6마리의 개를 이용하였다. 제 5늑간 개흉술로 심의막 요람을 만들고 좌하행 관상동맥을 박리한 후 constrictor로 70~80% 정도 협착시키고 Doppler probe를 장착하였다. 혈관 내중피에 forcep으로 손상을 가하여 CFVs가 출현한 후 1시간 동안 관찰 하였다. 실험후 대상은 희생하여 허혈부와 비허혈부에서 심근을 채취하여 myeloperoxidase활성도를 비교하였다.

결 과 :

사용한 6마리 개의 관상동맥에서 모두 cyclic flow

variations(CFVs)가 일어나 1시간이상 계속되었다.

CFVs의 출현빈도는 평균 9.8 ± 4.45 회/시간 이었다.

CFVs의 출현중 관동맥 혈류량은 평균 5.7 ± 2.7 ml/min 이었다.

사후 심근조직에서 측정된 Myeloperoxidase (MPO)의 활성도는 허혈부(ischemic area)에서 1.47 ± 0.5 units/g tissue, 비허혈부(non-ischemic area)에서 0.49 ± 0.27 units/g tissue로 통계적으로 유의하게 ($P < 0.005$) 허혈부의 MPO함량이 높았다.

결 론 :

동물의 관상동맥을 이용한 CFVs모델의 제작은 인간의 급성 허혈성 심장병 증후군에 대한 병태생리 연구 및 약리적 연구에 크게 유용할 것이라고 생각된다.

References

- 1) Buja LM & Willerson JT : *Clinicopathologic correlates of acute ischemic heart disease syndromes*, *Am J Cardiol* 47 : 343, 1981
- 2) Gablioni G, Deligonul U, Kern M, Vandormael M : *Acute coronary occlusion occurring after successful percutaneous transluminal coronary angioplasty : Temporal relationship to discontinuation of anticoagulation*. *Am Heart J* 116 : 696-708, 1988
- 3) Detre K, Holubkov R, Kelsey S, Bourassa M, Williams D, Holmes D, Dorros G, Faxon D, Myler R, Kent K, Cowley M, Cannon R, Robertson T : *One-year follow-up results of the 1985-1986 National Heart Lung and Blood Institute's percutaneous transluminal angioplasty registry*. *Circulation* 80 : 421-428, 1989
- 4) Collier BS : *Platelets and thrombolytic therapy*. *N Engl J Med* 322 : 33-42
- 5) Folts JD & Rowe GG : *Cyclical reductions in coronary blood flow in coronary arteries with fixed partial obstruction and their inhibition of aspirin*. *Fed Proc* 33 : 413, 1974
- 6) Folts JD, Crowel EB, Rowe GG : *Platelet aggregation in partially obstructed coronary arteries and their inhibition with aspirin*. *Clin Res* 22 : 595A, 1974
- 7) Uchida Y, Yoshimoto N, Murao S : *Cyclic fluctuations in coronary blood pressure and flow induced by coronary artery constriction*. *Jpn Heart J* 16 : 454-464, 1975
- 8) Folts JD : *An in vivo model of experimental arterial stenosis, intimal damage, and periodic thrombosis*. *Circulation* 83[suppl IV] : IV-3-IV-14, 1992
- 9) Bradley TP, Kipnes RS, Curmitte JT : *Biological defense mechanisms : The production by leukocytes of peroxide's potential bacteriocidal agent*. *J Clin Invest* 52 : 741-744, 1982
- 10) Stein B, Furster V, Israel DH, Cohen M, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH : *Platelet inhibitor agent in cardiovascular disease : An update*. *J Am Coll Cardiol* 14 : 813-836, 1989
- 11) Marda VJ, Sherry S : *Thrombolytic therapy : Current status*. *N Engl J Med* 318 : 1512-1520, 1988
- 12) Eichorn EJ, Grayburn PA, Willard JE, Anderson HV, Bedotto JB, Carry M, Kahn JK, Willerson JT : *Spontaneous alteration in coronary blood flow velocity before and after coronary angioplasty in patients with severe angina*. *J Am Coll Cardiol* 17 : 43-52, 1991
- 13) Bertha BG, Folts JD, Albrecht RM : *Halothane but not isoflurane or enflurane protects against spontaneous and epinephrine exacerbated acute thrombus formation in stenosed dog coronary artery*. *Anesthesiology* 72 : 96-102, 1989
- 14) Shenuski RJ, Aiken JW : *Angiotensin II stimulation of renal prostaglandin synthesis elevates circulating prostacyclin in the dog*. *J Cardiovasc Pharmacol* 2 : 667-677, 1980
- 15) Golino P, Ashton JH, Buja LM, Rosolowsky M, Tayler AL, McNatt J, Campbell WB, Willerson JT : *Local platelet activation causes vasoconstriction of large epicardial canine coronary arteries in vivo*. *Circulation* 79 : 154-166, 1989
- 16) Ovize M, Kloner RA, Hale SL, Przylenk K : *Coronary cyclic flow variations "precondition" ischemic myocardium*. *Circulation* 85 : 779-789, 1992
- 17) Dinerman JL, Metha JL : *Endothelial, platelet and leukocyte interaction in ischemic heart disease : insights into potential mechanisms and their clinical relevance*. *J Am Coll Cardiol* 16 : 207-222, 1990
- 18) Houston DS, Shepherd JT, Vanhoutte PM : *Aggregating platelets cause direct contraction and endothelium-dependent relaxation of isolated canine coronary arteries : role of serotonin, thromboxan A₂ and adenine nucleotides*. *J Clin Invest* 78 : 539-544,

1986

- 19) Bush LR, Campbell WB, Buja LM, Tilton GD & Willerson JT : *Effect of the selective thromboxan synthetase inhibitor dazoxiben on variations in cyclic blood flow in stenosed canine coronary arteries. Circulation* 69 : 1161-1170, 1984
- 20) Torr SR, Noble MIM, Folts JD : *Inhibition of acute platelet thrombosis formation in stenosed canine coronary arteries by specific serotonin 5HT₂ receptor antagonist ritanserin. Cardiovasc Res* 24 : 465-470, 1990
- 21) Torr SR, Haskel ET, Bergman SR, Abendshein DR : *Inhibition of cyclic flow variations and reocclusion after thrombolysis in dogs by a novel antagonist of platelet-activating factor. J Am Coll Cardiol* 18 : 1804-1810, 1991
- 22) Folts JD, Rowe GG : *Epinephrine reverses aspirin inhibition of in vivo platelet thrombous formation in stenosed dog coronary arteries. Thromb Res* 50 : 507-516, 1988
- 23) Folts JD : *Experimental arterial platelet thrombosis, platelet inhibitors, and their possible clinical relevance : An Update. Cardiovasc Res* 6 : 10-26, 1990
- 24) George JN, Nurden AT, Phillips DR : *Recommendation of the international committee on thrombosis and hemostasis concerning platelet membrane glycoprotein nomenclature. Thromb Haemost* 46 : 764-765
- 25) Plow EF, Ginsberg MH : *Cellular adhesion : GPIIb/IIIa as a prototypic adhesion receptor. Prog Hemost Thromb.* 9 : 117-156, 1989
- 26) Gold HK, Collier BS, Yasuda T : *Rapid and sustained coronary artery recanalization with combined bolus injection of recombinant tissue-type plasminogen activator and monoclonal antiplatelet GPIIb/IIIa antibody in a canine preparation. Circulation* 77 : 670-677, 1988
- 27) Johnson WD, Kayser KL, Brenowski JB, Saedi SF : *A randomized controlled trial of allopurinol in coronary artery bypass surgery. Am Heart J* 121 : 20-24, 1991
- 28) Williams RE, Zweier JL, Flaherty JT : *Treatment with deferoxamine during ischemia improves functional and metabolic recovery and reduces reperfusion-induced oxygen radical generation in rabbit heart. Circulation* 83 : 1006-1014, 1991
- 29) Vogelsang A, Shute EV : *Effect of vitamin E in coronary heart disease. Nature* 157 : 722 : 1946
- 30) Toone WM : *Effect of vitamin E : Good and bad. N Engl J Med* 289 : 979-980, 1973
- 31) Klein HH, Pich S, Lindert S, Nebandahl K, Neidman P, Kreuzer H : *Combined treatment with vitamin E and vitamin C in experimental myocardial infarction in pigs. Am Heart J* 118 : 661-673, 1989
- 32) Fuenmayor AJ, Fuenmayor AM, Lopez T, Winterdaal DM : *Vitamin and ventricular fibrillation threshold in myocardial ischemia. Jpn Circ J* 53 : 1229-1232, 1989
- 33) Palmer RMJ, Ferige AG, Moncada S : *Nitric oxide release accounts for the biologic activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature* 327 : 524-526, 1987
- 34) Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S : *Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature* 333 : 664, 1988
- 35) Griffith TM, Lewis MJ, Newby AC, Henderson AH : *Endothelium-derived relaxing factor. J Am Coll Cardiol* 12 : 797-806, 1988
- 36) Yao SK, Ober J, Krishnaswami A, Ferguson JJ, Buja JT, Willerson JT : *Endogenously produced EDRF protect against platelet aggregation and cyclic flow variations in stenosed and endothelium-injured arteries. J Am Coll Cardiol* 19(3) : 376A(abstr), 1992
- 37) Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S : *Vascular endothelial cells synthesis nitric oxide adhesion following balloon angioplasty. J Am Coll Cardiol* 19(3) : 376A(abstr), 1992
- 38) Golino P, Cappelli-Bigazzi M, Ambrosio G, Russo-lino E, Ragni M, Vhiariello M : *EDRF exert antiplatelet effect in vivo. J Am Coll Cardiol* 19(3) : 375A(abstr), 1992
- 39) Bednar M, Smith B, Pinto A, Mullane KM : *Nafazatrom-induced salvage of ischemic myocardium in anesthetized dogs in mediated through inhibition of neutrophil function. Circ Res* 57 : 131-141, 1985
- 40) 櫻井文雄 : *Thiol-protease 阻害による再灌流障碍の抑制 : 犬再灌流心み用いて : 北關東醫學* 41 :

33-50, 1991

- 41) Dejana E : *Endothelial cell integrin receptors*, Gordon(ed.) : *Vascular endothelium : Interactions with circulating cell*, Elsevier Science Publishers,p 31-36, 1991
- 42) Simpson PJ, Todd III RF, Mickelson JK, Fantone JC, Gallagher KP, Lee KA,Tamura Y : *Sustained limitation of myocardial reperfusion injury by a monoclonal antibody that altered leukocyte function*. *Circulation* 81 : 226-237, 1990