Original Articles Korean Circulation J 2001;31(12):1252-1260

저관류(Low-Flow) 전처치가 심근 허혈 손상에 미치는 영향

성균관대학교 의과대학 해부학교실
김 호 덕

Effect of Preconditioning by Low-Flow Perfusion on Cardioprotection

Ho-Dirk Kim, MD
Department of Anatomy, Sungkyunkwan University School of Medicine, Suwon, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives：Recent reports suggest that brief periods of low-flow ischemia (lf Isc) and reperfusion (R) before prolonged Isc mimic ischemic preconditioning (IPC) in murine hearts, probably by a preservation of high energy phosphates. **Materials and Methods**：In order to test this hypothesis, Langendorff-perfused isolated rabbit hearts were subjected to 45 min lf Isc (5% of baseline perfusion flow) with lf IPC or not, followed by 120 min R. lf IPC was induced by a single episode of 5 min lf Isc and 10 min R. These were compared with IPC hearts by 5 min no-flow Isc and 10 min R. **Results**：lf IPC as well as IPC enhanced post-ischemic functional recovery although IPC did not reduce infarct size (Isc control, 37.5±3.1, IPC, 16.2±1.5, lf Isc, 43.0±0.7, and lf IPC, 40.4±1.0% of the left ventricle). Myocardial ATP hydrolysis and lactate production during the preischemic, ischemic, and reperfusion periods were not differ between the experimental groups. **Conclusion**：These results suggest that a brief period of lf Isc could not precondition the rabbit heart and the energy metabolism hypothesis may not be a universal mechanism for the cardioprotective effect of IPC. **(Korean Circulation J 2001;31(12):1252-1260)**

KEY WORDS：Ischemic preconditioning；Myocardial infarction；Phosphates；Lactic acid.

서 론

관혈류가 급격히 저하되거나 폐쇄되는 경우, 즉 저관류 또는 심근 허혈이 발생하면 인산화 잠재력(phosphorylation potential)의 저하,[1] $[H^+]$ 또는 [Pi]의 증가[2] 등이 일어나 심장은 펌프로서의 기능을 유지할 수 없게 되며 임계점을 지나면 심근경색으로 발전하여 급성사에 이르기도 한다. 과거에는 허혈 손상을 입은 심근세포는 허혈이 재발할 했을 때 이전에 손상을 받지 않은 세포보다 빨리 세포사(cell death)로 발전하는 것으로 생각하였으나[3] 이러한 추측과는 달리 Murry 등[4]은 짧은 기간 허혈과 재관류를 반복하면 후속되는 보다 긴 기간의 허혈에 대하여 심근세포는 자신을 허혈로부터 보호하려는 저항성이 있음을 발견하고 이 효과를 허혈성 전처치(ischemic preconditioning, IPC)라고 명명하였다. 허혈성 전처치를 실시하면 재관류 유발성 부정맥 발생빈도의 감소, 심근경색 크기의 감소, 심근기능의 회복 증가 등 심근보호 효과가 있음이 동물 실험을 통해 증명되고 있으며,[5-11] 사람에서도 허혈성 전처치와 유사한 효과들이 관찰되었다.[12]

논문접수일 : 2001년 7월 21일
수정논문접수일 : 2001년 8월 23일
심사완료일 : 2001년 9월 28일
교신저자 : 김호덕, 440-746 경기도 수원시 장안구 천천동 300 성균관대학교 의과대학 해부학교실
전화 : (031) 299-6071 · 전송 : (031) 299-6089
E-mail : hdkim@med.skku.ac.kr

실험적으로 무관류 허혈(no-flow ischemia)은 관혈류가 완전히 차단되어 발생하는 급성 심근경색의 경우와 유사하며 저관류 허혈(low-flow ischemia)은 관혈류가 급격히 저하되어 발생하는 관상동맥협착(coronary stenosis)에 가깝다.[13] 관혈류가 감소되어 심근으로 산소 공급이 떨어지면 고에너지 인산(high energy phosphate, HEP) 생산 감소, 심근세포내 산증, developed pressure의 감소, 심근의 과수축, 혐기성 당대사 의존도 증가 등을 특징으로 하는 대사 및 기능성 장애가 일어남은 잘 알려져 있다.[14-16] 그러나 동면 심근(hibernating myocardium)과 같이 저관류 상태에서는 심근세포의 산소 요구량이 감소되며 에너지 대사의 억제나 보존이 일어나므로 오히려 심근세포를 보호할 수 있다[17]는 상반된 결과로 저관류의 심근세포에 대한 영향에 대하여 이론이 많다. 이상을 배경으로 연구자는 짧은 기간 저관류를 실시한 경우 후속되는 장시간의 허혈에 대하여 고전적 IPC와 유사한 심근보호 현상이 나타나는가 알아보고 IPC의 심근세포 보호효과 발생 기전으로서 심근세포내 고에너지 인산 보존의 타당성을 알아보고자 본 실험을 시도하였다.

재료 및 방법

실험 동물

체중 1.2 1.5 kg의 건강한 흰토끼(New Zealand White rabbit)를 실험동물로 사용하였으며, 실험은 미국생리학회가 추천하는 실험동물 사용지침(Guidelines of the Use of Laboratory Animals, American Physiology Society, 1985)에 따랐다. Heparin(300 IU/kg)을 복강내 투여하고 30분 경과후 후두부를 순간적으로 강타하여 실신시키고 즉시 흉부를 절개하여 심장을 적출하여 미리 냉각시켜둔 생리식염수에 담구어 대동맥에 카뉼라(외경 2.5 mm, 내경 2.0 mm)를 삽관하고 4-0 견봉합사로 묶은후 Langendorff 관류장치(Size 5, Hugo Sachs Electronik, March-Hugstetten, Germany)에 고정하여 non-recirculating Langendorff 방법에 따라 100% 산소로 포화된 Tyrode 용액(containing in mM : NaCl 140.0, KCl 4.4, $CaCl_2$ 1.0, $MgCl_2$ 1.0, HEPES buffer 3.0, and glucose 10.0 ; pH 7.4)으로 관류하였다. 실험중 심장을 매다는 방(water-jacketed heart chamber)의 온도는 37℃로, 관류압과 관류량은 60 mmHg 및 35 mL/min로 각각 유지하였고, 전극을 우심방 외벽에 부착하여 전기자극기(Advanced Stimulator, Harvard Apparatus, Edenbridge, UK)로 1분간 심박동수를 150회 유지되도록 조정하고(4.0 V, 0.5 msec interval) Tyrode 용액으로 30 50분 관류하여 심장기능이 일정하게 유지되면 이 때를 모든 실험의 기준점으로 하였다.

실험 원안(Fig. 1)

심장을 관류장치에 매달아 30 50분 관류하여 기준선 값이 유지되면 임의로 선택하여 실험을 실시하였다. 허혈 대조군(ischemic control, n=7)에서는 관류를 완전히 차단하여 45분 허혈 후 120분 재관류하였다. 저관류 허혈군(n=7)에서는 45분 저관류 허혈후 120분 재관류하였다. IPC군(n=9)에서는 5분 허혈, 10분 재관류를 한번 실시하여 IPC를 유도하고 45분 허혈을 실시한 후 120분 재관류하였다. 저관류 IPC군(n=7)에서는 5분 저관류 허혈, 10분 재관류를 한번 실시하여 저관류 IPC를 유도하고 45분 허혈을 실시한 후 120분 재관류하였다. 저관류 실험군의 관류량은 45분 허혈후 재관류 초기에 기능적 회복율이 허혈군보다 유의하게 증가한 경

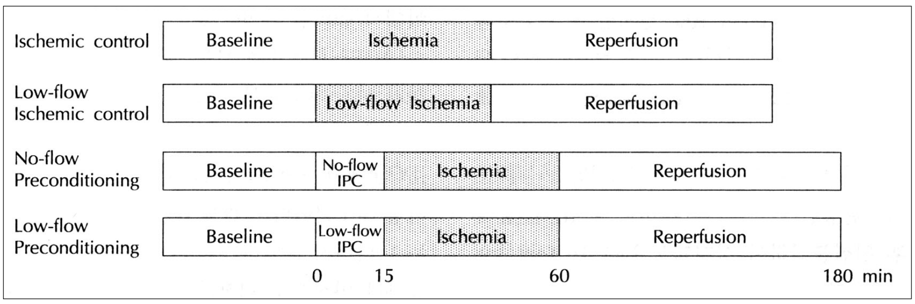

Fig. 1. Schematic illustration of experimental protocol. IPC : ischemic preconditioning.

우(기준선 관류량의 5%)를 선택하였으며 digitial peristaltic pump(IPC-ismatec, Switzerland)를 이용하여 조정하였다.

생화학적 측정을 위하여 허혈이나 IPC 등의 처치를 하지 않은 실험군(baseline), 45분 허혈만 실시한 실험군, 45분 저관류 허혈만 실시한 실험군, IPC만 실시한 실험군, 저관류 IPC만 실시한 실험군, IPC후 45분 허혈실시 실험군, 저관류 IPC를 실시하고 45분 허혈을 실시한 실험군 등을 각각(n=5 each) 추가하였다.

50분 정도의 관류에도 불구하고 기준선 혈역학 값이 일정하게 유지되지 않거나 재관류시 부정맥 등이 현저히 증가하여 나타나는 경우에는 모두 관찰대상으로부터 제외하였다.

좌심실 기능 및 관혈류(Coronary flow)의 측정

일정한 상태가 유지되면 폐정맥을 통하여 좌심실에 라텍스 풍선을 삽입하고 압력전달 장치(Harvard 50-8952, Ma, USA)에 연결하여 생리식염수를 넣어 좌심실 이완말기압(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)이 8 10 mmHg가 되도록 조정한 후 좌심실압(left ventricular developed pressure, LVDP), 심근수축력(dP/dt) 등을 polygraph에 기록하였다. 관류를 시작하여 심장기능이 일정하게 유지되면 관류액의 누출을 방지하기 위하여 폐정맥과 대정맥을 견봉합사로 묶은 후 폐동맥을 통하여 우심실내로 카뉼라를 삽관하고 관류액이 잘 흐르도록 고정하여 단위시간(1분)의 관혈류를 측정하였다. LVDP, 심근수축력, 관혈류 등의 회복율은 기준선 값을 100으로 하여 백분율로 표시하였다.

고에너지인산 대사산물 및 유산의 정량

근육조직을 완충용액(0.42 M perchloric acid, 4℃)과 함께 20초 균질화하고 3,400 g로 10분 원심분리하여 상청액(100 μL)을 취하여 중화하였다. 다시 2 M $KHCO_3$를 첨가하여 4℃하에서 10분 방치한 후 원심분리하여 상청액을 시료로 사용하였다. 모든 시료는 HPLC를 이용하여 측정하였으며 각 nucleotide의 농도는 표준용액을 이용하여 작성한 표준곡선과 비교하여 정량하였다.

근육조직을 완충용액(1N perchloric acid)과 함께 균질화한 후 원심분리하여 상청액을 lactate test kit(Sigma)를 이용하여 측정하였다.

좌심실 경색크기의 측정

각 실험 종료후 심장을 관류장치로부터 분리하여 실온에서 1% triphenyltetrazolium chloride(TTC, in phosphate buffer, pH 7.4)로 20분 관류한 후 10% 중성 포르말린으로 고정하였다. 고정된 심장을 심저부와 평행한 방향으로 일정한 간격을 두고 가로로 절단한 후 심저부를 향하는 단면을 사진 촬영하여 경색부위 측정에 사용하였다. 심실중격을 포함하는 좌심실 횡단면과 경색부위의 단면을 추적하여 종이 위에 복사한 후 구적계(X-Plan 360dII, Ushikata, Tokyo, Japan)를 이용하여 경색부위의 밀도(%)를 구하고 이를 경색크기로 하였다.

통계처리

모든 통계수치는 평균±표준오차(SEM)로 표기하였다. 분산분석(analysis of variance)으로 처리하여 유의성이 있다고 판정되면 Tukey's post-hoc test를 이용하여 검정하였다. p값이 0.05 이하인 경우에 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

좌심실 기능 및 관혈류의 변화

기준선의 LVDP, +dP/dt, LVEDP 및 관혈류량은 허혈 대조군에서 각각 86.4±2.2 mmHg, 1498±35 mmHg/sec, 10.6±0.6 mmHg, 28.8±0.2 ml/min, 저관류 허혈군에서 각각 89.7±1.3 mmHg, 1893±38 mmHg/sec, 10.0±0.0 mmHg, 29.0±0.0 ml/min, IPC군에서 각각 82.5±1.2 mmHg, 1536±52 mmHg/sec, 9.7±0.3 mmHg, 28.9±0.14 ml/min, 저관류 IPC군에서 각각 98.6±3.9 mmHg, 1944±98 mmHg/sec, 10.0±0.0 mmHg, 29.0 ml/min으로 실험군 사이에서 유의한 차이를 볼 수 없었다.

LVDP 회복율은 모든 실험군에서 재관류 이후 증가하기 시작하여 45분 경에 최대에 도달한 후 서서히 감소하였다. 허혈 대조군과 비교하여 다른 실험군, 특히 IPC군에서는 높은 LVDP의 회복율을 보였으나 저관류 허혈 대조군이나 저관류 IPC군과 비교하면 유의한 차이는 나타나지 않았다(Fig. 2). dP/dt 회복율도 LVDP와 유사한 양상으로 회복되는 경향을 나타내었다(Fig. 3). LVEDP는 재관류 초기에 급격히 상승하였다가 서서히 감소하는 경향을 나타내었으며 LVEDP의 상승폭은 재관류 시작

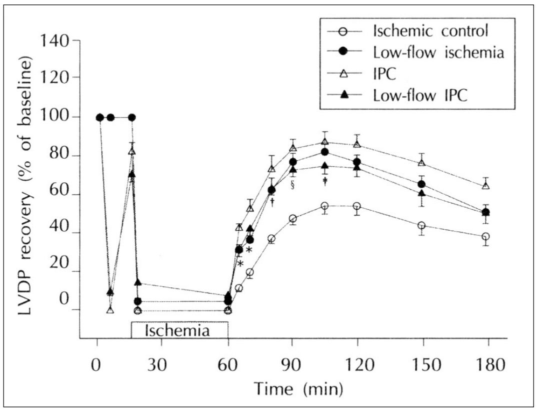

Fig. 2. Recovery rate of the left ventricular developed pressure (LVDP) during ischemia and reperfusion. * : p <0.05, † : p<0.01, ischemic control vs low-flow ischemia, ‡ : p<0.05, § : p<0.01, ischemic control vs low-flow IPC (ischemic preconditioning).

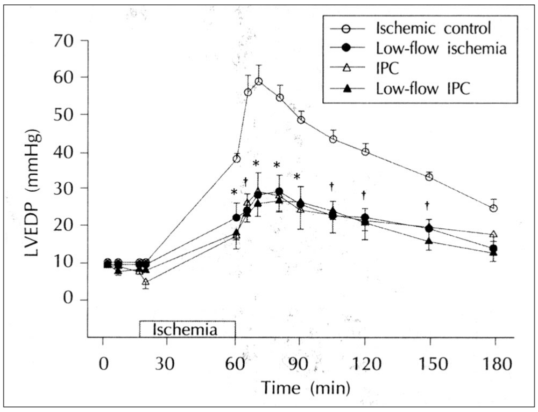

Fig. 4. Changes of the left ventricular end-distolic pressure (LVEDP) during ischemia and reperfusion. * : p<0. 05, † : p<0.01, ischemic control vs low-flow ischemia, IPC : ischemic preconditioning.

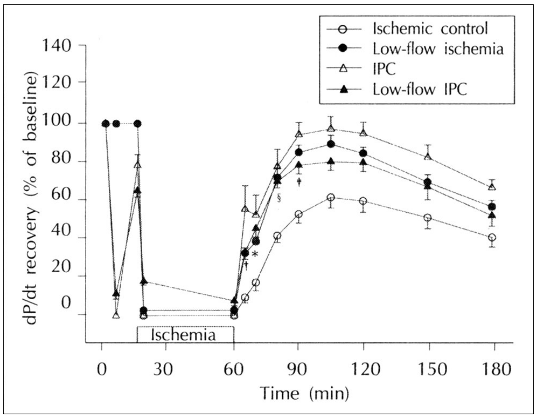

Fig. 3. Recovery rate of the contractility (dP/dt) during ischemia and reperfusion. * : p<0.05, † : p<0.01, ischemic control vs low-flow ischemia, ‡ : p<0.05, § : p< 0.01, ischemic control vs low-flow IPC (ischemic preconditioning).

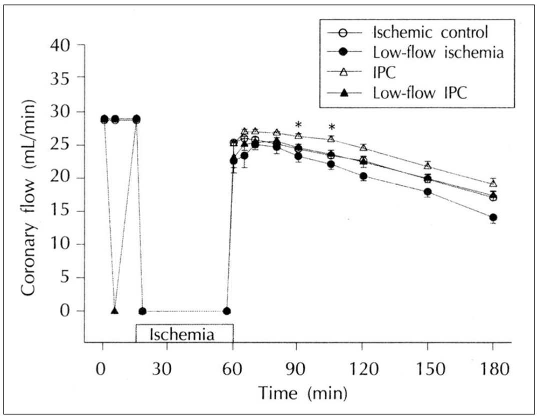

Fig. 5. Changes of the coronary flow during ischemia and reperfusion. * : p<0.05, ischemic control vs IPC (ischemic preconditioning), † : p<0.05, ischemic control vs low-flow ischemia.

으로부터 90분 경까지 다른 실험군에 비하여 허혈 대조군에서 가장 높았으나 저관류 허혈군, IPC군, 저관류 IPC군 사이에서는 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 4). 관혈류의 회복은 재관류 시작후 급격히 증가하여 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 관혈류의 회복율은 IPC군에서 가장 높았으며 저관류 허혈군에서 가장 낮았으나 저관류 IPC군과 허혈 대조군 사이에서는 거의 차이를 볼 수 없었다(Fig. 5).

심근경색 크기

심근경색은 심첨에 가까운 부위에서 주로 관찰되었으며 저부로 향할수록 감소하였다. 특히 IPC군의 심근경색 부위는 심외막에 가까운 곳으로 한정되는 경향을 나타내었다(Fig. 6A). 경색 크기의 밀도는 허혈 대조군, 저관류 허혈군, IPC군, 저관류 IPC군에서 각각 37.5±3.1, 43.0±0.7, 16.2±1.5, 40.4±1.0%로 IPC군에만 유의하게 감소하였다($p<0.01$, Fig. 6B).

고에너지인산량(Fig. 7) 및 유산량의 변화

ATP는 모든 실험군에서 45분 허혈후에 유의하게 감소하였다. ATP의 감소폭은 IPC군에서 가장 낮았으며 저관류 IPC군에서 가장 현저하였다($p<0.05$). 그러나 120

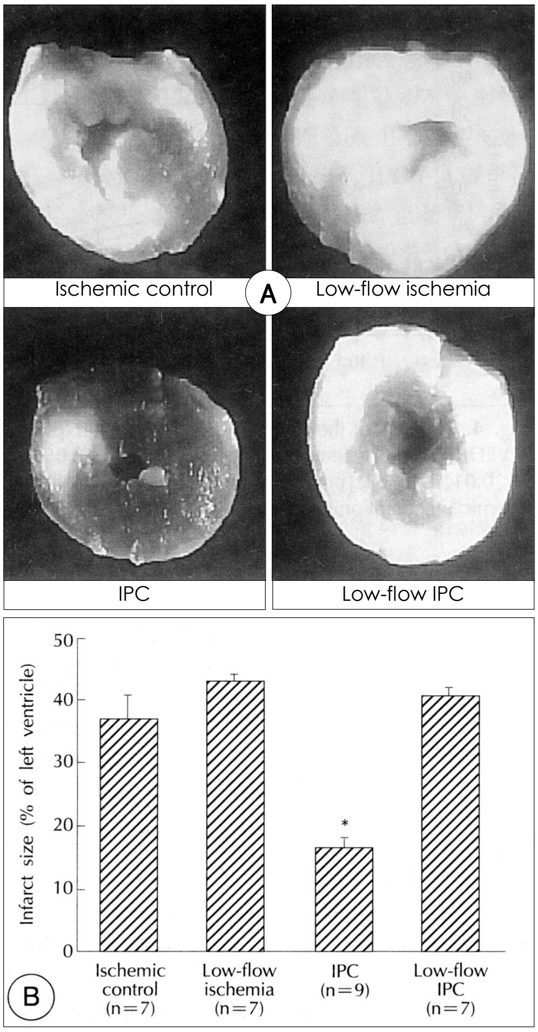

Fig. 6. TTC (triphenyltetrazolium chloride) staining pattern of the heart slice near apex (A) and the infarct size (B). Infarct size is significantly reduced by IPC (ischemic preconditioning, $p<0.01$), but it is not changed by low-flow ischemia or low-flow IPC (B).

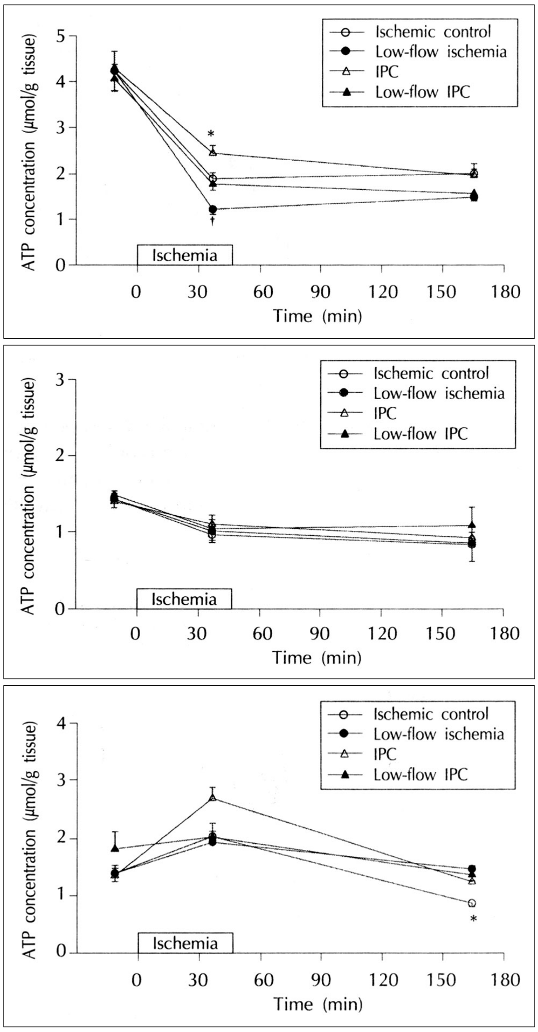

Fig. 7. Myocardial ATP, ADP, and AMP. * : $p<0.01$, ischemic control vs IPC, † : $p<0.05$, low-flow IPC vs low-flow ischemia, for ATP, * : $p<0.05$, ischemic control vs IPC, for AMP, IPC : ischemic preconditioning.

분 재관류 후에는 모든 실험군 사이에서는 유의한 차이를 볼 수 없었다. ADP는 기준선 값과 비교하여 45분 허혈후에는 모든 실험군에서 다소 감소하였으며 120분 재관류후에도 큰 변화는 없었다. AMP는 IPC군에서 증가하였으나 다른 실험군과 유의한 차이는 없었으며 120분 재관류후에는 허혈 대조군에서만 유의하게 감소하였다 ($p<0.01$).

유산량은 모든 실험군에서 45분 허혈 후 현저히 증가하였다. 증가폭은 허혈 대조군에서 가장 컸으며 저관류 허혈 및 저관류 IPC군에서 가장 작았다. 또한 저관류 허혈 및 저관류 IPC군에서는 IPC군과 비교하여 감소하였다($p<0.01$, Fig. 8). 그러나 120분 재관류후에는 모두 기준선 값으로 감소하였다.

고　　찰

무관류 vs 저관류 허혈성 전처치

심근으로 산소 공급이 저하되어 지속되면 괴사가 일어나 결과적으로 경색으로 발전하며 괴사를 일으키기 시작하는 임계 시간은 약 20분 내외로 알려져 있다. 그러나 짧은 기간 허혈-재관류를 반복하면 후속되는 보다

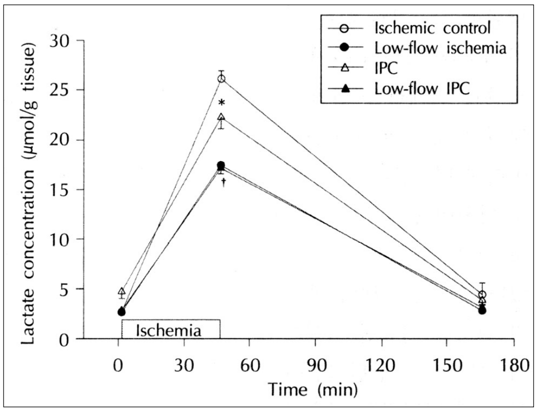

Fig. 8. Lactate contents in the experimental groups. * : $p<0.05$, ischemic control vs IPC, † : $p<0.05$, IPC vs low-flow ischemia, IPC : ischemic preconditioning.

긴 기간의 허혈에 대하여 부정맥 발생빈도 감소, 경색크기 감소, 재관류시 심근기능 회복증가 등 역설적으로 심근보호 효과가 나타나며 이를 IPC라 한다.[4] 사람에서도 일과성으로 허혈이 반복되는 경우와 급성으로 심근경색이 발생된 경우를 비교하면 일과성으로 허혈이 반복되어 오는 심근경색의 크기가 월등히 적고 생존가능성도 큰 것으로 나타나 IPC 효과와 유사한 점이 많다.[18][19] 이러한 관점에서 연구자는 관상동맥의 내강이 좁아져 혈류의 저하로 일어나는 경우를 상정하여 실험적으로 저관류 IPC와 고전적(무관류) IPC의 효과를 장시간 허혈후의 형태학적, 기능적, 생화학적 변화 등을 비교하고 IPC의 발생기전으로서 고에너지 인산 보존의 타당성을 확인하고자 하였다. 실험적으로 관류량을 15 20% 정도로 줄이면 허혈 반응이 일어남은 주지의 사실이다. 그러나 예비실험에서 관류량을 정상의 5%로 줄여 전처치를 실시했을 때 IPC와 같은 기능회복을 볼 수 있었다. 본 실험결과에서도 기대하였던 바와 같이 IPC군, 저관류 IPC군에서는 허혈 대조군과 비교하여 모두 재관류 전반기에 LVDP, dP/dt 등의 회복율이 증가하였으며 LV-EDP의 상승폭은 상대적으로 매우 낮았다.

그러나 이들을 저관류 허혈군과 비교하면 서로 유의한 차이는 없었다. 이상과 같이 IPC 또는 저관류 허혈후 재관류시 심근기능의 회복이 허혈 대조군에 비하여 증가한 사실은 허혈 기간중 심근세포에서는 허혈에 적응하여 에너지 소모를 줄임으로서 통합성(integrity)과 생존능력(viability)을 유지하려는 조절작용이 일어나고 있음을 시사하는 것이다. 심근세포의 형태학적 손상 없이 비교적 장시간 심근수축기능 장애가 수반되지만 재소통(또는 재관류)이 이루어지면 수축기능 장애는 허혈전 상태로 개선되는 현상을 심근동면(myocardial hibernation)이라 하며[20] 짧은 기간 허혈후 재관류를 하면 조직학적 또는 심근세포 대사상의 정상성은 유지되나 기능적 결손만 일어나 심근 수축력이 완전히 회복되기까지 비교적 긴 기간이 요구되는 현상을 심근기절(myocardial stunning)이라 한다.[21] 이상 두 가지 현상들은 모두 형태학적으로 심근세포 손상이 가역적이며(심근경색은 비가역적인 손상이다) 재소통(또는 재관류)시 기능적으로 완전히 회복되거나 회복증가가 나타난다는 점으로 미루어 IPC, 저관류에 의한 심근수축 저하 등과 발생기전이라는 측면에서 논란의 소지는 있지만 어느 정도 연관성이 있다.[22] 반면, 경색크기는 허혈 대조군과 비교하여 IPC군에서만 현저히 감소하였다. 장시간 허혈후에도 불구하고 비가역적인 심근손상(경색)이 지연되었거나 심근수축 기능의 회복이 개선된 것은 IPC에 의한 심근세포 기능유지, 심근동면이나 심근기절 현상의 완화로부터 나타난 것으로 설명할 수도 있다.[23]

그러나 본 실험에서는 허혈 대조군과 비교하여 저관류 허혈군, 저관류 IPC군에서 경색크기는 서로 차이가 없었으나 심근기능은 개선되어 나타나고 있다. 이의 원인을 명확하게 설명할 수는 없으나 저관류 허혈시 국소적으로 경색이 발생하므로(본 실험에서도 경색은 주로 심첨에 가까운 곳에서 관찰되었다) 경색 주위의 정상 심근세포의 수축-이완으로 경색부위의 기능손상이 가려질 가능성이 있고, 저관류 IPC의 관혈류량, 기간, 처치 회수 등이(심근동면이나 심근기절 현상에서 나타나는 여러 가지 생물학적 반응들을 유도하여) 형태학적인 손상(경색)을 억제할 수 있을 만큼 크지 않았던데 기인하는 것으로 볼 수 있다. 최근 Perez 등[24]은 흰쥐의 적출 심장을 이용, 세포내외의 칼슘 이동(calcium transient)에 따르는 수축력 등을 측정한 바 세포 사이의 칼슘 coupling, 칼슘 이동, 양성 변력성 자극(inotropic stimulus) 등에는 큰 변화가 없고 특히 tetrazolium 염색이나 액틴 염색에서도 심근기절을 일으킨 심실 표본과 IPC를 실시한 표본 사이에는 차이가 없음을 관찰하였는데, 이들의 결과를 종합하면 IPC군의 수축기능의 개선을 단순히 심근기절현상이나 심근동면 등의 완화만으로 설명하기 어려운 점이 있다. 이상으로 저관류 IPC로 심근기능의 회복 증가는 기대할 수도 있다 하더라도 경색크기를 한정하거

나 감소시키는 보호효과는 볼 수 없을 것으로 생각된다.

세포내 고에너지 인산대사와 허혈성 전처치의 심근보호 효과 사이의 관계

정상적으로 심근 수축에 필요한 에너지원인 고에너지 인산의 대부분은 당원을 기질로 하는 산화적 인산화(oxidative phosphorylation)로 생산된다. 그러나 허혈로 산소공급이 저하되거나 중지되면 세포질내에 저장되어 있는 고에너지 인산(creatine phosphate, ATP, ADP 등)을 이용한다. 허혈 초기에는 에너지 수요의 증가로 고에너지 인산 이용이나 혐기성 당원분해작용이 매우 빠르게 진행되어 고에너지 인산의 고갈이 초래되며 이로부터 에너지 수요-공급 사이에 불균형이 일어나므로 심근세포에서는 기능적, 형태학적인 손상이 일어난다는 사실은 잘 알려져 있다.[25] 본 실험에서도 ATP는 45분 허혈후 모든 실험군에서 급격히 감소하였으나 감소 정도는 IPC를 한 실험군에서 가장 낮았으며 저관류 IPC를 한 실험군에서 가장 높았다. ADP는 45분 허혈후 모든 실험군에서 감소하는 경향을 나타내었을 뿐 허혈전과 큰 차이는 없었다. AMP는 45분 허혈후 모든 실험군에서 증가하였는데 그 증가폭은 IPC를 한 실험군에서 가장 컸으나 120분 재관류후에는 다시 감소하여 특히 45분 허혈을 실시한 허혈 대조군에서 가장 낮았다. 이상의 결과로 보면 허혈 대조군, 저관류 허혈군, 저관류 IPC군 등과는 달리 IPC를 실시하면 심근세포에서는 허혈 환경에 적응하여 후속되는 허혈 기간 중 고에너지 인산의 고갈 속도 지연이 일어나며 이는 중요한 심근보호 효과의 발생기전으로 생각할 수 있으나, 고에너지 인산 생성량의 증가로부터 위와 같은 결과가 나타난 것으로 보기는 어렵다. 이와 더불어 유산생성량은 45분 허혈후 모든 실험군에서 급격히 증가하였으나 45분 허혈후와 비교하여 IPC를 실시하면 증가 정도는 유의하게 감소하였으며, 저관류 허혈 실험군에서는 IPC에 관계없이 유산생성에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 이와 같은 결과로 미루어 보면 심근세포내 에너지 대사나 유산생성량의 변화가 직접적으로 IPC의 발생기전에 관여한다고 보기는 어렵다. 이와는 달리 Bailey 등[26]은 glucose와 인슐린(인슐린은 심근세포의 glucose 섭취를 증가시킴)을 투여한 실험에서 당원량의 증가로 허혈 중 유산생산 증가와 세포내 산증이 모두 악화되며 이러한 현상은 허혈전 심근세포내 당원량과 비례함을 관찰한 바, 허혈 중에는 심근세포내 당원 분해로 유산 생산이 증가하므로 산증이 유발되고 이러한 변화들은 손상정도에 영향을 미치게 되며, 반대로 당원이 결핍되도록 하면 이상의 일련의 반응 정도가 저하되어 심근세포의 손상 정도 역시 감소함을 관찰하였다. 이러한 실험결과를 바탕으로 Wolfe 등[27]은 흰쥐의 심장을 이용한 실험으로부터 IPC를 실시하면 심근세포내에서는 당원결핍이 유발되어 IPC후 이어지는 허혈 중에 당원량은 지속적으로 저하되며 산증도 현저하지 않음을 관찰하였다. 그들은 당원고갈로 나타나는 심근보호 효과는 당원결핍 정도에 비례하고 세포내 산증 완화를 수반하며 이상의 효과들은 심근의 산소 요구량이나 고에너지 인산 분해 정도와는 무관하고 허혈로 고갈되었던 당원량의 회복정도와 심근보호 효과 소실정도는 비례하므로 심근세포내 당원결핍은 IPC 발생기전과 밀접한 관계가 있음을 시사하였다. 흰쥐를 이용한 최근의 실험에서도 glucose나 유산을 투여하거나 허혈전 당원량을 증가시킨 경우에는 IPC를 실시했음에도 불구하고 물질대사나 심근의 수축력 회복이 현저히 저하되었다.[28] 이상의 결과를 종합하면 IPC를 실시하면 심근세포에서는 당원결핍과 함께 고에너지 인산 이용의 저하가 일어나 앞으로 초래될 보다 긴 기간의 허혈에 적응하는 것으로 생각되나 모든 실험동물에서 공통적으로 수반되는 현상은 아닐 것으로 생각된다.

■ 본 연구의 제한점

본 연구에서는 저관류 IPC의 효과를 관찰하기 위하여 적출 관류 심장을 이용하여 관류를 차단하는 방법으로 허혈(global ischemia)을 유도하였다. 실제 허혈성 심장병에서는 관동맥의 일부 영역에서 발생한 국소허혈(regional ischemia)의 결과로 심근 허혈이 나타나므로 적출 심장보다는 생체(in vivo) 실험을 통하여 국소허혈을 유도한 경우가 보다 더 실제 임상 상황에 가깝다. 생체 실험에서 국소적으로 저관류를 유도할 경우 관류량을 결정하는 데에는 부행로를 통한 관류, 심실에서 심근으로의 직접 관류 등을 고려해야 하므로 상대적으로 적출 심장에 비하여 어려운 점이 있으나, 이렇게 했을 경우, 본 실험 결과와는 달리 저관류 IPC에 의하여 심근경색 크기가 감소 내지 한정되는 심근보호 효과가 나타날 가능성도 있다. 또한 본 연구에서는 혈액으로 관류한 것이 아니므로 저관류 상태에서의 혈관내피세포, 혈구, 심근세포 사이의 상호 반응 등은 고려하지 않았으며 재관류시의

관혈류량, 기간, 처치 회수 등을 달리한 실험으로부터 얻은 결과가 아니므로 저관류 IPC의 효과를 단정하기에는 한계가 있다.

요 약

배경 및 목적 :

심근기절(stunned heart) 현상이나 동면 심근(hibernating myocardium)과 같이 저관류 상태에서는 심근세포의 산소 요구량이 감소되며 에너지 대사의 억제나 보존이 일어나므로 허혈 손상으로부터 오히려 심근세포를 보호할 수 있다고 알려져 있다. 이상으로 짧은 기간 저관류 상태로 허혈-재관류(IPC)를 실시하여 전처치할 경우 무관류로 IPC를 실시했을 때와의 차이를 기능, 경색크기, 심근세포내 고에너지 인산 대사 변화 등의 관점에서 비교하고자 하였다.

방 법 :

적출 관류 토끼 심장을 이용하여 전체 허혈(5분)-재관류(10분) 1회 실시로 IPC를 유도하고 45분 전체 허혈 후 120분 재관류하였다. 허혈 대조군에서는 IPC없이 45분 전체 허혈 후 120분 재관류를 실시하였다. 저관류 허혈군에서는 45분 저관류(정상관류량의 <5%)로 허혈을 실시한 후 120분 재관류하였다. 저관류 IPC 실험군에서는 5분 저관류, 10분 정상관류로 저관류 IPC를 유도하고 45분 허혈후 120분 재관류하였다. 전 실험기간 동안 좌심실기능, 관혈류를 측정하였으며 실험 종료 후 고에너지 인산, 유산생성량, 경색 크기 등을 측정하여 서로 비교하였다.

결 과 :

좌심실 기능의 회복율은 허혈 대조군과 비교하여 저관류 허혈군, IPC군, 저관류 IPC군에서 유의하게 증가하였으나 서로 차이는 없었다. 그러나 경색크기는 IPC군에서만 감소하였다. 심근세포내 ATP는 모든 실험군에서 45분 허혈후에 유의하게 감소하였다. ATP의 감소폭은 IPC군에서 가장 낮았으며 전과류 IPC군에서 가장 현저하였다. ADP는 실험군 사이에서 큰 차이가 없었다. AMP는 IPC군에서 증가하였으나 다른 실험군과 유의한 차이는 없었으며 120분 재관류후에는 허혈 대조군에서만 유의하게 감소하였다. 유산량은 모든 실험군에서 45분 허혈 후 현저히 증가하였다. 증가폭은 허혈 대조군에서 가장 컸으며 저관류 허혈 및 저관류 IPC군에서 가장 작았다. 또한 저관류 허혈 및 저관류 IPC군에서는 IPC군과 비교하여 감소하였다.

결 론 :

이상으로 적출 관류 토끼 심장에서 저관류 IPC로는 무관류 IPC와 같은 심근 보호효과를 기대할 수 없으며, 심근세포내 고에너지 인산 이용 지연 또는 유산량의 감소 등은 IPC 발생기전으로서 모든 실험동물에서 나타나는 공통적인 현상은 아닐 것으로 생각된다.

중심 단어 : 저관류 허혈성 전처치 ; 경색크기 ; 고에너지인산 ; 유산.

REFERENCES

1) Clarke K, O'Connor AJ, Willis RJ. *Temporal relation between energy metabolism and myocardial function during ischemia and reperfusion. Am J Physiol 1987;253:H412-21.*
2) Elliott AC, Smith GL, Eisner DA, Allen DG. *Metabolic changes during ischaemia and their role in contractile failure in isolated ferret hearts. J Physiol 1992;454:467-90.*
3) Hearse DJ, Yellon DM. *Why are we still in doubt about infarct size limitation? The experimentalist's viewpoint. In: Therapeutic Approaches to Myocardial Infarct Size Limitation, Hearse DJ, Yellon DM, editors. New York: Raven Press;1984. p.17-41.*
4) Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. *Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation 1986;74:1124-36.*
5) Kim HD, Kim H, Rah BJ, Kim MH, Kim CW, Kim HW, Kim DJ, Kim YB. *Cardioprotective effect of ischemic preconditioning: relationship between intracellulara glycogen and protein kinase C. Korean Circ J 2001;31:5-15.*
6) Schott RJ, Rohmann S, Braun ER, Schaper W. *Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. Circ Res 1990;66:1133-42.*
7) Kitakaze M, Hori M, Takashima S, Sato H, Kamada T. *Augumentation of adenosine production during ischemia as a possible mechanism of myocardial protection in ischemic preconditioning. Circulation 1991;84(Suppl II):II-306.*
8) Li Y, Kloner RA. *The cardioprotective effects of ischemic 'preconditioning' are not mediated by adenosine receptors in rat hearts. Circulation 1993;87:1642-8.*
9) Downey JM, Liu Y, Ytrehus K. *Adenosine and the antiinfarct effects of preconditioning. In: Ischemic Preconditioning. The Concept of Endogenous Cardioprotection, Przyklenk K, Kloner RA, Yellon DM, editors. Boston: Kluwer;1994. p.137-52.*
10) Ytrehus K, Liu Y, Downey JM. *Preconditioning protects ischemic rabbit heart by protein kinase C activation. Am J Physiol 1994;266:H1145-52.*
11) Kim DJ, Kim H, Park JI, Shim TS, Rah BJ, Kim HD. *Relation between ischemic reconditioning and the duration of sustained ischemia. J Korean Med Sci 1995;10:121-31.*

12) Matsubara T, Minatoguchi S, Matsuo H, Hayakawa K, Segawa T, Matsuno Y, Watanabe S, Arai M, Uno Y, Kawasaki M, Noda T, Takemura G, Nishigaki K, Fujiwara H. *Three minute, but not one minute, ischemia and nicorandil have a preconditioning effect in patients with coronary artery disease. J Am Coll Cardiol 2000;35:345-51.*
13) Offstad J, Sommerschild H, Ilebekk A, Kirkeboen KA, Downing SE. *Repetitive stretching during low-flow ischemia impairs function in isolated porcine hearts: a model for segmental dyskinesis. J Mol Cell Cardiol 1997;29:2997-3007.*
14) Owen P, Dennis S, Opie LH. *Glucose flux rate regulates onset of ischemic contracture in globally underperfused rat hearts. Circ Res 1990;66:344-54.*
15) Vanoverschelde JL, Janier MF, Bergmann SR. *The relative importance of myocardial energy metabolism compared with ischemic contracture in the determination of ischemic injury in isolated perfused rabbit hearts. Circ Res 1994;74:817-28.*
16) Stanley WC, Lopaschuk GD, Hall JL, McCormack JG. *Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under normal and ischemic conditions: potential for pharmacological interventions. Cardiovasc Res 1997;33:243-57.*
17) Pantely GA, Bristow JD. *Hibernating myocardium: a hypometabolic state for energy conservation. Basic Res Cardiol 1995;90:23-5.*
18) Speechly-Dick ME, Grover GJ, Yellon DM. *Does ischemic pre-conditioning in the human involve protein kinase C and the ATP-dependent K^+ channel? Studies of contractile function after simulated ischemia in an atrial in vitro model. Circ Res 1995;77:1030-5.*
19) Tomai F, Crea F, Gaspardone A, Versaci F, De Paulis R, Polisca P, Chiariello L, Goiffre PA. *Effect of A_1 adenosine receptor blockade by bamiphylline on ischaemic preconditioning during coronary angioplasty. Eur Heart J 1996;17:846-53.*
20) Rahimtoola S. *The hibernating myocardium. Am Heart J 1989;117:211-21.*
21) Heyndrikx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF. *Regional myocardial functional and eletrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. J Clin Invest 1975;56:978-85.*
22) Ferrari R, Ferrari F, Benigno M, Pepi P, Visioli O. *Hibernating myocardium: its pathophysiology and clinical role. Mol Cell Biochem 1998;186:195-9.*
23) Qui Y, Tang XL, Park SW, Sun JZ, Kalya A, Bolli R. *The early and late phases of ischemic preconditioning: a comparative analysis of their effects on infarct size, myocardial stunning, and arrhythmias in conscious pigs undergoing a 40-minute coronary occlusion. Circ Res 1997;80:730-42.*
24) Perez NG, Marban E, Cingolani HE. *Preservation of myofilament calcium responsiveness underlies protection against myocardial stunning by ischemic preconditioning. Cardiovasc Res 1999;42:636-43.*
25) Reimer KA, Vender Heide RS, Murry CE, Jennings RB. *Role of altered energy metabolism in ischemic preconditioning. In Ischemic Preconditioning. The Concept of Endogenous Cardioprotection, Przyklenk K, Kloner RA, Yellon DM, editors. Boston: Kluwer;1994. p.75-103.*
26) Bailey IA, Radda GK, Seymour AM, Williams SR. *The effects of insulin on myocardial metabolism and acidosis in normoxia and ischaemia. Biochim Biophys Acta 1982;720:17-27.*
27) Wolfe CL, Sievers RE, Visseren FL, Donnelly TJ. *Loss of myocardial protection after preconditioning correlates with the time course of glycogen recovery within the preconditioned segment. Circulation 1993;87:881-92.*
28) Soares PR, de Albuquerque CP, Chacko VP, Gerstenblith G, Weiss RG. *Role of preischemic glycogen depletion in the improvement of postischemic metabolic and contractile recovery of ischemia-preconditioned rat hearts. Circulation 1997;96:975-83.*