적출 쥐 심장에서 장시간의 심장보존시 허혈성 전조건화가 심근보호에 미치는 영향

허 동 명*·장 봉 현**

=Abstract=

Cardioprotective Efficacy of Ischemic Preconditioning on Long-Term Myocardial Preservation in Isolated Rat Heart

Dong-Myung Huh, M.D.*, Bong-Hyun Chang, M.D.**

Background: Ischemic preconditioning enhances the tolerance of myocardium against ischemia/reperfusion injury, with the enhancement of the recovery of post-ischemic myocardial function. This study was designed to assess whether the protective effect of ischemic preconditioning could provide one additional hour of myocardial preservation in four hour myocardial ischemia in a rat heart. ***Material and method:*** Fourty four Sprague-Dawley rats, weighing 300~450 gm, were divided into four groups. Group 1(n=7) and group 3(n=12) were subjected to 30 minutes of aerobic Langendorff perfusion without ischemic preconditioning and then preserved in saline solution at 2~4℃ for 4 hours and 5 hours respectively. Group 2(n=7) and group 4(n=18) were perfused in the same way for 20 minutes, followed by 3 minutes of global normothermic ischemia and 10 minutes of perfusion and then preserved in the same cold saline solution for 4 hours and 5 hours respectively. Heart rate, left ventricular developed pressure(LVDP), and coronary flow were measured at 15 minutes during perfusion as baseline. Spontaneous defibrillation time was measured after reperfusion. Heart rate, LVDP, and coronary flow were also recorded at 15 minutes, 30 minutes, and 45 minutes during reperfusion. Samples of the apical left ventricular wall were studied using a transmission electron microscope. ***Result:*** Time of spontaneous defibrillation(TSD) was significantly longer in group 4 than in group 1($p<0.001$), and TSD in group 1 was significantly longer in comparision to that of group 2($p<0.05$). Heart rate at 45 minutes was significantly higher in group 1 than in group 4($p<0.05$). Heart rate at 15 min was significantly higher in group 2 than in group 1($p<0.001$) and in group 4 than in group 3($p<0.05$). Left ventricular developed pressure(LVDP) at 30 minutes and 45 minutes was higher in group 1 than in group 4($p<0.01$), LVDP at 45 minutes was higher in group 4 than in group 3($p<0.05$). Rate-

*대구파티마병원 흉부외과
Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Taegu-Fatima Hospital
**경북대학교병원 흉부외과
Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Medical School, Kyungpook National University
†본 논문은 대한흉부외과 제 31차 추계학술 대회에서 구연되었음.
논문접수일 : 2000년 4월 26일 심사통과일 · 2000년 7월 26일
책임저자 : 허동명(701-010) 대구광역시 동구 신암동 302-1, 대구파티마병원 흉부외과, (Tel) 053-940-7251, (Fax) 053-954-7417
E-mail:drhuh87@yahoo.co.kr
본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

pressure product(RPP) at 30 minutes and 45 minutes was higher in group 1 than in group 4($p<0.05$). RPP at 15 minutes was higher in group 2 than in group 1($p<0.01$). RPP at 30 minutes and 45 minutes was higher in group 4 than in group 3($p<0.05$). Group 2 showed relatively less sarcoplasmic edema and less nuclear chromatin clearance than group 1. Group 4 showed less myocardial cell damage than group 3, group 4 showed more myocardial cell edema than group 1. ***Conclusion:*** Ischemic preconditioning enhanced the recovery of post-ischemic myocardial function after 4 hours and 5 hours preservation. However, it was not demonstrated that ischemic preconditioning could definitely provide one additional hour of myocardial preservation in four hour myocardial ischemia in a rat heart.

(Korean Thorac Cardiovasc Surg 2000;33:605-12)

Key ward : 1. Preconditioning
2. Myocardial protection
3. Ischemia

서 론

심장이식 시에는 공여심장의 적출 후 수용자에 이식되기까지 이동시간 및 이식시간 등으로 어느 정도의 시간이 필요하다. 특히, 원거리 획득시에는 많은 시간이 소모되기 때문에 공여심장을 장시간 안전하게 보존할 필요가 있다. 의학의 발전에도 불구하고 현재 공여심장은 일반적으로 4시간 정도만 안전하게 보존할 수 있다고 알려져 있다[1,2]. 장시간의 심장보존후 이식성공률을 향상시키기 위하여는 심장보존후 세포부종, 재관류손상 및 심근대사부전 등의 문제를 극복하여야 한다. 장시간의 심장보존후 발생하는 심근손상을 감소시키기 위한 하나의 방법으로 허혈성 전조건화 개념이 도입되었다. 이는 심장으로 가는 혈류가 차단되면 심근손상이 일어나고, 지속되면 심근경색이 발생할 수 있는데, 짧은 기간의 허혈은 그 다음에 오는 장기간의 허혈에 대하여 더 잘 견디게 한다는 것이다. 1986년 Murry 등[3]은 이와 같은 심근보호작용이 있는 짧은 기간의 허혈을 허혈성 전조건화라 하였으며, 이후 허혈성 전조건화와 약물을 이용한 전조건화에 대한 많은 동물실험 및 임상연구가 보고되고 있다. 허혈성 전조건화의 효과는 심근손상을 감소시키고, 재관류시 심근회복에 좋은 영향을 미치며, 부정맥의 빈도를 감소시킨다고 한다[4~6].

본 실험은 쥐의 적출된 심장을 이용하여 장시간 보존시 허혈성 전조건화로 심근보존 시간을 연장할 수 있는지에 대하여 연구하였다.

대상 및 방법

대상 및 실험재료

몸무게 300~450 gm의 Sprague-Dawley계 흰 쥐 44마리를 암수 구별없이 사용하였다. 심정지액은 St. Thomas II 심정지액(중외심정지액 1호R, Plegisol)을 사용하였고, Krebs-Henseleit 완충액은 표1과 같이 제조하여 사용하였다. 실험에서 사용한 적출심장의 관류장치는, Langendorff에 의하여 고안된 비작업성 체외관류모형을 제작하여 사용하였다(Fig. 1). 관류용액은 Krebs- Henseleit 완충액으로, Cobe 사의 VPCML PLUS with SAT/HCT FILTER로 여과하여 전 회로를 충진하였으며, carbogen(산소와 이산화탄소를 95%와 5%의 비율로 섞은 혼합기체)을 가스필터를 거쳐 동맥저장실로 주입하여 관류액을 산소화시켰다. 동맥저장실, 주입관 및 심장보온실의 외벽에 물이 순환할 수 있는 방을 만들어 열교환기와 연결하였고, 열교환기에서 나오는 37℃ 물을 순환시켜 항온상태를 유지하였다. 열교환기는 Fisher Scientific사의 등온순환기(isotemp constant temperature circulation model 8000)를 사용하였다.

Table 1. Composition of Krebs-Henseleit solution

Component	mmol/L
NaCl	118.0
KCl	4.70
$CaCl_2$	2.52
$MgSO_4$	1.66
KH_2PO_4	1.18
$NaHCO_3$	24.88
Glucose	5.55
PH(5 vol % CO_2)	7.4

실험방법

Sprague-Dawley계 흰 쥐 44마리를 4군으로 분류하여 실험.

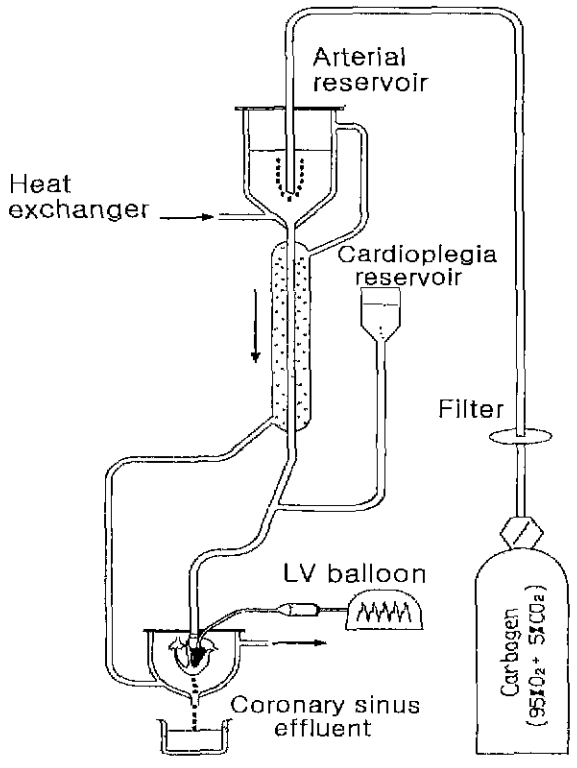

Fig. 1. Diagram of the isolated rat heart perfusion apparatus.

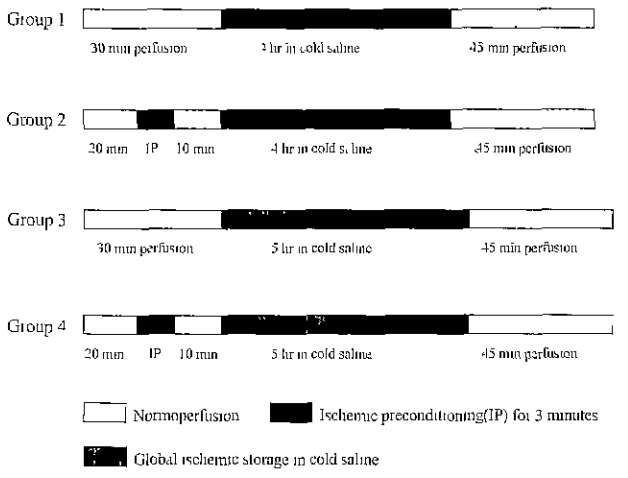

Fig. 2. Summary of the protocol used for the investigation of the effects of ischemic preconditioning on post-ischemic functional recovery in isolated rat hearts. Group 1, Storage for 4 hours; group 2, ischemic preconditioning and storage for 4 hours; group 3, storage for 5 hours; group 4, ischemic preconditioning and storage for 5 hours.

을 하였다(Fig. 2). 제1군(7마리)은 대조군으로 적출한 심장을 30분간 관류한 후 심장을 2~4℃ 식염수에 4시간 보존 후 45분간 재관류하였으며, 제2군(7마리)은 관류 20분에 3분간 허혈을 유도하여 전조건화를 이룬 후 10분간 더 관류하고, 심장을 2~4℃ 식염수에 4시간 보존 후 45분간 재관류하였다. 제3군(12마리)은 제1군과 같은 방법으로 전처치한 후 심장을 5시간 보존후 재관류하였고, 제4군(18마리)은 제2군과 같은 방법으로 전조건화를 시행한 후 심장을 5시간 보존후 재관류하였다.

실험은 Langendorff 체외관류장치에 Krebs-Henseleit 완충액을 주입하여 37℃로 가온하여 관류시키면서 carbogen으로 관류액을 산소농도가 400 mmHg 이상, 이산화탄소 농도가 35~40 mmHg를 유지할 수 있도록 하였다. 실험동물은 체중1 kg당 펜토탈소디움(pentothal sodium) 30 mg를 복강내 주사하여 마취시켰고, 마취가 불충분한 경우에는 상기용량의 1/2을 더 주사하였다. 5분후에 고정판에 쥐를 고정한 후 헤파린 1000 unit을 대퇴정맥으로 주사하고 즉시 개흉하였다. 개흉 후 심장을 적출하여 식염수빙설(saline ice slush)위에서 대동맥에 삽관하여 Langendorff 장치에 연결하여 85 cm H_2O의 압력으로 관류하였으며, 심장적출에서 관류시까지 심장의 허혈시간은 100초에서 110초사이로 유지하였다. 1군과 3군은 관류 30분에 심장을 4℃의 중외심정지액1호액을 65 cm H_2O의 압력으로 2분간 주입하여 심정지를 유도하여, 2~4℃의 식염수에 각 군에 따라 정해진 시간동안 심장을 보존하였다. 2군과 4군은 관류 20분에 3분간 허혈을 유도하여 전조건화를 시행한 후 10분간 더 관류하여 위와 같은 방법으로 심정지를 유도한 후 심장을 2~4℃의 식염수에 심장을 보존하였다. 일정시간 보존된 심장은 다시 관류장치에 다시 연결하여 심장보존 전과 같은 조건하에서 45분간 재관류하였다. 각 군에서 관류 15분에 심박동수, 좌심실내압(left ventricular developed pressure) 및 관 관류량(coronary flow)을 측정하여 이를 기준치로 삼았다. 재관류시 동율동이 돌아오는 시간, 즉 자연제세동시간을 측정하였으며, 재관류 15분, 30분 및 45분에 심박동수, 좌심실내압 및 관 관류량을 측정하였다. 좌심실압의 측정은 18 Gauge 카눌라에 연결된 콘돔으로 만든 latex balloon을 좌심방을 통하여 좌심실내로 삽입하고, 좌심실내의 풍선을 증류수로 적당히 팽창시켜 좌심실의 이완기압력이 8~10 mmHg 정도가 되도록 조절한 후 좌심실압을 기록하였다.

실험이 끝난 심장은 관류장치에서 분리하여 심장무게를 측정하여 이것을 비건조무게로 하였고, 심근의 미세구조를 보기 위하여 심첨부의 좌심실 일부를 생검하여 전자현미경으로 관찰하였다. 그리고, 심장을 건조기에 넣어, 100℃에서 24시간 건조시킨 후 무게를 측정하여 건조무게로 하였다.

심장의 기능적 평가를 위하여, 재관류후 동율동이 회복되는 시간과 관류 15분, 30분 그리고 45분에 각각 심박동수, 좌심실내압 및 관 관류량을 측정하였고, 좌심실내압과 심박동

Table 2. Spontaneous defibrillation time

Group	Second
1	208.5±111.1
2	93.5±20.5[a]
3	705.0±295.1[b]
4	531.6±169.6[c]

Data are expressed as mean±standard error of the mean. [a]; p<0.05 vs group 1, [b]; p< 0.001 vs group 1 and group 2, [c]; p<0.001 vs group 1 and group 2.

Table 3. Heart rate

Group	Bascline (beats/min)	Reperfusion (beats/min)		
		15 min	30 min	45 min
1	280.0±15.1	162.8±30.3	227.1±43.4	260.0±23.0
2	288.5±9.0	224.2±18.1[a]	265.7±30.4	275.7±19.0
3	261.6±42.3	127.5±85.0	181.2±34.2[c]	203.3±41.8[d]
4	276.6±27.8	188.8±52.7[b]	214.4±42.1	226.1±38.9[e]

Data are expressed as meanstandard error of the mean. [a]; p<0.001 vs group 1, [b]; p<0.05 vs group 3, [c]; p<0.05 vs group 1, [d]; p<0.01 vs group 1, [e]; p<0.05 vs group 1.

수를 곱한 값을 심부담으로 표시하였다. 관 관류량은 분당 관 관류량을 심장의 건조무게로 나누어 표시하였고, 좌심실 내압은 좌심실내에 위치한 풍선을 증류수로 팽창시켜 좌심실의 이완기 압력이 8~10 mmHg 되게 조절한 후 압력변환기에 연결하여 polygraph(model 7 series, Grass instruments, Quincy. Mass., U.S.A.)를 통해 기록한, 수축기압과 이완기압의 차이이다.

심근의 수분함량은 심기능 평가를 끝낸 후, 건조기에 100 ℃로 24시간 건조시키기 전후의 무게를 각각 비건조무게와 건조무게로 하여, 이들의 차이를 비건조무게로 나누어 표시하였다.

심근 미세구조의 관찰은 실험의 전 과정이 끝난 후, 심첨부 주위의 좌심실벽에서 생검한 조직표본을 Hitach H-7000 전자현미경으로 가속전압 75 KV에서 관찰하였다. 각 군의 심근손상 정도는 Jutta Schaper 등[7]과 Monticello 등[8]에 의하여 사용된 기준을 사용하였고, 한 사람의 병리조직학자에 의하여 판정이 이루어졌다. 심근 손상 정도를 0등급에서 4등급까지로, 0등급은 전자현미경상 정상소견인 경우이고, 핵의 변화는 진정염색질(euchromatin) 제거정도(clearing)에 따라, 1등급은 극소(minimal), 2등급은 경도(mild), 3등급은 중등도(moderate), 4등급은 극심(marked)으로 분류하였고, 미토콘드리아의 변화는 1등급은 극소의 미토콘드리아 확대, 2등급은 경한 확대 및 무정형의 기질밀집이 약간 관찰되며, 3등급은 중등도의 미토콘드리아 확대 및 무정형의 기질밀집 및 막의 파괴, 4등급은 극심한 미토콘드리아 확대 및 사립체능의 소실이 있는 경우로 분류하였다. 세포내 부종은 정도에 따라 1등급은 극소, 2등급은 경도, 3등급은 중등도, 4등급은 극심한 부종이 있는 경우로 구별하였다. 심근원섬유의 변화정도는 1등급은 근절의 손상, 2등급은 근절의 손상 및 I 밴드의 확장, 3등급은 약간의 근원섬유의 파열 및 근세사의 분리, 4등급은 과수축밴드형성을 포함한 근세사구조의 육안적 파손이 있는 경우로, 이와 같은 판정 기준을 사용하여 심근의 손상 정도를 판정하였다.

실험에서 얻은 자료는 평균+표준오차로 표시하였고, 통계분석은 컴퓨터 프로그램 SAS(Statistical Analysis System, Version 6.12)을 통해 수행하였으며, 각 군간의 비교에는 분산분석법(analysis of variance, ANOVA)과 Sheffe's test를 사용하였고, 대조군 및 비교군 간의 유의성 검증은 공분산분석법(analysis of covariance, ANCOVA)을 사용하였다.

결 과

관류 15분에 측정한 심박동수, 좌심실내압 그리고 관 관류량을 기준치로 삼았으며 이들 기준치는 각 군간에 차이가 없었다.

자연 제세동시간: 보존된 심장을 재관류 시켰을 때 대부분 심실세동이 처음 얼마간 지속된 후 저절로 심박동이 돌아왔다. 재관류 시작후 측정한 자연제세동시간은 제1군은 208.5±111.1초, 제2군은 93.5±20.5초, 제3군은 705.0±295.1초, 제4군은 531.6±169.6초로 전조건화에 관계없이 5시간 보존군이 4시간 보존군보다 제세동이 늦게 일어났다(제3군과 제1군, 제4군과 제2군, 제3군과 제2군, 제4군과 제1군; 각각 p<0.001). 4시간 보존을 한 군에서는 전조건화를 시행한 군(제2군)이 하지 않은 군(제1군)보다 제세동이 더 빨리 일어났으나(p<0.05), 5시간 보존군에서는 전조건화를 시행한 군(제4군)이 하지 않은 군(제3군)보다 제세동이 평균적으로 빨리 일어났으나 통계적 유의성은 없었다(Table 2).

심박동수: 같은 시간 보존한 경우에는 전조건화를 시행한 군이 전조건화를 시행하지 않은 군보다 재관류 15분에 심박동수가 더 빨랐으나(제1군과 제2군; p<0.001, 제3군과 제4군; p<0.05), 재관류 30분 및 45분에는 차이가 없었다. 전조건화를 시행하지 않고 5시간 보존한 군(제3군)은 대조군(제1군)에 비하여 재관류 15분에는 심박동수가 차이가 없었으나, 재관류 30분의 심박동수는 더 느렸고(p<0.05), 재관류 45분의 심박동수도 더 느렸다(p<0.01). 전조건화를 시행후 5시간 보존

Table 4. Left ventricular developed pressure

Group	Baseline (mmHg)	Reperfusion(mm Hg)		
		15 min	30 min	45 min
1	103.1±15.7	86.4±21 7	102.8±13.8	110 0±8.6
2	105.7±9.7	87.2±13 4	108.4±7 3	111.2±8 1
3	104.9±19.5	52.8±36.6[a]	75.6±23.3[a]	83.0±27.8[a]
4	95.2±19.9	66 5±24 3	88.7±19.2[b]	95.5±16.9[b,c]

Data are expressed as mean±standard error of the mean. a p<0.05 vs group 1, [b]; p<0 01 vs group 1, [c]; p<0.05 vs group 3

Table 5. Coronary flow

Group	Baseline(ml/min/gm dry wt)	Reperfusion(ml/min/gm dry wt)		
		15min	30 min	45 min
1	56.5±8.5	52.3±6.3	56.2±8.4	56.6±7.9
2	57.6±4.2	51.5±8.2	56 7±7.4	57.0±7.4
3	58.5±6.5	45.6±6 0[a]	46.2±5.9[b]	47 6±7.8[a]
4	58.0±8.4	46.5±4.8[c]	48.4±7 1[c,d]	49.9±7.9[c,d]

Data are expressed as mean±standard error of the mean [a]; p<0.05 vs group 1, [b]; p<0 01 vs group 1. [c]; p<0.01 vs group 1. d p<0 01 vs group 2.

한 군(제4군)은 대조군에 비하여 재관류 15분과 30분에 심박동수는 차이가 없었으나, 재관류 45분에 측정한 심박동수는 더 느렸다(p<0.05)(Table 3).

좌심실내압: 4시간 보존군에서는 전조건화를 시행한 군(제2군)이 시행하지 않은 군(제1군)보다 재관류시 좌심실내압의 평균치는 높았으나 통계적 유의성은 없었다. 5시간 보존군에서 전조건화를 시행하지 않은 군(제3군)과 시행한 군(제4군) 간에 재관류 15분 및 30분에는 좌심실내압이 차이가 없었으나 재관류 45분에는 전조건화를 시행한 군이 좌심실내압이 더 높았다(p<0.05). 전조건화를 시행하지 않고 5시간 보존한 군(3군)은 대조군(1군)에 비하여 재관류 15분(p<0.05), 30분(p<0.05) 및 45분(p<0.05)의 좌심실내압이 더 낮았다. 전조건화를 시행후 5시간 보존한 군(제4군)은 대조군(제1군)에 비하여 재관류 15분에 측정한 좌심실내압은 차이가없었으나 재관류 30분(p<0.01) 및 45분(p<0.01)에 측정한 좌심실내압은 더 낮았다(Table 4).

관관류량: 분당 관 관류액을 심장의 건조무게로 나눈 관관류량(ml/min/gm dry weight)은 전조건화를 시행하지 않은 경우에서는 5시간 보존군(제3군)군이 대조군(제1군)에 비해 재관류 15분, 30분 및 45분에 관 관류량이 더 적었고(각각 p<0.05, p<0.01, p<0.05), 전조건화를 시행한 5시간 보존군(제4군)과 4시간 보존군(제2군)간에 관 관류량은 재관류15분에는 차이가 없었으나, 재관류 30분 및 45분에는 5시간 보존군(제4군)에서 더 적었다(p<0.01). 같은 시간보존한 경우에는 전조건화를 시행하지 않은 군과 시행한 군간에는 차이가 없었다. 전조건화를 시행후 5시간 보존한 군(제4군)은 대조군(제1군)에 비하여 재관류 15분, 30분 및 45분에 측정한 관 관류량이 더 적었다(p<0.01)(Table 5).

심부담(좌심실내압과 심박동수를 곱한 값): 4시간 보존군에서는 전조건화를 시행한 군(제2군)이 시행하지 않은 군(제1군)보다 재관류 15분의 심부담 값이 더 높았고(p< 0.01), 5시간 보존군에서는 전조건화를 시행한 군(제4군)이 시행하지 않은 군(제3군)보다 재관류 15분에는 심부담값의 차이가 없었으나, 재관류 30분 및 45분의 심부담값은 더 높았다(p<0.05). 전조건화를 시행하지 않고 5시간 보존한 군(제3군)은 대조군에 비해 재관류 15분에는 심부담값의 차이가 없었으나, 재관류 30분 및 45분의 심부담값은 더 낮았다(<0.01). 전조건화를 시행후 5시간 보존한 군(제4군)은 대조군(제1군)에 비하여 재관류 15분에 측정한 심부담 값은 차이가 없었으나, 재관류 30분 및 45분에 측정한 심부담 값은 더 낮았다(p<0.05)(Table 6).

심근의 수분함량: 제1군은 82.2+1.3%, 제2군은 83.3+0.5%, 제3군은 85.5+1.4%, 제4군은 85.6+1.3% 로 각 군간에 차이는 없었다(Table 7)

심근의 미세구조변화. 주사전자현미경을 사용하여 심근 미세구조의 손상 정도를 관찰한 소견에서는, 대조군(제1군)은 극소의 핵염색질 소실(1등급)과 경한 미토콘드리아의 확대가 진행되었으며(2등급), 극소의 세포내 부종(1등급) 및 경미한 심근원섬유손상(1등급)이 있었다. 전조건화를 시행한 후 4시간 보존한 군(제2군)은 극소의 핵염색질 소실(1등급) 및 경한 미트콘드리아의 확대 및 미토콘드리아내에 약간의 무정형 기질밀집이 보였고(2등급), 극소의 세포내 부종(1등급) 및 경미한 근원섬유의 손상(1등급)이 있었다. 전조건화를 시행하지 않고 5시간 보존한 군(제3군)은 중등도의 핵염색질이 중등도의 소실(3등급)과 중등도의 미토콘드리아의 확장 및 무정형의 기질밀집이 보였고(3등급), 중등도의 세포내 부종(3등급) 및 경도의 심근원섬유의 손상(2등급)이 보였다. 전조건화를 시행한 후 5시간 보존한 군(제4군)은 핵염색질이 비교적 잘 보존되어 있었고(1등급), 경한 미토콘드리아가 확대(2등급), 경한 세포내 부종(2등급) 및 경미한 심근원섬유의 손상(1등급)이 보였다.

Table 6. Rate-pressure product values

Group	Baseline(mm Hg/min)	Reperfusion(mm Hg/min)		
		15 min	30 min	45 min
1	29,068±5,568	13,647±2,696	23,371±5,776	28,685±4,159
2	30,485±2,700	19,532±2,990[a]	28,674±2,434	30,597±1,910
3	27.783±7,398	9,368±7,694	14,182±6,516[b]	17,322±7,783[b]
4	26,382±6,135	12,872±6,571	19,192±6,208[c,d]	21,761±6,067[c,d]

Data are expressed as mean±standard error of the mean. [a]; p<0.01 vs group 1, [b]; p<0.01 vs group 1, [c]; p<0 05 vs group 3, [d]; p<0.05 vs group 1.

Table 7. Cardiac water content

Group	Wet weight (gm)	Dry weight (gm)	Water content (%)
1	1.41±0.04	0.251±0.016	82.2±1 3
2	1.42±0.23	0.236±0.012	83.3±0.5
3	1.43±0.10	0.243±0.012	83.0±1.4
4	1.46±1.14	0.240±0.015	83.5±1.3

Data are expressed as mean±standard error of the mean.

고 찰

심근의 허혈상태가 일정기간 지속된 후 재관류하면 심기능의 저하가 초래되는데, 그 원인을 보면, 심장으로 가는 혈류가 차단되면 세포내 삼투압은 증가하게 되고, 이로 인하여 재관류시에 혈장액이 손상된 세포로 이동하여 세포확대가 발생하고, 결국은 근섬유초막의 손상을 일으킨다. 또, 허혈시나 재관류시에는 Ca_2^+가 혈장에서 세포내로 이동하게 되고, 세포내의 칼슘이 증가하게 되면 심근원섬유내에 수축밴드와, 미토콘드리아내에 기질밀집을 형성하게 되어 비가역적인 세포손상까지로 진행할 수 있다[9]. 그러나, 짧은 기간의 허혈은 그 다음에 오는 장기간의 허혈에 대하여 더 잘 견디게 한다. 이와 같이 일정기간의 허혈에서 그 전에 짧은 기간의 허혈이 있었는 경우에는 그 짧은 심근허혈이 그 후의 장기간의 허혈에 대하여 심근보호작용을 하는 것을 허혈성 전조건화라고 하며, 1986년 Murry 등[3]이 처음으로 보고하였다.

허혈성 전조건화의 효과는 심근손상의 감소, 재관류시 심기능 회복의 향상 및 부정맥의 발생을 감소시킨다고 한다[4~6].

현재까지 알려진 허혈성 전조건화에 의한 이러한 심근 보호효과는, 장기간의 허혈시 발생하는 유산축적의 감소 및 세포내산증의 감소[3], 허혈성 전조건화때 분비되는 adenosine등에 의한 membrane-bound receptors의 자극과 ATP소비의 감소에 의한 세포구조(cell salvage)[10], ATP-sensitive potassium channels의 opening[11] 그리고 장기간 허혈에 의한 세포내 Ca_2^+의 증가억제[12] 등의 기전에 의하여 일어난다고 알려져 있다. 최근에는 허혈성 전조건화가 심근 뿐만 아니라 신경조직에도 보호효과가 있다고 보고되고 있다. Matsuyama 등[13]은 개의 대동맥을 20분간 차단하여 허혈성 전조건화를 시행한 후 48시간후에 대동맥을 60분간 차단하는 실험에서 허혈성 전조건화군이 대조군에 비하여 척수신경 손상이 더 적었다고 보고하였다. Munyao 등[14]은 토끼실험에서 허혈성 전조건화를 시행한 군에서 운동신경손상이 더 적게 일어났다고 하였다.

쥐를 이용한 허혈성 전조건화의 실험에서 심근보호에 대한 효과적인 전조건화의 기간의 범위는 2분에서 5분 사이가 적당한 것으로 알려져 있으나[15~16], 재관류시의 부정맥과 전기기계카플링과정(electro-machnical coupling processes)의 장애는 2분에서 3분간의 허혈성 전조건화때 가장 적게 생기는 것으로 보고 되었다[15,16]. Takeshima 등[15]은 각각 2회의 허혈성 전조건화를 2, 3, 4 또는 5분씩 시행하여 25분간 허혈을 유도한후 60분간 재관류하는 쥐실험에서, 2분간의 허혈성 전조건화를 시행하였을 때가 재관류시 부정맥과 이완기 심기능부전이 가장 적게 생긴다고 하였다. Laptev 등[16]도 1분에서 5분간의 허혈성 전조건화를 시행한 쥐실험에서, 2분에서 3분간의 허혈성 전조건화가 심부정맥과 전기기계카플링과정장애가 가장 적게 발생한다고 보고하였다. 본 실험에서도 허혈성 전조건화가 재관류시 심근 기능 및 자연제세동시간에 미치는 영향을 보기 위하여 1회에 한하여 3분간 허혈성 전조건화를 시행하였다.

임상에서 허혈성 전조건화의 효과는 Deutsche 등[7]에 의하여 보고되고 있다. Deutsche 등은 12명의 좌주관상동맥의 혈관성협술환자에서 90초간 관상동맥을 폐쇄한 후 5분간 재관류하고, 다시 90초간 관상동맥을 폐쇄하였을 때, 2번째의 관상동맥의 폐쇄시 환자들이 흉통을 더 적게 호소하고, ST부의 상승도 더 적게 나타나며, 유산도 더 적게 생성됨을 보고하

였다. 사람에서 허혈성 전조건화의 효과는 관상동맥수술에서는 그 효과가 알려졌으나, 공여심장보존에 적용할 때는, 동물실험과 임상적용의 차이, 심보존용액의 차이, 공여심장의 적출시에 임상적 여러 가지 제한 등으로 한계가 있다. 이에 따라서 약물적 전조건화(pharmaceutical preconditioning)도 최근에 많이 연구되고 있다[18,19]. Bilinska 등[18]은 적출 쥐에서 nitric oxide를 심장허혈전에 투여하였을 때 허혈성 전조건화와 비슷하게 재관류 부정맥의 발생을 감소시킬 수 있다고 보고하였고, Joyeux 등[19]은 쥐실험에서 42℃의 온도로 15분동안 heat stress을 유도하여 심근보호효과가 있음을 보고하였다. 약물적 전조건화가 허혈성 전조건화와 같은 효과가 있다면, 더 간편하게 임상에 적용할 수 있으므로 약물적 전조건화가 사람에서는 허혈성 전조건화의 대용방법으로 사용될 수도 있을 것으로 보인다.

심근기능을 평가하기 위한 방법으로 Langendorff 에 의해 고안된 비작업성 체외관류모형이 주로 사용되는데[5,6], 본 실험에서도 자체 제작한 Langendorff 체외관류장치를 사용하여 재관류시 동율동이 돌아오는 시간, 심박동수, 좌심실내압 그리고 심부담값 등을 측정하여 심기능을 평가하였다.

심근허혈에 의한 심근세포의 미세구조의 손상정도는 Jutta Schaper 등[7]과 Monticello 등[8]에 의하여 사용된 판정기준을 사용하였는데, 심근허혈손상에 의한 기능적 변화와 심근세포 및 미토콘드리아등의 미세구조물 변화는 서로 관련이 있으며, 심근허혈로 인한 세포손상은 세포내 삼투압의 증가로 인한 세포부종과 심근섬유초막의 손상, 세포내 칼슘침착으로 인한 심근원섬유내의 수축밴드생성, 및 미토콘드리아내 부정형의 결정생성 등으로 나타나며, 심근원섬유내의 수축밴드와 미토콘드리아내 부정형의 결정 등은 비가역적 변화때 나타나는 소견들이다. 심근 미세구조의 손상 정도를 관찰하기 위한 주사전자현미경 소견상, 4시간 보존한 군에서는 전조건화를 시행한 군(제2군)이 전조건화를 시행하지 않은 군(대조군)보다 핵의 변화와 세포내 부종이 더 적었으며, 5시간 보존한 군에서도 전조건화를 시행한 군(제4군)이 전조건화를 시행하지 않은 군(제3군)보다 핵염색질, 미토콘드리아, 심근원섬유, 근형질이 더 잘 보존되어 있었다. 허혈성 전조건화를 시행한 5시간 보존한 군(제4군)은 대조군(제1군)에 비해서 심근세포내 부종이 더 진행된 소견을 보였다.

본 실험에서는 같은 시간 보존군에서 허혈성 전조건화를 시행한 군이 시행하지 아니 한 군에 비하여 재관류시 심기능이 더 우수하였으며, 동율동이 회복되는 시간도 더 빨랐고, 심근 미세구조의 손상도 더 적었다. 허혈성 전조건화를 시행후 5시간 보존한 군(제4군)이 대조군(제1군)에 비해서 심기능이 불량하였으며, 동율동이 돌아오는 시간이 더 느렸고, 심근세포내 부종도 더 진행된 소견을 보였다. 따라서, 허혈성 전조건화로 심장의 저온보존시 안전한 허혈시간이라고 생각되는 4시간을 초과하여 1시간 더 연장할 수 있다고 단언할 수는 없었다. 임상에서 허혈성 전조건화로 심근보호효과를 얻을려면, 허혈성 전조건화의 시간과 회수, 장기보존액에 대한 연구, 및 약물에 의한 전조건화등에 대한 연구가 더 필요하리라 생각된다.

결 론

쥐의 적출 심장을 이용하여 4시간 이상 심장을 보존하였을 때 허혈성 전조건화가 심장보존에 미치는 영향을 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

같은 시간 보존군에서 허혈성 전조건화를 시행한 군이 재관류후 심기능이 더 우수하였으며 동율동이 돌아오는 시간이 더 빨랐고, 심근 미세구조의 손상도 더 적었다. 따라서 4시간 이상 심장보존시 허혈성 전조건화가 어느정도의 심근보호효과는 보였으나 3분간 1회의 허혈성 전조건화로 심근보호시간을 1시간 더 안전하게 연장한다고 단언할 수는 없었다.

참 고 문 헌

1. Gay WA Jr. *Cardiac transplantation.* In: Sabiston DC, Spencer FC. *Surgery of the Chest.* 6th ed. Philadelphia, W.B. Saunders Co. 1995;2103-16
2. Reddy VS, Drinkwater DC. *Donor Thoracic Organs: Evaluation, Management, and Preservation.* In: Franco KL, Verrier ED. *Advanced Therapy in Cardiac surgery.* Hamilton, B.C. Decker Inc 1999;462-71.
3. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. *Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium.* Circulation 1986;74:1124-36.
4. Scott RJ, Rohman S, Braun ER, Schaper W. *Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium.* Circ Res 1990;66:1133-42.
5. Cave AC, Collins CS, Downey JM, Hearse DJ. *Improved functional recovery by ischemic preconditioning is not mediated by adenosine in the globally ischemic isolated rat heart.* Cardiovasc Res 1993;27:663-8.
6. Hagei JM, Hale SL, Kloner RA. *Effect of preconditioning ischemia on reperfusion arrhythmias after coronary artery occlusion and reperfusion in the rat.* Circ Res 1991;68: 61-8.
7. Jutta Schaper J, Mulch B, Winkler B, Wchaper W. *Ultrastructural, functional, and biochemical criteria for estimation of reversibility of ischemic injury: a study on the effects of global ischemia on the isolated dog heart.* J Mol Cell Cardiol 1979;11:521-41.
8. Monticello TM, Sargent CA, Mcgill JR, Barton DS, Glover GJ. *Amelioration of ischemia/reperfusion injury in*

isolated rat hearts by the ATP-sensitive potassium channel opener BMS-180448:. Cardiovasc Res 31(1996)93-101.

9. Jennings RB, Ganote CE. *Mitochondrial structure and function in acute myocardial ischemic injury.* Circulation 1990;82:609-19.
10. Bugge E, Ytrehus K. *Iscemic preconditioning is protein kinase C dependent but not through stimulation of alpha adrenergic or adenosine receptors in isolated rat heart.* Cardiovasc Res 1995;29:401-6.
11. Grover GJ, Dzwonczyk S, Parham CS, Sleph PG. *The protective effects of cromaklim and pinacidil on reperfusion function and infarct size in isolated perfused rat hearts and anesthetized dogs.* Cardiovasc Drugs Ther 1990;4:465-74.
12. Tani M, Neely JR. *Intermittent perfusion of ischemic myocardium: possible mechanisms of the protective effects on mechanical function in isolated rat heart* Circulation 1990;82·536-48.
13. Matsuyama K, Chiba Y, Ihaya A, Kimura T, Tanigawa N, Muraoka R. *Effect of spinal cord preconditioning on paraplegia during cross-cramping of the thoracic aorta.* Ann Thorac Surg 1997;63:1315-20.
14. Munyao N, Kastc M, Lindsberg PJ. *Tolerization against loss of neuronal function after ischemia-reperfusion injury.* Neuroteport 1998:9:321-5
15. Takeshima S, Vaage J, Valen G. *Preconditioning the globally ischaemic, isolated rat heart: the impact of the preconditioning mode on post-ischaemic systolic and diastolic function* Scand J Clin Lab Invest 1997;57(7): 637-46.
16. Laptev BI, Khaliulin IG, Ushcheko DV. *The prevention of reperfusion damages to the rat heart by preliminary short-term episodes of ischemia of different durations.* Ross Fiziol ZH Im I M Sechenova 1997;83(9).69-73.
17. Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, Hirshfeld JW Jr, Herrmann HC, Laskey WK. *Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty: Clinical, hemodynamic, and metabolic features.* Circulation 1990;82. 2044-51.
18. Bilinska M, Maczewski M, Beresewiccz A. *Donors of nitric oxide mimic effects of ischaemic preconditioning on reperfusion induced arrhythmias in isolated rat heart.* Mol Cell Biochem 1996 Jul-Aug;160-161:265-71.
19 Joyeux M, Godin Ribuot D, Ribuot C. *Resistance to myocardial infarction induced by heat stress and the effect of ATP-sensitive potassium channel blockade in the rat isolated heart.* Br J Pharmacol 1998;123(6).1085-8.

=국문초록=

배경: 허혈성 전조건화의 효과는 허혈 및 재관류 손상에 대하여 심근이 더 잘 견디게 하고, 제관류시 심기능 회복을 향상시킨다. 본 실험에서는 쥐의 적출된 심장을 이용하여 4시간 심장보존시 허혈성 전조건화로 심근보존 시간을 1시간 더 연장할 수 있는지에 대하여 연구하였다. ***대상 및 방법:*** 본 실험에서는 몸무게 300-450 gm의 Sprague-Dawley 계 흰 쥐 44마리를 4군으로 분류하여 실험을 하였다. 제1군(7마리)과 제3군(12마리)은 적출한 심장을 Langendorff 장치를 이용하여 30분간 관류한 후 심장을 2~4℃ 식염수에 각각 4시간 및 5시간 보존 후 45분간 재관류하였으며, 제2군(7마리)과 제4군(18마리)는 관류 20분에 3분간 허혈을 유도하여 전조건화를 이룬 후 10분간 더 관류하고, 심장을 2~4℃ 식염수에 4시간 및 5시간 보존 후 45분간 재관류하였다. 각 군에서 관류 15분에 심박동수, 좌심실내압 및 관 관류량(coronary flow)을 측정하여 이를 기준치로 삼았다. 재관류시 동율동이 돌아오는 시간, 즉 자연제세동시간을 측정하였으며, 재관류 15분, 30분 및 45분에 심박동수, 좌심실내압 및 관 관류량을 측정하였다. 실험이 끝난 후 심첨부의 좌심실벽을 생검하여 전자현미경으로 관찰하였다. ***결과:*** 자연 제세동시간은 제2군이 제1군보다 제세동이 더 빨리 일어났다. 전조건화를 시행후 5시간 보존군(제4군)이 대조군(제1군)에 비하여 자연제세동이 더 늦게 나타났다. 제4군은 대조군에 비하여 재관류 45분에 측정한 심박동수는 더 느렸다($p<0.05$). 재관류 15분의 심박동수는 제2군에서 제1군보다 더 빨랐고($p<0.05$), 제4군에서 제3군보다 더 빨랐다($p<0.05$). 제4군은 대조군에 비하여 재관류 30분($p<0.01$) 및 45분($p<0.01$)에 측정한 좌심실내압은 더 낮았다. 5시간 보존군에서 제4군이 제3군보다 재관류 45분의 좌심실내압이 더 높았다($p<0.05$). 제4군은 대조군에 비하여 재관류 30분 및 45분에 측정한 심부담값은 더 낮았다($p<0.05$). 제2군이 제1군보다 재관류 15분의 심부담 값이 더 높았고($p< 0.01$), 제4군이 제3군보다 재관류 30분 및 45분의 심부담값이 더 높았다($p<0.05$). 주사전자현미경 소견상 4시간 보존군에서 제2군이 핵의 변화와 세포내 부종이 제1군보다 덜 심하게 나타났다. 제4군이 제3군보다 세포손상이 덜 보였으나, 대조군에 비하여 심근세포내 부종이 더 진행된 소견을 보였다. ***결론:*** 4시간 이상의 심장보존시 허혈성 전조건화가 재관류후 심기능 회복에 더 우수하였으나 3분간 1회의 허혈성 전조건화로 심근보호시간을 1시간 더 안전하게 연장한다고 볼 수는 없었다.

중심단어: 1. 허혈성 전조건화
2. 심장보존