

회귀에서 허혈시간에 따라 재관류후 나타나는 근조직의  
미세구조 변화에 allopurinol이 미치는 영향

백 두 진 · 전 재 홍

**Effect of Allopurinol on Ultrastructural Changes in Ischemia Reperfusion  
Injury to Skeletal Muscle of Rats After Graded Periods of  
Complete Ischemia**

Doo Jin Paik and Jae Hong Chun  
(Received September 16, 1995)

**ABSTRACT**

It has been well known that ischemia and reperfusion injury to skeletal muscle following an acute arterial occlusion causes significant morbidity and mortality. The skeletal muscle, which contains high energy phosphate compounds, has ischemic tolerance. During the ischemia, the ATP is catalyzed to hypoxanthine anaerobically and hypoxanthine dehydrogenase is converted to xanthine oxidase. During reperfusion, the hypoxanthine is catalyzed to xanthine by xanthine oxidase under  $O_2$  presence and that results in production of cytotoxic oxygen free radicals. These cytotoxic free radicals,  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^-$ , are toxic and make lesions in skeletal muscle during reperfusion.

The authors perform the present study to investigate the effects of allopurinol, the inhibitor of xanthine oxidase, on reperfused ischemic skeletal muscles by observing the ultrastructural changes of the muscle fibers. A total of 48 healthy Sprague-Dawley rats weighing from 200g to 250g were used as experimental animals. Under urethane(3.0mg/kg., IP) anesthesia, lower abdominal incision was done and the left common iliac artery were ligated by using vascular clamp for 1, 2 and 6 hours. The left rectus femoris muscles were obtained at 6 hours after the removal of vascular clamp. In the allopurinol pre-treated group, 50mg/kg of allopurinol was administered once a day for 2 days and before 2 hours of ischemia.

The specimens were sliced into 1mm<sup>3</sup> and prepared by routine methods for electron microscopic observations. All preparations were stained with uranyl acetate and lead citrate, and then observed with Hitachi-600 transmission electron microscope.

---

한양대학교 의과대학 해부학교실  
Department of Anatomy, College of Medicine, Hanyang University

\* 본 논문은 한양대학교 교수연구비의 지원으로 일부 이루어졌습니다.

The results were as follows:

1. In 1 hour ischemia/6 hours reperfused rectus femoris muscles of rats, decreased glycogen particles and electron density of mitochondrial matrix and dilated terminal cisternae are seen. In 2 hours ischemia/6 hours reperfused rectus femoris muscles of rats, mitochondria with electron lucent matrix, irregularly dilated triad and spheromembranous bodies are observed. In 6 hours ischemia/6 hours reperfused rectus femoris muscles of rats, irregularly arranged myofibrils, and many spheromembranous bodies, fat droplets and lysosome are seen.

2. In 1 hour ischemia/6 hours reperfused rectus femoris muscles of rats pretreated with allopurinol, decreased glycogen particle and dilated cisternae of sarcoplasmic reticulum and triad are observed. In 2 hours ischemia/6 hours reperfused rectus femoris muscles of rats pretreated with allopurinol decreased electron density of mitochondrial matrix and spheromembranous bodies are seen. In 6 hours ischemia/6 hours reperfused rectus femoris muscles of rats pretreated with allopurinol, mitochondria with electron lucent matrix, spheromembranous bodies and dilated cisternae of sarcoplasmic reticulum and terminal cistern are observed.

The results suggest that the allopurinol attenuates the damages of the skeletal muscles of rats during ischemia and reperfusion.

**Key words:** Ischemia-reperfusion, Allopurinol skeletal muscle, Rat

## 서 론

사지의 골격근은 풍부한 측부순환이 존재할 뿐 아니라 혐기성 상태에서도 해당작용이 활발하게 일어나 ATP의 생산능력이 뛰어나며 creatine phosphate와 같은 높은 energy를 갖는 인산화합물을 다량 함유하고 있는 골격근의 생물학적 특성으로 허혈상태에 대하여 내성을 가지고 있으나 외과적 수술시 장시간의 지혈대 사용, 쇼크상태, 동맥경화증 및 당뇨병 등 순환계의 폐쇄를 유발할 수 있는 질병 혹은 외상 등에 의하여 장시간 혈류저하 상태가 지속되면 골격근이 손상되고(Moore 등 1956, Stenger 등 1962, Trivedi 및 Danforth 1966, Pearce 등 1985), 허혈상태가 소멸된 후 재관류에 의한 손상이 복합적으로 유발되어 근육에서 회복불능의 장애를 유발할 수 있는 것으로 알려져 있다(Fridovich 1978, Del Maestro 등 1980, Sexton 등 1990).

Blebea 등(1981)은 골격근의 허혈 시간이 길수록 근육의 손상이 심해지고 재관류로 근육의 손상은 더욱 심해진다고 하였다. Walker 등(1987)은 허혈후 재관류로 나타나는 간질세포의 부종과 내피세포의 팽창이 근육의

원위부에서는 혈류량이 적어 산소의 공급이 지연되므로 적게 나타난다고 하였고, Labbe 등(1987)은 허혈에 의한 손상은 근육의 중심부에서 주로 나타난다고 하였다.

Granger(1988)는 골격근에서 허혈시 ATP가 대사되어 hypoxanthine이 발생하고, 세포내 xanthine dehydrogenase가 xanthine oxidase로 변환되어 재관류시 hypoxanthine과 xanthine oxidase의 반응으로 superoxide anion이나 과산화수소를 형성하고 이때 생성된 물질이 철이온을 촉매로 반응성이 높은 수산화(OH)를 형성하면 세포막 구성성분의 과산화화 일어나며, 이후 백혈구를 활성화시키고 모이게 하며 혈관 내피세포에 붙게 하는 물질을 분비한다고 하였다.

Freeman 및 Crapo(1982)는 유리반응기가 반응성이 매우 높은 일시적인 부산물로 단백질, 핵산, 막의 지질, 세포질의 분자, 교원질(collagen) 등과 반응하여 손상을 일으키며 주로 superoxide dismutase에 의하여 대사된다고 하였고, Sugiyama 등(1989)은 유리반응기가 단백질의 성상을 변화시키고 주화성물질을 생성하며 세포를 파괴시키고, 허혈시 주로 사립체가 손상된다고 하였으며, Bulkley(1983)와 McCord(1987)는 세포에서 생성

된 유리산소기에 의해 세포막의 필수 구성성분인 불포화 지방산이 비가역적으로 과산화됨으로써 세포손상을 초래하고 이어지는 연쇄반응으로 세포치사에 이르게 된다고 하였다.

McCutchan 등(1990)은 hypoxanthine의 유사물인 allopurinol이 xanthine oxidase의 작용을 억제하여 superoxide anion과 과산화수소의 형성을 억제하므로 허혈후 재관류로 발생하는 근육기능의 저하를 약화시킨다고 보고하였으며, Moorhouse 등(1987)은 allopurinol과 주대사물인 oxypurinol이 반응성 수산기를 제거(hydroxyl radical scavenger)하는 기능이 있다고 하였다.

이에 저자들은 허혈에 대하여 내성을 가지는 근육에서 측부순환을 완전하게 차단한 상태로 허혈시킨 시간에 따라 허혈시키고 6시간 재관류시킨 근육의 형태변화를 관찰하고, allopurinol을 투여하여 유리산소기의 형성을 변화시킨 다음 같은 방법으로 관찰한 근육 미세구조의 변화를 비교하여 allopurinol이 허혈후 재관류시킨 근육에 미치는 영향을 규명하고자 본 실험을 시도하였다.

## 재료 및 방법

실험동물로는 체중 200~250g 사이의 건강한 음성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였으며 실험기간중 먹이와 물은 무제한 공급하였다. 실험동물은 대조군, 허혈후 재관류군과 allopurinol 투여군으로 나누고 각각 허혈시킨 시간에 따라 1시간 허혈군, 2시간 허혈군 및 6시간 허혈군으로 세분하여 각군 모두 6마리를 사용하였다.

모든 실험동물은 주사용 증류수에 희석한 urethane 용액을 체중 kg당 3mg되게 복강내 주사하여 마취시킨 후 실험을 실시하였다. 허혈후 재관류실험군의 흰쥐는 좌측 총장골동맥을 흰쥐용 혈관집계(vascular clamp, FSTIN Co. Foster city, U.S.A.)로 폐색시켜 좌측 하지에 허혈을 일으킨 후 1시간, 2시간 및 6시간이 경과하면 혈관집계를 제거하여 6시간 재관류 시킨다음 경추 탈구법으로 좌측대퇴골은근을 적출하여 근육의 근복부위를 시료로 사용하였다.

Allopurinol 전처치허혈후 재관류군은 허혈시키기 2일 전부터 olive유에 혼탁시킨 50mg/kg의 allopurinol을 1일 1회씩 2회, 허혈시키기 2시간전에 1회 총 3회를

복강내 주사한 후 허혈후 재관류실험군과 같은 방법으로 진행하였다. 적출한 대퇴골은근을 즉시 1mm<sup>2</sup>의 크기로 세절하고 Millonig 인산염 완충용액(pH 7.2)으로 제작한 2% glutaraldehyde-2.5% paraformaldehyde 용액에 4시간 전고정한 후 동일 완충용액에 8시간 침적시키고 동일 완충용액으로 제작한 1% osmium tetroxide에 2시간 후고정하여 탈수하고 Epon 812에 포매하여 두께 2~5 $\mu$ m의 박절편을 제작하고, methylene blue로 염색하여 적정부위를 확인한 후 두께 60~80Å의 초박절편을 제작하여 uranyl acetate(Watson, 1958) 및 lead citrate(Venable 및 Coggeshall, 1965)로 이중 염색하고 Hitachi-600형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 대조군 흰쥐 대퇴골은근의 전자현미경 소견

#### 가. 정상대조군

정상대조군의 흰쥐 대퇴골은근에서는 근형질내 근원섬유(myofibril)가 규칙적으로 배열되었고, 근원섬유에서는 대근세사(thick myofilament: myosin) 사이에 소근세사(thin myofilament: actin)가 삽입되어 있었으며, 중등도의 전자밀도를 나타내는 A띠, 소근세사로만 구성되고 전자밀도가 다소 낮은 I띠, I띠의 중간에 위치하며 전자밀도가 매우 높은 마디끝격막판, 대근세사만으로 구성되고 전자밀도가 중간정도인 H띠와, H띠의 중앙에 위치하며 약간의 횡세사(transverse filament)를 포함하는 마디중간격막이 관찰되었다. 당원과립은 근원섬유사이와 사립체사이에 집괴를 이루고 있었으며, 근원섬유에서 관찰되는 간형, 난원형 혹은 원형의 사립체에는 사립체능선이 뚜렷하게 나타났고, 근형질막에서 시작되어 근원섬유 사이로 침투한 가로소관과 양측에서 근형질세망의 종말소자가 구성하는 삼조체가 관찰되었다(Fig. 1).

#### 나. Allopurinol을 전처치한 대조군

Allopurinol을 전처치한 대조군 흰쥐의 대퇴골은근에서는 근원섬유에서 A띠, I띠, 마디끝격막, 마디중간격막 등이 뚜렷하게 나타났고, 근원섬유사이에는 그물망형태로 연결되는 근형질세망의 소자가 근원섬유의 A띠 주변에서 나타났으며, 근원섬유의 A띠와 I띠 경계부위에서

근형질세망의 종말소조와 가로소관으로 구성되는 삼조체가 뚜렷하게 나타났고 근원섬유사이 I 띠 주변에서는 당원과립이 집괴를 이루고 있었다(Fig. 2).

### 2. 허혈후 재관류군 흰쥐 대퇴골근의 전자현미경 소견

1시간 허혈후 재관류군 흰쥐의 대퇴골근에서는 당원과립이 감소하였으며, 사립체에서 기질의 전자밀도가 감소하였고 근원섬유사이에서 근형질세망의 종말소조가 팽대되었다(Fig. 3). 2시간 허혈후 재관류군 흰쥐의 대퇴골근에서는 당원과립이 약간 감소하였고 사립체에서 기질의 전자밀도가 감소하였으며 막성구상체(spheromembranous body)가 나타났다. 일부 근원섬유에서는 마디 끝격막이 넓게 퍼져 있었고 근원섬유사이에서 근형질세망의 소조가 팽대되었으며 삼조체를 이루는 가로소관의 일부가 팽대되었고 종말소조도 불규칙한 형태로 팽대되었다(Fig. 5). 6시간 허혈후 재관류군 흰쥐의 대퇴골근에서는 일부 근원섬유에서 근세사의 배열이 불규칙해지고 사립체에서는 기질의 전자밀도가 감소하였고 막성구상체가 나타났으며 근원섬유와 사립체사이에 중심부의 전자밀도가 높은 지방소적과 용해소체가 출현하였다(Fig. 7).

### 3. Allopurinol 전처치 허혈후 재관류군 흰쥐 대퇴골근의 전자현미경 소견

Allopurinol 전처치 1시간 허혈후 재관류군 흰쥐의 대퇴골근에서는 당원과립이 감소하였으며 근원섬유사이에서 팽대된 근형질세망의 소조와 종말소조가 나타났고 삼조체를 이루는 가로소관의 일부가 팽대되어 불규칙한 형태로 관찰되었다(Fig. 4).

Allopurinol 전처치 2시간 허혈후 재관류군 흰쥐의 대퇴골근에서는 사립체에서 기질의 전자밀도가 감소하였으며 막성구상체도 관찰되었다(Fig. 6). Allopurinol 전처치 6시간 허혈후 재관류군 흰쥐의 대퇴골근에서는 근원섬유사이에서 기질의 전자밀도가 감소된 사립체가 나타났고 다수의 막성구상체가 출현하였으며 근형질세망의 소조와 종말소조가 팽대되었다(Fig. 8).

## 고 찰

골격근은 혐기성 상태에서도 해당작용이 활발하게 이

루어져 ATP의 생산능력이 뛰어나며 creatine phosphate와 같은 높은 에너지를 갖는 인산화합물을 다량 함유하고, 허혈상태에서 ATP가 purine nucleotide pathway를 따라 대사되는 과정에서 ATP가 ADP 및 AMP로 대사되면 AMP diaminase가 해당작용을 자극할 뿐 아니라 다른 조직과 달리 inosine monophosphate가 adenylosuccinate synthetase에 의해 adenylosuccinate로 되어 adenine nucleotide pool을 유지시킬 수 있는 경로가 있어 허혈상태에서 산소와 에너지원의 공급이 중단되어도 비교적 강하게 대응할 수 있는 조직(Trivedi 및 Danforth 1966, Pearce 등 1985, Harris 등 1986, Katz 1988, Sahlin 등 1990, Idstöm 등 1990)으로 알려져 있으나 장시간 지속되는 허혈상태로 근육의 손상이 야기되는 것은 오래전부터 알려진 사실이다. Rosenbaum 등(1957)과 Imai 등(1964)은 허혈로 조직에 저산소상태가 지속되면 oxidative phosphorylation이 저하되고 조직의 에너지원인 ATP의 양이 감소되므로 조직의 손상이 초래된다고 하였으며, Beyersdorf 등(1991)은 골격근에서 허혈상태가 4시간 지속되면 ATP의 양이 감소하고 근육이 잘 수축되지 못하며, 조직내 물의 양이 증가하고 조직에서 산과다증(pH 6.7)이 관찰된다고 하였다.

Katz 등(1986)과 Walker(1986)는 허혈상태에 의해 발생된 근손상에서 근육세포의 ATP pool과 사립체의 기능이 유지되면 재관류시 근육은 허혈전 상태로 회복될 수 있다고 하였고, Eckert 및 Schnackerz(1991)는 허혈로 근육세포내 ATP pool이 고갈되면 세포의 회복이 안되는 것을 의미하는 것으로 사람의 경우 허혈로 ATP가 고갈되는 시간이 34°C에서 2.25시간이고 26°C이하에서는 5시간이라고 하였다.

Labbe 등(1987)은 개의 박근에 3에서 5시간 동안 허혈상태를 지속하고 48시간 재관류 후 근육의 괴사상태를 조사하여 허혈 및 재관류 손상의 정도는 허혈의 지속시간에 비례하고 손상부위는 근육의 가장 두꺼운 부분의 중심부 부터 주변부로 전이되어 가므로 수술 중 육안으로 근육의 색변화를 감지하여 허혈손상의 정도를 판별하는 것은 위험하다고 하였으며, Tountas 및 Bergman(1977)과 Artacho-Perula 등(1991)에 의하면 사람과 원숭이의 경우에는 2시간 이내의 허혈은 골격근의 구조에 심한 변화를 유발하지 않으나 4시간 이상 허혈이 지속되면 골

격근에 손상이 유발된다고 하였다.

Makitie 및 Teravainen(1977)은 공기지혈대를 이용하여 300mmHg의 압력으로 2시간 이상 허혈시키고 재관류시킨 흰쥐의 앞경골근에서는 근형질내 사립체가 증창되면서 사립체능선이 불분명해졌으며 근세포의 핵주위소조 및 근형질세망의 소조가 팽대되었고 근원섬유에서 마디끝격막이 용해되거나 소실되었으며 허혈시간이 4시간 이하인 경우에는 재관류후 4일이 경과되면 근섬유가 재생되었으나 허혈시간이 4시간 이상인 경우에는 근섬유가 거의 재생되지 않는다고 하였다. Blebea 등(1981)은 6시간 허혈후 재관류 시킨 개의 치골경골근에서는 근섬유 사이에 부종이 생기고 myofibril이 불규칙해지며 당원과립이 소실되고 사립체는 증창되며 사립체능선이 불규칙해졌고, 근육의 손상은 근육의 근위부가 심하며 원위부에서는 혈류량이 감소하여 근육의 손상이 적다고 하였으며, Pedowitz 등(1991)과 Pedowitz 등(1992)은 공기지혈대를 사용하여 허혈을 일으킨 경우 압박부위가 압박원위부에 비해 손상이 심하다고 하였고 이때 대퇴부근육의 압박부에서는 근섬유다발 사이와 근섬유사이에 공간이 증가하고 근섬유다발 주변에 염증세포의 침윤이 관찰되며 부분적인 괴사, 초자양변성이 관찰되었고 압박원위부인 하퇴부 근육에서는 염증세포의 침윤, 부분적괴사, 근섬유의 분리, 근섬유의 핵농축 현상이 관찰되었으며 이러한 변화는 지혈시키는 시간과 공기지혈대의 압력에 비례한다고 하였다.

이러한 허혈후 재관류에 의한 골격근의 손상은 재관류시 형성되는 유리산소기에 의한 것으로 알려져 있다. Bulkley(1982)와 Robert 등(1985)은 허혈후 재관류시 근세포에서 ATP의 고갈 없이도 재관류시 형성되는 유리산소기에 의해 막을 구성하는 지질이 변성되므로 막구조의 손상이 일어나 근세포의 손상이 일어난다고 하였고, Feller 등(1989)은 절단된 사지의 재접합수술을 할때 허혈상태의 지속시간이 길수록 손상이 심해진다고 하였으며 장기간의 허혈상태에 이어지는 재관류시 발생한 자유산소기의 작용으로 골격근에서는 세포막과 세포소기관의 파괴, 부종형성, 모세혈관의 허탈 등이 관찰되고 환자에서는 급성신기능 부전, 호흡기능부전 및 패혈증 등이 발생할 가능성이 높아진다고 하였으며, Lindsay 등(1990)은 허혈후 재관류시 나타나는 근육의 손상은 유리산소기에 의해 세포내 막구조에 있는 지질이 과산화되어 세포의

막구조물에서 비가역적 손상이 일어난 결과로 유리산소기의 형성은 재관류전 근육을 허혈시킨 시간에 비례한다고 하였다.

한편 허혈후 재관류에 의한 손상을 일으키는 유리산소기는 근육내 ATP의 대사물인 hypoxanthine과 xanthine oxidase의 반응에 의해 주로 발생하는 것으로 xanthine oxidase의 억제제인 allopurinol의 투여로 허혈후 재관류시 나타나는 조직의 손상을 약화시킬 수 있다는 여러 보고가 있다.

Jarasch 등(1981)과 Parks 및 Granger(1986)는 근육에서 xanthine oxidase의 활성이 주로 모세혈관의 내피세포에서 나타나며 근세포에서는 활성이 매우 낮다고 하였고, Della Corte 및 Stirpe(1972)와 McCord(1985)는 허혈상태로 세포에서 에너지원이 감소하면 막전위가 균형을 잃게되고, 이에 따라 유입된 칼슘이온에 의해 활성이 높아진 칼슘의존성 단백질 분해효소에 의해 세포내 xanthine dehydrogenase가 xanthine oxidase로 변환된다고 하였다. Smith 등(1989)은 허혈상태에서 근육이 간이나 소장처럼 xanthine dehydrogenase에서 xanthine oxidase로의 변환이 잘 일어나지는 않지만 근육에서 허혈상태가 2시간 이상 지속되면 xanthine oxidase의 활성이 증가한다고 하였다. Idström 등(1990)은 허혈상태의 근세포에서 ATP의 대사산물인 hypoxanthine이 수배 증가하지만 uric acid는 재관류시만 관찰된다고 하였고 이는 hypoxanthine을 대사시키는 xanthine oxidase가 허혈상태에서 축적된 후 재관류시 반응을 일으키기 때문이며, 재관류시 adenine nucleotide 성분이 혈관계로 흘러나가 모세혈관 내피세포의 xanthine oxidase에 의해 대사되면서 유리산소기가 발생되고 내피세포를 손상시켜 허혈로 인한 근세포의 변화가 회복되어도 조직내 수분의 양이 증가하게 된다고 하였다. Stein 등(1989)은 hypoxanthine과 xanthine oxidase를 위에 분포하는 등맥에 주입하면 위의 위체부와 antrum에서 점막의 손상이 발생한다고 하였고, Parks 등(1982)은 출혈속(shock)으로 소장점막에서 superoxide radical이 형성되어 일어나는 점막상피의 박탈과 출혈 및 궤양형성이 allopurinol의 투여로 약화된다고 하였다.

Korthuis 등(1985)과 Smith 등(1989)은 조직에서 허혈상태에 이은 재관류 과정을 거치면서 발생된 유리산

소기인 superoxide anion과 과산화수소가 철이온( $Fe^{++}$ )을 매개로 형성되는 반응성 수산기(hydroxyl radical; OH)에 의해 혈관투과도가 증가한다고 하였고 철이온의 chelator인 deferoxamine이나 철이온과 결합하는 단백질인 apotransferrin의 전처리 혹은 반응성 수산기의 제거제인 dimethyl sulfoxide의 투여나, xanthine oxidase의 억제제인 allopurinol의 투여로 혈관의 투과도가 증가하는 것을 약화시킬 수 있다고 하였다.

Moorhouse 등(1987)은  $500\mu M$  이상의 고농도인 경우 allopurinol과 주대사물인 oxypurinol이 반응성 수산기와 호중구에서 생긴 차아염소산의 제거제(scavenger)로도 작용한다고 하였고, Zimmerman 등(1988)은 allopurinol이 xanthine oxidase의 활성을 80% 이상 억제하나 유리산소기의 제거능력은 없었고 allopurinol의 대사물인 oxypurinol은 시험관 실험에서 호중구에서 발생한 차아염소산을 제거할 수 있다고 하였다.

본 실험에서는 흰쥐의 대퇴골근에서 1시간 허혈후 재관류로 당원과립이 감소하고 사립체에서는 기질의 전자밀도가 감소하고 사립체층이 불분명해졌으며 근형질세망의 소조, 종말소조 및 가로소관이 팽대되었고 근원섬유에서는 마디끝격막이 불규칙하거나 불분명해졌다. 이러한 변화는 허혈시간이 길어질수록 심해져 2시간 허혈후 재관류된 근육에서는 막성구상체(spheromembranous body)가 출현하였고, 6시간 허혈후 재관류된 근육에서는 막성구상체, 지방적과 용해소체가 출현하였으며 근원섬유내 근세사의 분포가 불규칙해졌다. Allopurinol을 전처리하고 1시간 허혈후 재관류시킨 흰쥐의 대퇴골근에서는 허혈후 재관류로 당원과립이 감소하였으며, 근형질세망의 소조나 종말소조, 가로소관이 팽대되었고, 2시간 허혈후 재관류된 근육에서는 사립체기질의 전자밀도가 감소하였으며 막성구상체가 출현하였다. 6시간 허혈후 재관류된 근육에서는 사립체에서 사립체기질의 전자밀도가 감소하였고, 근형질세망의 소조와 삼조체의 구성원이 팽대되었으며 다수의 막성구상체가 출현하였다. 막성구상체는 골격을 이루며 전자밀도가 서로 다른 3~4층의 막구조물에 싸이고, 안에 변성된 사립체, 근형질, 당원과립 혹은 근형질세망의 소조 등을 포함하는 구조물로 관찰되었으며, Slotwiner 등(1966)과 Anderson 등(1967)도 vincristine의 투여로 손상받은 근조직에서 막성구상체의 출현을 보고한 바 있다.

그리고, allopurinol 투여후 근원섬유사이에서 다수의 당원과립이 집괴를 이루어 출현하는 것은 당원과립이 에너지원인점을 감안할때 매우 주목할 만한 사실이라 할 수 있다.

이상을 종합하면 허혈시킨 시간에 따라 허혈후 재관류된 근조직의 손상은 심해지며, allopurinol을 전처리하면 허혈후 재관류시 나타나는 근조직의 손상이 약화되는 것으로 사료된다.

## 결론

허혈후 재관류시 발생하는 골격근의 손상은 허혈상태에서 형성된 hypoxanthine이 재관류시 공급되는 산소 존재상태에서 xanthine oxidase와 반응하여 형성된 유리산소기의 작용에 의한 것으로 알려져 있다. 이에 저자는 xanthine oxidase의 활성을 억제하는 allopurinol을 전처리한 경우와 전처리하지 않은 경우 허혈후 재관류에 의하여 근조직에서 나타나는 미세구조의 변화를 비교하기 위하여 Sprague-Dawley계 흰쥐의 좌측 총장골 동맥을 결찰하여 1시간, 2시간 및 6시간 허혈시킨 대퇴골근을 6시간 재관류후 적출하고, allopurinol 전처리후 같은 방법으로 적출한 대퇴골근을 통상적인 방법으로 전자현미경 표본을 제작한 다음 투과현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 1시간 허혈시킨 흰쥐의 대퇴골근에서는 당원과립이 감소하였고, 사립체기질의 전자밀도가 감소하였으며, 근형질세망의 종말소조가 팽대되었다. 2시간 허혈시킨 흰쥐의 대퇴골근에서는 당원과립이 감소하였고 사립체기질의 전자밀도가 감소하였으며, 삼조체를 구성하고 있는 가로소관과 종말소조가 불규칙하게 팽대되었으며 막성구상체(spheromembranous body)가 출현하였다. 6시간 허혈시킨 흰쥐의 대퇴골근에서는 근세사의 배열이 불규칙해지고 다수의 막성구상체 지방소적과 용해소체가 출현하였다.

2. Allopurinol을 전처리하고 1시간 허혈시킨 흰쥐의 대퇴골근에서는 당원과립이 감소하였고 근형질세망의 소조와 삼조체의 구성원이 팽대되었다. Allopurinol 전처리하고 2시간 허혈시킨 흰쥐의 대퇴골근에서는 사립체기질의 전자밀도가 감소하고 막성구상체가 출현하였다. Allopurinol 전처리하고 6시간 허혈시킨 흰쥐 대퇴

곧은근에서는 기질의 전자밀도가 감소된 사립체, 막성구상체와 팽대된 근형질세망의 소조와 종말소조가 관찰되었다.

이상의 결과를 종합하면 흰쥐의 대퇴곧은근에서 허혈 후 재관류시 나타나는 손상은 허혈시킨 시간에 따라 심하게 나타났고, allopurinol이 허혈후 재관류에 의한 근조직의 손상을 감소시키는 것으로 사료된다.

### 참 고 문 헌

- Anderson JG, Song SK and Slotwiner P: The fine structure of spheromembranous degeneration of skeletal muscle induced by vincristine. *J Neuro-pathol. Exp Neurol.* 26:15~24, 1967.
- Artacho-Perula E, roldan-Vallalobos R and Vaamonde-Lemos R: Capillary and fiber size interrelationships in regenerating rat soleus muscle after ischemia: a quantitative study. *Acta Anat.* 142:70~76, 1991.
- Beyersdorf F, Unger A, Wildhirt A, Kretzer U, Deutschander N, Kruger S, Matheis G, Hanselmann A, Zimmer G and Satter P: Studies of reperfusion injury in skeletal muscle: preserved cellular viability after extended periods of warm ischemia. *J Cardiovasc Surg.* 32:664~676, 1991.
- Blebea J, Kerr JC, Shumko JZ, Feinberg RN and Hobson RW II: Quantitative histochemical evaluation of skeletal muscle ischemia and reperfusion injury. *J Surg Res.* 43:311~321, 1981.
- Bulkley GB: The role of oxygen free radicals in human disease processes. *J Surg Res.* 94:407~411, 1982.
- Bulkley GB: The role of oxygen free radicals in human disease processes. *Surgery.* 94:407~411, 1983.
- Della Corte E and Stirpe F: The regulation of rat liver xanthine oxidase: involvement of thiol groups in the conversion of the enzyme activity from dehydrogenase(type D) into oxidase(type O) and purification of the enzyme. *Biochemistry.* 126:736~745, 1972.
- Del Maestro RF: An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand.* 492 (Suppl): 153~168, 1980.
- Eckert P and Schnackerz K: Ischemic tolerance of human skeletal muscles. *Ann Plast Surgery.* 26:77~84, 1991.
- Feller AM, Roth AC, Russell RC, Eagleton B, Suchy B and Debs N: Experimental evaluation of oxygen free radical scavengers in the prevention of reperfusion injury to skeletal muscle. *Ann Plast Surg.* 22:321~331, 1989.
- Freeman BA and Crapo JD: Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 47: 412~426, 1982.
- Fridovich I: The biology of oxygen radicals. *Science.* 201:875~877, 1978.
- Granger DN: Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol.* 255:H1269~H1275, 1988.
- Harris K, Walker PM, Mickle DAG, Harding R, Gatley R, Wilson GJ, Kuzon B and McKee N: Metabolic response of skeletal muscle to ischemia. *Am J Physiol.* 250:H213~H220, 1986.
- Idström JP, Soussi B, Elander A and Bylund-Fellenius AC: Purine metabolism after in vivo ischemia and reperfusion in rat skeletal muscle. *Am J Physiol.* 258:H1668~H1673, 1990.
- Imai S, Dillely AI and Berne RM: Effect of ischemia on adenine nucleotides in cardiac and skeletal muscle. *Cir Res.* 15:443~450, 1964.
- Jarasch ED, Grund C, Bruder G, Heid HW, Keenan TW and Franke WW: Localization of xanthine oxidase in mammary-gland epithelium and capillary endothelium. *Cell.* 25:67~82, 1981.
- Katz A: G-1,6-P<sub>2</sub> glycolysis and energy metabolism during circulatory occlusion in human skeletal muscle. *Am J Physiol.* 255:C140~C144, 1988.
- Katz A, Sahlin K and Heneriksson J: Muscle ammonia metabolism during isometric contraction in humans. *Am J Physiol.* 250:C834~C840, 1986.
- Korthuis RJ, Granger DN, Townsley MI and Taylor AE: The role of oxygen-derived free radical

- in ischemia-induced increases in canine skeletal muscle vascular permeability. *Circ Res*, 57: 599~609, 1985.
- Labbe R, Cindsay T and Walker PM: The extent and distribution of skeletal muscle necrosis after graded periods of complete ischemia. *J Vasc Surg*, 6:152~157, 1987.
- Lindsay TF, Liauw S, Romaschin AD and Walker PM: The effect of ischemia reperfusion on adenine nucleotide metabolism and xanthine oxidase production in skeletal muscle. *J Vasc Surg*, 12:8~15, 1990.
- Makitie J and Teravainen H: Histochemical studies of striated muscle after temporary ischemia in the rat. *Acta Neuropathol*, 37:101~109, 1977.
- McCord JM: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med*, 312: 159~163, 1985.
- McCord JM: Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed Proc*, 46:2402~2406, 1987.
- McCutchan JH, Schwappach J, Enquist EG, Walden PL, Terada LS, Reiss OK, Leff JA and Repine JE: Xanthine oxidase-derived  $H_2O_2$  contributes to reperfusion injury of ischemic skeletal muscle. *Am J Physiol*, 258:H1415~H1419, 1990.
- Moore DH, Ruska H and Copenhaver WM: Electron microscopic and histochemical observation of muscle degeneration after tourniquet. *J Biophys Biochem Cytol*, 2:755~764, 1956.
- Moorhouse PC, Grootvelt M, Halliwell B, Quinlan JG and Culteridge MC: Allopurinol and oxypurinol are hydroxyl radical scavengers. *FEBS Letters*, 213:23~28, 1987.
- Parks DA, Bulkley GB, Granger DN, Hamilton SR and McCord JM: Ischemic injury in the cat small intestine: role of superoxide radical. *Gastroenterol*, 82:9~15, 1982.
- Parks DA and Granger DN: Xanthine oxidase: biochemistry, distribution and physiology. *Acta Physiol Scand*, 126(Suppl), 548:87~99, 1986.
- Pearce FJ, Connett RJ and Drucker WR: Phase-related changes in tissue energy reserves during hemorrhagic shock. *J Surg Res*, 39:390~398, 1985.
- Pedowitz RA, Gershuni DW, Friden J, Garfin SR, Rydevik BL and Hargens AR: Effects of reperfusion intervals on skeletal muscle injury beneath and distal to a pneumatic tourniquet. *J Hand Surg*, 17A:245~255, 1992.
- Pedowitz RA, Gershuni DH, Schmidt AH, Friden J, Rydevik BL and Hargens AR: Muscular injury induced beneath and distal to a pneumatic tourniquet: a quantitative animal study of effects of tourniquet pressure and duration. *J Hand Surg*, 16A:610~621, 1991.
- Robert JP, Perry MO, Hariri RJ and Shires GT: Incomplete recovery of muscle cell function following partial but not complete ischemia. *Cir Shock*, 17:253~258, 1985[abstract].
- Rosenbaum DK, Frank ED, Rutenburg AM and Fran HA: High energy phosphate content of liver tissue in experimental hemorrhagic shock. *Am J Physiol*, 188:86~90, 1957.
- Sahlin K, Gorski J and Edstrom L: Influence of ATP turnover and metabolite changes on IMP formation and glycolysis in rat skeletal muscle. *Am J Physiol*, 259:C409~C412, 1990.
- Sexton WL, Korthuis RJ and Laughlin MH: Microvascular injury after ischemia and reperfusion in skeletal muscle of exercise trained rats. *J Appl Physiol*, 68(6):2329~2336, 1990.
- Slotwiner P, Song SK and Anderson PJ: Spheromembranous degeneration of muscle induced by vincristine. *Arch Neurol*, 15:172~176, 1966.
- Smith J, Carden DL, Grisham MB, Granger DN and Korthuis RJ: Role of iron in postischemic microvascular injury. *Am J Physiol*, 256:H1472~H1477, 1989.
- Stein JH, Esplugues J, Whittle BJR, Bauerfeind P, Hinder RA and Blum AL: Direct cytotoxic effect of oxygen radicals on the gastric mucosa. *Surgery*, 106:318~324, 1989.
- Stenger RJ, Spiro D, Scully RE and Shanson JM: Ultrastructural and physiologic alterations in ischemic skeletal muscle. *Am J Pathol*, 40:1~15, 1962.



- Sugiyama S, Hayakawa M, Kato T, Hanaki Y, Shimizu K and Ozawa T: Adverse effects of antitumor drug, cisplatin, on rat kidney mitochondria: disturbances in glutathione peroxidase activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 159: 1121~1127, 1989.
- Tountas CP and Bergman RA: Tourniquet ischemia: Ultrastructural and histochemical observations of ischemic human muscle and monkey muscle and nerve. *J Hand Surg*, 2:31~38, 1977.
- Trivedi B and Danforth WH: Effect of pH on the kinetics of frog muscle phosphofructokinase. *J Biol Chem*, 241:4110~4114, 1966.
- Venable JH and Coggeshall R: A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J Cell Biol*, 25:407~417, 1965.
- Walker PM: Symposium on acute arterial insufficiency. 1. Pathophysiology of acute arterial occlusion. *Can J Surg*, 29:340~342, 1986.
- Walker PM, Lindsay TF, Labbe R, Mickle DA and Romaschin AD: Salvage of skeletal muscle with free radical scavengers. *J Vasc Surg*, 5: 68~75, 1987.
- Watson ML: Staining of tissue section for electron microscopy with heavy metals. *J Biophys Biochem Cytol*, 4:475~478, 1958.
- Zimmerman BJ, Parks DA, Grishame MB and Granger DN: Allopurinol does not enhance antioxidant properties of extracellular fluid. *Am J Physiol*, 255:H202~H206, 1988.

## FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** An electron micrograph of rectus femoris muscle in control rat. In the myofibrils(Mf), ordered myofilament M-line(m), Z-line(Z), relatively dark A-band(A), and light I-band(I) are seen. Between myofibrils, aggregated glycogen particles(Gly), cisternae of sarcoplasmic reticulum(SR) and rod shaped mitochondria(M) are observed. Triad(Tr) composed of transverse tubule and terminal cisternae of sarcoplasmic reticulum are also seen in the interfibrillar space. Lead citrate and uranyl acetate stain, 1 $\mu$
- Fig. 2.** An electron micrograph of rectus femoris muscle in control rat with pretreatment of allopurinol. In the myofibrils(Mf), I-band(I), A-band(A), Z-line(Z) and M-line(m) are seen. In the interfibrillar space, cisternae of sarcoplasmic reticulum(SR), glycogen particles(Gly), mitochondria(M) and triad(Tr) are observed. Lead citrate and uranyl acetate stain, 1 $\mu$
- Fig. 3.** An electron micrograph of rectus femoris muscle in reperfused 1 hour ischemic rat. In the myofibrils(Mf), M-line(m), Z-line(Z), A-band(A) and I-band(I) are observed. Between myofibrils dilated cisternae of sarcoplasmic reticulum(SR), reduced glycogen particles(Gly) triad(Tr) with dilated terminal cisterna(Tc) and mitochondria(M) with electron lucent matrix are seen. Lead citrate and uranyl acetate, 0.5 $\mu$
- Fig. 4.** An electron micrograph of rectus femoris muscle in reperfused 1 hour ischemic rat with pretreatment of allopurinol. In the myofibrils(Mf), Z-line(Z), M-line(m), A-band(A) and I-band(I) are observed. In the interfibrillar space, dilated cisternae of sarcoplasmic reticulum(SR), triad(Tr) with dilated terminal cisterna(Tc) or T-tubule(T), mitochondria(M) and glycogen particles(Gly) are seen. Lead citrate and uranyl acetate stain, 1 $\mu$
- Fig. 5.** An electron micrograph of the rectus femoris muscle in the reperfused 2 hours ischemic rat. In the myofibrils(Mf), Z-line(Z), M-line(m), A-band(A) and I-band(I) are seen. Between the myofibrils, mitochondria(M) with electron lucent matrix, triad(Tr), spheromembranous body (SMB) and glycogen particles(Gly) are observed. Lead citrate and uranyl acetate stain. 1 $\mu$
- Fig. 6.** An electron micrograph of rectus femoris muscle in the reperfused 2 hours ischemic rat with pretreatment of allopurinol. In the myofibrils(Mf), Z-line(Z), M-line(m), A-band(A) and I-

band(I) are seen. In the intermyofibrillar space, mitochondria(M) with electron lucent matrix or dense outermembrane(M1), dilated cisternae of sarcoplasmic reticulum(SR), triad(Tr) with dilated terminal cisterna(Tc), glycogen particles(Gly) and spheromembranous body(SMB) are seen. Lead citrate and uranyl acetate stain, 1 $\mu$

**Fig. 7.** An electron micrograph of rectus femoris muscle in the reperfused 6 hours ischemic rat. In the myofibrils(Mf), A-band(A), I-band(I), M-line(m) and Z-line(Z) are observed. Between the myofibrils lipid droplet(L), mitochondria(M) with electron lucent matrix, glycogen particles(Gly), lysosome(Ly), spheromembranous body(SMB) and disordered myofilament pattern(arrow) are observed. Lead citrate and uranyl acetate stain, 1 $\mu$

**Fig. 8.** An electron micrograph of rectus femoris muscle in the reperfused 6 hours ischemic rat with pretreatment of allopurinol. In the myofibrils(Mf), I-band(I), A-band(A), M-line(m) and Z-line(Z) are seen. In the interfibrillar space, mitochondria(M) with electron lucent matrix, triad(Tr) with dilated terminal cisterna(Tc), dilated cisternae of sarcoplasmic reticulum(SR), glycogen particles(Gly) and spheromembranous bodies(SMB) containing with sarcoplasm or cisternae of sarcoplasmic reticulum are seen. Lead citrate and uranyl acetate stain, 1 $\mu$



