신생쥐의 저산소성 허혈성 뇌손상에서 손상 후 덱사메타손의 투여 효과

경북대학교 의과대학 소아과학교실, 병리학교실*

박창로 · 박경필 · 김행미 · 손윤경*

The Effect of Postnatal Dexamethasone Treatment on Hypoxic-Ischemic Brain Injury in Neonatal Rats

Chang Ro Park, M.D., Kyung Pil Park, M.D.
Heng Mi Kim, M.D. and Yoon Kyung Sohn, M.D.*

Department of Pediatrics, Department of Pathology, College of Medicine, Kyungpook University, Taegu, Korea*

Purpose : Dexamethasone is frequently administered to prevent or treat chronic lung disease in human neonates who are also prone to hypoxic-ischemic(HI) insults. Recently, meta-analysis of the follow-up studies reveals a significantly increased odd ratio for the occurrence of cerebral palsy or an abnormal neurologic outcome, and there is conflicting evidence regarding the impact of dexamethasone exposure on HI brain injury. This study was conducted to explore the effect of post-HI dexamethasone administration on neuronal injury in neonatal rats.

Methods : HI was produced in seven-day-old rats by right carotid artery ligation followed by two hours of 8% oxygen exposure. At the end of HI, the animals were injected intraperitoneally either with dexamethasone(0.5 mg/kg) or saline. Neuronal injury was assessed seven days after the HI by the area of infarction, TUNEL reactivity, Bcl-2 and Bax expression in brain.

Results : Post-insult dexamethasone administration resulted in reduction of weight gain and a higher mortality rate during seven days after HI. Dexamethasone treatment revealed no effect on the size of brain infarction induced by HI. Bax protein expression increased in dexamethasone treated brain but Bcl-2 protein expression and TUNEL reactivity revealed no significant differences between dexamethasone treated and non treated brain. Increased Bax protein expression suggest upregulation of the apoptosis by dexamethasone.

Conclusion : The result suggests the adverse role of Post-HI administration of dexamethasone in neonatal HI. (J Korean Pediatr Soc 2003;46:989-995)

Key Words : Dexamethasone, Hypoxia-ischemia, neonatal rat, Apoptosis, Infarction size

서 론

태아 및 신생아에 있어서 스테로이드(steroid) 제제는 신생아 호흡 곤란 증후군의 예방과 만성 폐질환의 예방 및 치료에 널리 사용되고 있다[1]. 태아 즉 출생 전에 스테로이드를 투여한 경우에는 호흡 곤란 증후군과 뇌실내 출혈 빈도 감소, 미숙아의 사망률 및 이환율 감소 및 장기적 신경발달적 예후의 호전을 보인다[2]. 최근에는 백질연화증을 감소시키며 장기적 건강을 호전시킨다는 주장도 있다[3].

신생아 출산 후의 스테로이드 투여는 만성 폐질환에 있어서 가스 교환 상태의 호전, 인공호흡 기간의 감소 효과로 인해 초극소 저체중아의 50% 이상이 신생아실 재실 동안 코르티코스테로이드(corticosteroid) 제제를 투약 받고 있으며 출생 후 사용되는 스테로이드의 95%가 만성 폐질환의 위험이 있는 미숙아에게 투여되고 있다고 한다[4]. 산전 스테로이드 투여가 심각한 부작용 없이 사용되고 있는데 반해 출생 후 스테로이드 투여는 최근 여러 가지 문제점이 제기되고 있다. 1999년도에 발표된 대규모 전향적 조사[5]에 의하면 스테로이드를 투여한 신생아에서 장출혈, 장천공, 고혈당증, 고혈압 및 병원내 감염의 증가 등 단기간의 부작용 뿐 아니라 체중 증가와 두위 성장의 지연, 심비대 및 수

접수 : 2003년 6월 11일, 승인 : 2003년 8월 16일
책임저자 : 김행미, 경북대학교병원 소아과
Tel : 053)420-5704 Fax : 053)425-6683
E-mail : hmkim@knu.ac.kr

년 뒤 지각력의 저하 등 장기적 악영향을 보였다. 또한 뇌성마비 빈도의 현저한 증가를 보고한 논문[6-9]이 다수 발표되어 있으며 백질연화증의 증가도 보고된 바 있다[10].

미숙아의 경우 만삭아에 비해 신생아 호흡 곤란 증후군, 만성 폐질환의 발병 가능성이 높으며 따라서 스테로이드 투여 빈도가 높다. 또한 호흡계통의 미숙과 호흡기 병변으로 인해 저산소성 허혈성 뇌손상이 병발될 가능성 역시 높으며 이로 인해 뇌출혈, 백질연화증, 뇌실 확장 등이 초래되므로 미숙아에 있어서의 스테로이드 투여와 저산소성 허혈성 뇌손상의 관계는 임상적으로 매우 중요하다.

저자들은 이에 생후 1주일 된 신생쥐에게 저산소성 허혈성 뇌손상을 유발시키고 유발 에 덱사메타손(dexamethasone)을 투여함으로써 생후 스테로이드가 미숙뇌 손상에 미치는 영향을 조사하였다.

대상 및 방법

본 연구에는 10마리의 Sprague-Dawley rat 어미에서 태어난 103마리의 신생쥐를 암수 구별 없이 사용하였다. 신생쥐는 어미와 함께 양육하여 생후 7일째에 실험을 시행하였다.

신생쥐는 에테르(ether) 마취 하에 우측 총경동맥을 두 군데 결찰한 후 중간 부분을 절단하고 산소농도 8% 환경에 2시간 노출시켜 저산소 허혈 모형을 만들었다. 스테로이드 제제는 덱사메타손을 체중 kg 당 0.5 mg을 저산소 환경 노출 직후 투여하였다. 조작 후 7일 즉 생후 14일에 에테르 마취 하에 생리식염수와 4% 파라포름알데히드(paraformaldehyde) 용액을 관류 고정하여 뇌를 적출하였다.

조직은 hematoxylin-eosin 염색, terminal-deoxynucleotidyl-transferase-mediated deoxyuridine triphosphate nick end labelling(TUNEL) 염색, Bcl-2 및 Bax 형광염색, TUNEL 및 synaptophysin 이중 염색을 시행하였다. 염색 결과의 판독은 TUNEL 염색 양성 반응의 개수는 200배 배율에서 각각의 슬라이드를 5장씩 사진을 찍은 후 합산하였으며, Bcl-2와 Bax 양성 반응의 개수는 각각의 슬라이드마다 전체 양성 반응의 개수를 합산하였고, 경색부위 면적은 Metaview 프로그램을 이용하여 전체 면적에 대한 백분율로 나타내었다. 통계 분석은 덱사메타손 투여군과 대조군의 생존율, 손상부위 면적은 chi-square test로, 체중변화 비교와 Bax, Bcl-2 및 경색부위 면적의 비교는 SPSS 10.0을 사용해 각각 공분산분석(ANCOVA)과 Mann-Whitney 검정을 시행하였다.

Table 1. Mortality of Neonatal Rat during 7 Days after Hypoxic-Ischemic Insult

	No.		Mortality (%)
	Total	Died	
Dexamethasone group	54	25	(46.3)*
Control group	41	7	(17.1)*

*P-value=0.002

Table 2. Weight Gain of Neonatal Rats during 7 Days after Hypoxic-Ischemic Insult

	Weight(gm)		
	Day 7	Day 14	△(Day 14-Day 7)
Dexamethasone group	14.5±1.8	17.8±3.1	3.3±2.8*
Control group	14.3±1.7	22.9±4.8	8.6±4.8*

*P-value=0.001

결 과

103 마리의 신생쥐 가운데 저산소 환경 노출 중 8마리가 사망하여 허혈-저산소 환경에 노출된 후 생존한 쥐는 95마리였다. 이들 중 54마리는 덱사메타손 5 mg/kg를, 대조군인 41마리는 동량의 생리식염수를 복강내 투여한 다음 7일간 어미와 함께 양육하였다. 양육 중 덱사메타손 투여군 가운데 25마리가 사망하였고 대조군은 7마리가 사망하여 덱사메타손 투여군에서의 사망률이 의의있게 높았다(46.3% vs. 17.1%, P=0.002)(Table 1).

7일 후 생존한 쥐를 희생하여 적출한 뇌를 육안으로 관찰하여 결찰측 뇌에 수축이나 경색 등이 관찰된 경우는 덱사메타손군 20례 및 대조군 19례로 육안적 손상의 빈도는 유의한 차이를 보이지 않았다(58.8% vs. 65.5%, P>0.05)(Table 1).

생후 7일째 저산소-허혈 및 투약 전 체중은 덱사메타손 투여군 14.5±1.8 gm, 대조군 14.3±1.7 gm으로 유의한 차이를 보이지 않았으나, 생후 14일째 측정한 체중은 덱사메타손 투여군 17.8±3.1 gm, 대조군 22.9±4.8 gm으로 덱사메타손 투여군의 체중 증가가 유의하게 적었다(P=0.001)(Table 2).

덱사메타손 투여군의 뇌조직과 대조군의 뇌조직의 세포 자멸사(apoptosis)를 보기 위한 Bax 및 Bcl-2. Bax/Bcl-2 및 TUNEL 염색 소견은 다음과 같다(Table 3)(Fig. 1-4). 측정 단위당 Bax는 덱사메타손군 157.0±123.2, 대조군 32.5±27.9,

Table 3. Effect of Dexamethasone on the Expression of Bax, Bcl-2 and TUNEL Positive Cells

	Bax	Bcl-2	Bax/Bcl-2	TUNEL
Dexamethasone group	157.0±123.2	93.6±64.5	2.0±0.7	254.9±91.8
Control group	32.5±27.9	60.6±32.8	0.9±0.4	192.1±59.2
P-value	0.001	0.199	0.075	0.068

Table 4. Effect of Dexamethasone on the Size of Infarction

	Infarction area/ total area of ipsilateral hemisphere(%)
Dexamethasone group	14.9±8.8
Control group	13.9±11.0

P-value >0.05

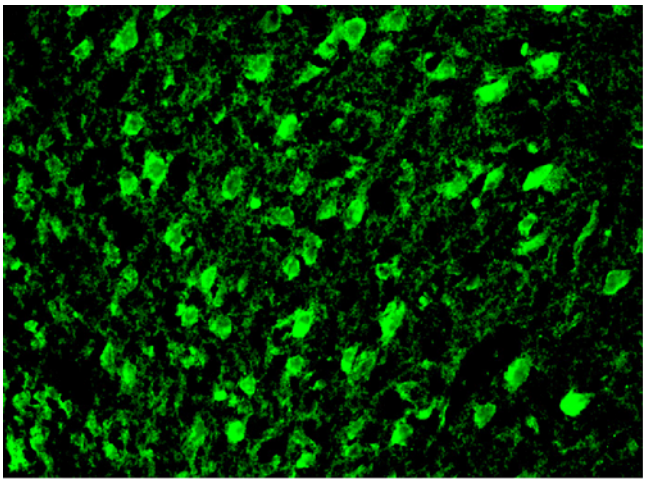

Fig. 1. Expression of Bax. Many cells adjacent the infarction express Bax protein(immunofluorescence, ×200).

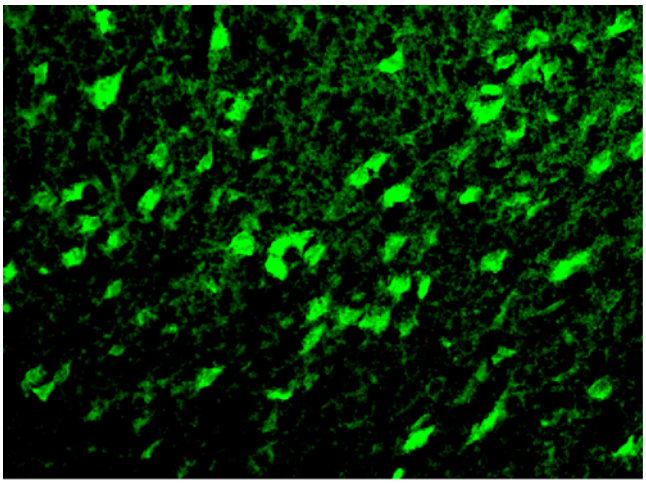

Fig. 2. Expression of Bcl-2. Bcl-2 positive cells are scattered near the cerebral infarction(Immunofluorescence, ×200).

Bcl-2는 각각 93.6±64.5, 60.6±32.8, Bax/Bcl-2는 각각 2.0±0.7, 0.9±0.4, TUNEL 양성 세포는 덱사메타손군 254.9±91.8, 대조군 192.1±59.2로 Bax가 덱사메타손 투여시 유의하게 증가되었다(*P*=0.001). Bax/Bcl-2 및 TUNEL 양성세포 역시 덱사메타손군에서 다소 높은 것으로 나타났으나 통계적 유의성은 없었다.

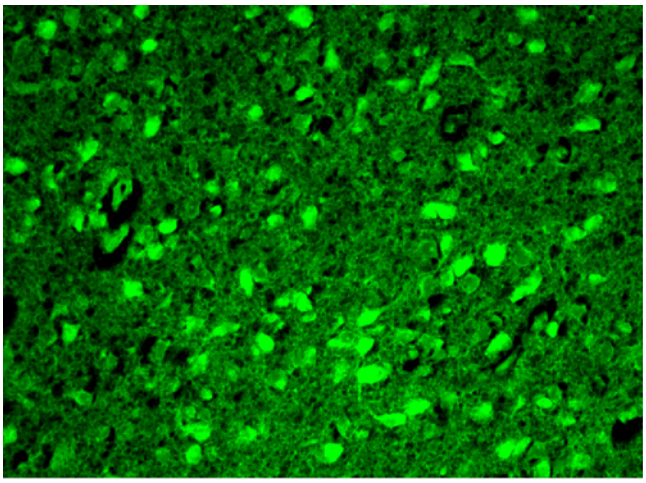

Fig. 3. TUNEL. Several TUNEL positive cells with bright signal at their nuclei are present(×200).

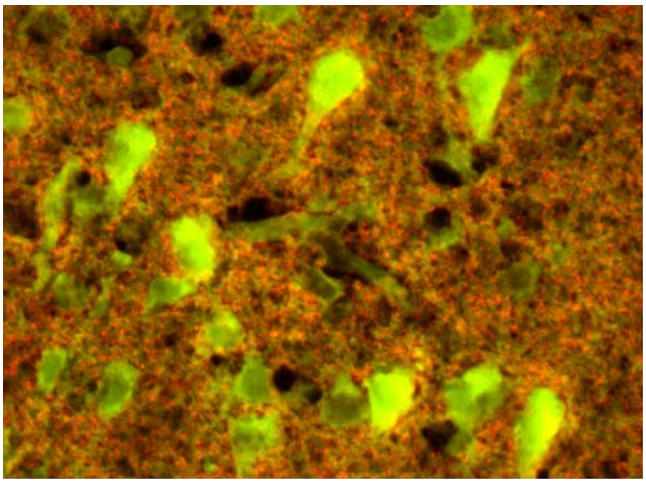

Fig. 4. Double labeling(TUNEL-synaptophysin). TUNEL positive cells still have synaptophysin positive granules(red) in their cytoplasm(×400).

덱사메타손군의 뇌손상 부위는 뇌 양반구의 14.9±8.8%로 대조군 13.9±11.0%와 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 4) (Fig. 5, 6).

고 찰

코르티코스테로이드 제제는 출생 전에는 신생아 호흡 곤란증의 예방 목적으로, 출생 후에는 만성 폐질환의 예방과 치료를 위해 신생아에게 빈번하게 투약되고 있으며 미숙아의 경우 출생 후 투여가 산전 투여보다 훨씬 더 빈번하다[1, 4].

스테로이드의 산전 투여는 미숙아의 사망률, 호흡 곤란증, 뇌실내 출혈, 백질연화증(periventricular leukomalacia, PVL) 및 뇌실확장의 감소, 신경 발달과 장기적 건강 호전 효과가 있으며 학동기까지 추적한 신경학적 검사는 대조군보다 양호하거나 차

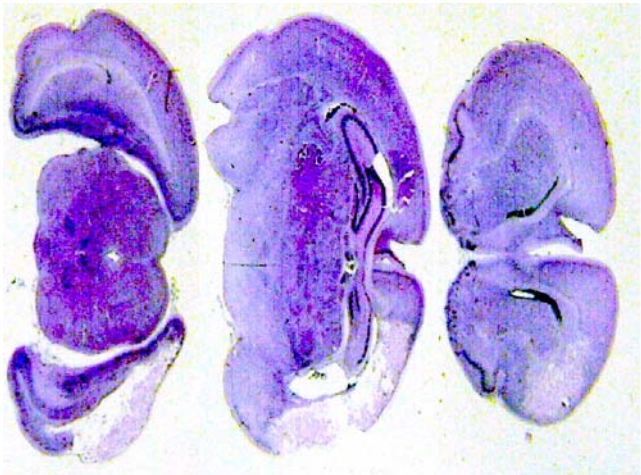

Fig. 5. Photomicrograph illustrating unilateral cerebral infarction in rat brain 7 days after hypoxic-ischemic insult with dexamethasone administration.

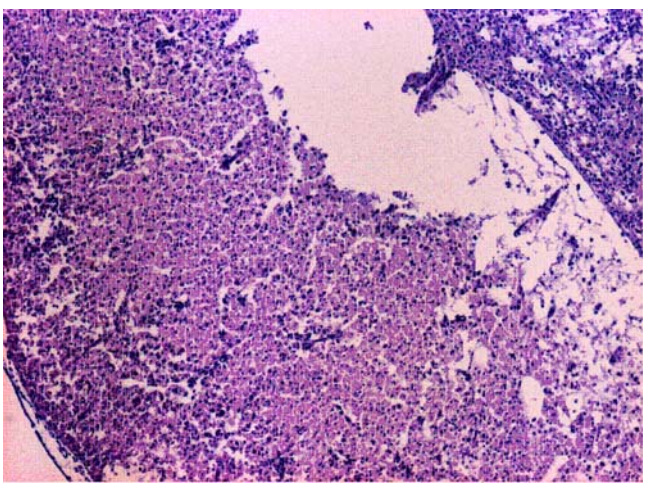

Fig. 6. The infarction area reveals diffuse cellular necrosis, interstitial edema and inflammatory infiltration(Hematoxylin-Eosin, ×40).

이를 보이지 않는다[2, 3]. 반면 스테로이드의 출생 후 투여는 산전 투여와 달리 충분한 조사나 검증 없이 만성 폐질환의 예방과 치료에 사용되어 왔으며, 1998년 Yeh 등[6]이 덱사메타손을 사용한 미숙아에서 뇌성마비 빈도가 2배로 증가하였다고 보고한 이후 비로소 투여 효과와 부작용에 대한 재검토가 시행되기 시작하였다. 여러 메타분석(meta-analysis)에 의하면 투여시기에 따라 조기(생후 96시간 이내), 중간(생후 7-14일) 및 지연 투여군(생후 3주 이후 투여)으로 나누어 분석한 결과 모든 투여군에서 단기적 가스교환의 호전으로 기관내관의 조기 발관, 생후 28일 이내 혹은 수태 후 36주 이내 사망 감소 등의 효과를 보였으나 장기적 생존 증가 및 만성 폐질환 발생 빈도, 감염, 중증 망막증, 뇌실내 출혈, 괴사성 장염 및 폐출혈의 빈도는 차이를 보이지 않았다[11-13]. 중추신경계의 부작용으로 조기 투여시 백질연화증의 증가, 신경학적 이상소견과 발육 지연, 뇌성마비의 위험 증가가 있었으나 중간투여 및 지연투여시 장기적 신경학적 후유증 증가가 없는 것으로 조사되었다[11-13]. 그러나 이들 논문 35편 중 장기적 신경발달에 대한 자료는 4편뿐인 동시에 소규모 조사라는 제한점이 있었다. 또한 그 후 덱사메타손이 즉각적, 장기적으로 뇌 발달에의 영향을 미친다는 자료들이 보고되면서[14-16] 덱사메타손은 오늘날 신생아 집중치료실에서 가장 논쟁의 대상이 되고 있는 약제 중 하나가 되었다.

현재까지 제기된 출생 후 덱사메타손 투여의 장기적 중추신경계 부작용은 신경 발달 장애, 두위 성장 저해, 이상 뇌파의 증가, 뇌성 마비 및 발달 장애의 증가 등이며[8, 9, 14-16] 덱사메타손의 만성 폐질환 예방효과를 조사하기 위해 시행된 2001년 Vermont Oxford Network Corticosteroid Study Group의 조사[10]는 예방효과가 없는 반면 고혈당증, 위장관 출혈, 위장관 천공, 혈압 상승, 이상뇌파, 신경학적 이상 및 백질연화증의 빈도가 증가하고 체중 증가가 불량한 등 부작용으로 인하여 중단된 바 있다.

임상에서 산전 스테로이드 투여가 신경 발달에 악영향을 미치지 않으며 예후를 호전시키기까지 하는 것으로 알려져 있는데 반해 동물 실험에 있어서의 스테로이드의 효과는 그 결과가 일정하지 않다. 산전 스테로이드 투여는 신생쥐의 기억력 감퇴, 신경세포와 아교세포(glial cell) 요소의 증식 감소, 유수화(myelination) 지연 및 세포 사망 증가, 신생 원숭이의 해마(hippocampus)의 추체 신경세포 수상분지(pyramidal neuron arborization) 감소를 보인다[17-19]. 출생 후 투여는 쥐에서 과다 행동, 비정상적 행동[20], 전정과 소뇌기능 간섭[21]을 보인다. 이들 부작용 발현에 있어 성숙도 차이가 관찰되고 있는데 신생동물은 발달 지표의 촉진, 성숙동물은 운동조절 장애를 보였다[22].

사람에서 저산소증에서의 덱사메타손 투여 효과에 대한 조사는 없다. 생체외 및 생체내 실험은 시행된 바 있으나 그 결과가 다양하여 상반되기도 한다. 쥐 태아 해마세포의 배양에서 스테로이드는 저산소성 신경세포 및 별아교세포(astroglial cell) 손상을 조장하였고[23] 기저전뇌 세포(basal forebrain cell) 배양에서는 투여방법에 따라 효과가 달라 손상 전부터 지속적으로 투여한 경우 저산소 손상의 방어 효과를 보인 반면 사전 단일 투여는 투약량과 비례해 손상을 조장하였다[24]. 생체내 실험에서 덱사메타손의 저산소 허혈에 의한 뇌경색의 경감 효과는 투여시기, 일회 투여량 및 총 투여량에 따라 경색 면적을 감소시키거나 차이를 보이지 않았으며[25, 26] 경색의 악화를 관찰한 보고는 없다.

본 조사에서는 스테로이드 제제 중 미숙아에서의 사용이 빈번한 덱사메타손의 산후 투여 효과를 조사하였다. 신생쥐의 뇌는 생후 14일경에 만삭아에 해당되는 성숙된 양상이 이루어진다고 한다. 따라서 이 실험에 사용한 생후 7일된 신생쥐는 재태 연령 7-8개월[27] 정도의 미숙아에 해당되며 덱사메타손은 실지 임상에서 많이 사용되고 있는 체중 kg 당 0.5 mg를 1회 사용하였다. 그 결과 저산소 허혈 유도 및 투약 후 어미쥐와 함께 양육한 7일간 덱사메타손 투여군에서 사망례가 많았으며 체중 증가 역시

대조군에 비해 불량하였다. 7일된 쥐에게 덱사메타손 1회 투여 후의 성장 지연은 Gramsbergen과 Mulder[21]에 의해 보고된 바 있다. 투여와 관련된 사망률은 산전 투여 동물에서는 저산소 노출시 투여량에 비례해 생존율이 감소하나[28] 출생 후 저산소 노출 전 투여는 생존율에 영향을 미치지 않으며[25] 저산소 노출 후 투여시 생존율은 조사된 바 없다.

본 논문에서 뇌조직에 시행한 TUNEL 염색, Bax와 Bcl-2 형광염색, TUNEL 및 synaptophysin 이중 염색은 신생동물의 저산소 허혈성 뇌손상의 주된 기전인 세포 자멸사를 관찰하기 위한 것이다. TUNEL은 세포 자멸사의 지표로 사용되고 있는 검사법으로 전자 현미경적 관찰에 비해 광범위한 조직을 관찰할 수 있으며 TUNEL 양성 세포의 정량적 분석이 가능하므로 세포 자멸사의 범위를 판정하기에 적합하다. 세포 자멸사 세포와 괴사 세포의 감별력이 전자 현미경적 관찰보다 낮다는 견해가 있으나 전기영동, ethidium bromide 염색, [^{32}P]ATP 표지보다 더 민감하다[29]. Bcl-2와 Bax는 세포 자멸사 과정에 관여하는 Bcl-2 family protein으로 사망신호를 받은 세포로 하여금 이를 따를지 무시할지를 결정하게 하며 기능상 두 군으로 나눈다. Bax는 중요한 전세포 자멸사 단백(pro-apoptotic protein)으로서 미토콘드리아에서의 cytochrome C 방출 등 세포 자멸사를 일으키는 세포내 작용을 유발한다. 반면 Bcl-2는 미토콘드리아에서 cytochrome C의 방출을 완화하는 등 항세포 자멸사(antiapoptotic) 작용을 가진다[30]. Bcl-2와 Bax의 유전자 발현은 산혈증, 저산소증, 저혈당증 및 성장인자 이용도의 변화 등 세포내 및 외 환경의 구성요소에 반응하며 임상에서는 악성 종양, 중추신경계 외상 혹은 질환에서 증가가 보고되어 있으며 Bax 혹은 Bcl-2 증가시 예후가 좋다는 보고도 있다[31-33]. Bcl family protein들은 세포자멸사의 조기에 출현하므로 TUNEL 검사와 동시에 시행함으로써 세포 자멸사 진단을 더욱 정확하게 할 수 있다[30].

신생동물 뇌조직의 저산소증에서의 Bcl-2, Bax의 변화 양상에 대한 조사는 많지 않다. Lane 등[34]에 의하면 태반부전은 쥐 태아의 대뇌 Bax mRNA 변화 없이 Bcl-2 mRNA level을 감소시키나 저산소증으로 진행하면 Bcl-2 mRNA의 감소 외에 Bax mRNA level의 증가가 일어남을 관찰하고 태반부전은 중추신경계의 세포 자멸사 역치(apoptosis threshold)를 낮춤으로써 저산소증 등 이차적 스트레스시 일어나는 괴사(necrosis)를 최소화하는 중추신경계 보호 기전으로 추정하였다. Ravishankar 등[35]에 의하면 저산소시 Bcl-2는 크게 변화하지 않으나 Bax는 증가하여 Bax : Bcl-2 비가 증가하였고 Chen 등[36]은 신생쥐의 저산소-허혈에서 Bcl-2는 6시간 및 24시간에 증가한 후 5일에는 감소하여 대조군의 변화 양상과 차이를 보이지 않았으며 Bax는 의의있는 변화를 보이지 않았다고 한다. 또한 저산소증에 의한 뇌의 Bcl-2, Bax의 변화는 연령에 따라 차이를 보인다[37]. Bcl-2, Bax 및 apoptosis 세포수는 노령쥐(22-24개월)와 젊은 성숙쥐(6-8개월)에서 모두 아주 낮았으나 노령쥐의 Bax 및 세포 자멸사 세포수가 다소 많았다. 저산소 환경에서는 모두 Bcl-2는 증가하나 Bax는 노령 쥐는 감소, 젊은 성숙쥐는 증가하는 상반된 양상을 보였고 노령쥐가 저산소에 의한 손상에 취약하였다.

덱사메타손의 저산소-허혈 뇌손상에서의 효과는 Ekert 등[38]이 출생전 투여 효과를 보고한 바 있다. 덱사메타손은 Bcl-2 발현, 과산소기(superoxide radical) 및 지질과산화(lipid peroxidation) 생성에는 영향을 미치지 않으나 c-fos transcription과 세포 자멸사를 저지하여 투약에 의한 뇌손상 감소 가능성을 제시하였다.

미숙아들은 심혈관계 및 호흡기계의 미숙으로 만삭아보다 주산기 저산소증의 발생 가능성이 높으며 앞서 언급한대로 산후 스테로이드 투여 기회 또한 높다. 저산소-허혈 즉 주산기 가사가 일어나는 경우 비가역적 손상을 나타내는 기관은 뇌가 유일하므로 뇌손상 정도는 장기적 예후와 직결된다. 이에 저자들은 저산소-허혈의 유일한 비가역적 손상을 초래하는 뇌조직에서 스테로이드 투여가 신생아 뇌손상의 주된 기전인 세포 자멸사에 어떠한 영향을 미치는지를 조사함으로써 스테로이드 투여의 장기적 영향을 추정하고자 이 실험을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 신생쥐의 저산소-허혈로 인한 뇌손상 모델에서 저산소 혹은 허혈 단독은 뇌손상을 일으키지 않으므로 결찰 반대측 뇌는 육안적, 현미경적 이상 소견은 물론[39] c-fos 단백의 발현 증가, TUNEL 양성 세포의 증가도 일어나지 않는다[40, 41]. 본 조사에서 결찰 반대측 뇌반구에서는 Bax, Bcl 단백은 발현하지 않았다. 덱사메타손 투여군에서 결찰측 뇌반구의 Bax는 비투여군인 대조군에 비해 의의있게 증가하여 신생 동물에서의 저산소증에서 조사한 다른 보고들과 같은 소견을 보였다. 이는 덱사메타손 투여가 세포 자멸사를 조장할 가능성을 시사하며 세포 자멸사를 나타내는 TUNEL 양성세포 또한 덱사메타손 군에서 증가되어 있었으나 통계적 유의성은 없었다.

결론으로 저산소-허혈 유도 후 투여한 덱사메타손은 저산소 후의 사망률을 높이고 체중 증가를 감소시켰다. 생존 신생쥐의 뇌조직에서 덱사메타손 투약으로 인한 경색의 정도에는 차이를 보이지 않았으나 Bax의 의의있는 증가는 덱사메타손 투여가 세포 자멸사의 조장 가능성을 시사한다. 본 조사에서는 사망 신생쥐의 뇌 손상 양상과 저산소-허혈 후 장기간에 걸친 뇌손상 양상을 관찰하지 못한 한계가 있었으므로 앞으로 저산소-허혈 뇌손상 유도 후 보다 다양한 시간에 뇌손상과 세포 자멸사 양상의 관찰이 필요할 것으로 사료된다.

요 약

목 적 : 미숙아들은 심혈관계 및 호흡기계의 미숙으로 만삭아보다 주산기 저산소증의 발생 가능성이 높으며 만성 폐질환의 예방과 치료를 위한 출생 후 코르티코스테로이드 제제의 투여 기회 또한 높다. 저산소-허혈 즉 주산기 가사가 일어나는 경우 비가역적 손상을 나타내는 기관은 뇌가 유일하므로 뇌손상 정도는 장기적 예후와 직결된다. 이에 저자들은 저산소-허혈에 의한

뇌손상에서 코르티코스테로이드 제제 중 신생아에게 가장 빈번하게 쓰이고 있는 덱사메타손이 신생아 뇌손상에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하기 위해 이 연구를 시행하였다.

방 법 : 본 연구에는 10마리의 Sprague-Dawley rat 어미에서 태어난 103마리의 신생쥐를 총경동맥 절단과 산소 농도 8%에 노출시켜 저산소-허혈 모형을 만들고 덱사메타손체중 kg 당 0.5 mg을 투여하였다. 적출뇌는 terminal-deoxynucleotidyl-transferase-mediated deoxyuridine triphosphate nick end labelling(TUNEL) 염색, Bcl-2 및 Bax 형광염색, TUNEL 및 synaptophysin 이중 염색을 시행하여 세포 자멸사 양상을 관찰하고 경색부위 면적은 백분율로 구하여 대조군과 비교하였다.

결 과 : 허혈-저산소 환경 노출 후 생존한 95마리 중 덱사메타손 투여군은 54마리, 대조군은 41마리였다. 양육 중 덱사메타손 투여군 가운데 25마리가 사망하였고 대조군은 7마리가 사망하여 덱사메타손 투여군에서의 사망률이 의의 있게 높았다(46.3% vs. 17.1%, P=0.002). 생후 7일째 저산소-허혈 및 투약 전 체중은 두 군에서 차이를 보이지 않았으나 생후 14일째 측정한 체중은 덱사메타손 투여군의 체중 증가가 유의하게 적었다(P=0.001). Bax 및 Bcl-2, Bax/Bcl-2 및 TUNEL 염색 소견은 측정 단위당 Bax가 덱사메타손 투여시 유의하게 증가되었고 Bax/Bcl-2 및 TUNEL 양성세포 역시 덱사메타손군에서 다소 높은 것으로 나타났으나 통계적 유의성은 없었다. 덱사메타손군의 뇌손상 부위는 대조군과 의미 있는 차이를 보이지 않았다.

결 론 : 저산소-허혈 후 덱사메타손 투여는 체중 증가 방해, 사망률 증가 등 전신 상태의 악화를 초래하며 뇌세포 자멸사를 조장할 가능성이 있다.

참 고 문 헌

1) Vohr BR, Wright LL, Poole K. Effects of site differences at 12 participating NICHD centers on 18 month outcomes of extremely low birth weight infants-The NICHD Neonatal Research Outcome Study(abstract). Pediatr Res 1999;45:258A.
2) NIH Consensus Conference. Effect of corticosteroids for fetal maturation on perinatal outcomes. J Am Med Assoc 1995;273;413-8.
3) Baud O, M Foix-L'Helias L, Kaminski M, Audibert F, Jarreau PH, Papiernik E, et al. Antenatal glucocorticoid treatment and cystic periventricular leukomalacia in very premature infants. N Engl J Med 1999;341:1190-6.
4) Bull D, Wakeley A, Sola A. Current use of steroids in newborns with lung disease : results of a national survey (abstract). Clin Res 1993;41:89A.
5) Halliday HL. Clinical trials of postnatal corticosteroids : Inhaled and systemic. Biol Neonate 1999;76:29-40.
6) Yeh TF, Lin YJ, Huang CC, Chen YJ, Tsai WF, Lein YJ. Early dexamethasone therapy in preterm infants : a follow-up study. Pediatrics 1998;101:E71-8.
7) Baden M, Bauer CR, Colle E, Klein G, Taeusch HWW Jr, Stern L. A controlled trials of hydrocortisone therapy in infants with RDS. Pediatrics 1972;50:526-34.
8) O'Shea TM, Kothadia J, Klinepeter KL, Goldstein DJ, Jackson BG, Weaver RG 3rd, et al. Randomized placebo-controlled trial of a 42-day tapering course of dexamethasone to reduce the duration of ventilator dependency in very low birth weight infants : outcome of study participants at 1-year adjusted age. Pediatrics 1999;104:22-7.
9) Shinwell ES, Karplus M, Reich D, Weintraub Z, Blazer S, Bader D, et al. Early postnatal dexamethasone treatment and increased incidence of cerebral palsy. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2000;83:F177-81.
10) Vermont Oxford Network Steroid Study Group. Early postnatal dexamethasone therapy for the prevention of chronic lung disease. Pediatr 2001;108:741-8.
11) Halliday HL, Ehrenkranz RA. Early postnatal(<96 hours) corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. Cochrane Database Syst Rev 2001;(1):CD001146. Review.
12) Halliday HL, Ehrenkranz RA. Moderately early(7-14 days) postnatal corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. Cochrane Database Syst Rev 2001;(1):CD001144. Review.
13) Halliday HL, Ehrenkranz RA. Delayed(>3 weeks) postnatal corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. Cochrane Database Syst Rev 2001;(2):CD001145. Review.
14) Vohr BR, Wright LL, Dusick AM, Mele L, Verter J, Steichen JJ, et al. Neurodevelopmental and functional outcomes of extremely low birth weight infants in the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, 1993-1994. Pediatrics 2000;105:1216-26.
15) Romagnoli C, Zecca E, Luciano R, Torrioli G, Tortorolo G. Controlled trial of early dexamethasone treatment for the prevention of chronic lung disease in preterm infants : a 3-year follow-up. Pediatrics 2002;109:e85.
16) Papile LA, Tyson JE, Stoll BJ, Wright LL, Donovan EF, Bauer CR, et al. A multicenter trial of two dexamethasone regimens in ventilator-dependent premature infants. N Engl J Med 1998;338:1112-8.
17) Whitelaw A, Thoresen M, Antenatal steroids and the developing brain. Arch Dis Child Neonatal Ed 2000;83:154-7.
18) Uno H, Lohmiller L, Thieme C, Kemnitz JW, Engle MJ, Roecker EB, et al. Brain damage induced by prenatal exposure to dexamethasone in fetal rhesus macaques. I. Hippocampus. Brain Res Dev Brain Res 1990;53:157-67.
19) Gumbinas M, Odd M, Huttenlocher P. The effects of corticosteroids on myelination of the developing rat brain. Biol Neonate 1973;22:355-66.
20) Howard E, Granoff DM. Increased voluntary running and decreased motor coordination in mice after neonatal corticosterone implantation. Exp Neurol 1968;22:661-73.
21) Gramsbergen A, Mulder EJH. The influence of betamethasone and dexamethasone on motor development in young rats. Pediatr Res 1998;44:105-10.
22) Benesova O, Pavlik A. Perinatal treatment with glucocorticoids and the risk of maldevelopment of the brain. Neuropharmacol 1989;28:89-97.

23) Rayburn WF, Christensen HD, Gonzalez CL. A placebo controlled comparison between betamethasone and dexamethasone for fetal maturation : differences in neurobehavioral development of mice offspring. Am J Obstet Gynecol 1997;176:850-1.
24) Flavin MP. Influence of dexamethasone on neurotoxicity caused by oxygen and glucose deprivation in vitro. Exp Neurol 1996;139:34-8.
25) Bark JD, Post M, Tuor U. Dexamethasone prevents hypoxic-ischemic brain damage in the neonatal rat. Pediatr Res 1991;29:558-63.
26) Tuor UI, Chumas PD, Del Bigio MR. Prevention of hypoxic-ischemic damage with dexamethasone is dependent on age and not influenced by fasting. Exp Neurol 1995;132:116-22.
27) Romjin HJ, Hofman MA, Gramsbergen A. At what age is the developing cerebral cortex of the rat comparable to that of the full-term newborn human baby. Early Hum Dev 1991;26:61-7.
28) Kauffman KS, Seidler FJ, Slotkin TA. Prenatal dexamethasone exposure causes loss of neonatal hypoxia tolerance : cellular mechanism. Pediatr Res 1994;35:515-22.
29) Pulera MR, Adams LM, Liw H, Santos DG, Nishimura RN, Yang F, et al. Apoptosis in a neonatal rat model of cerebral hypoxia-ischemia. Stroke 1998;29:2622-30.
30) Deveraux QL, Schendel SL, Reed JC. Antiapoptotic proteins. The Bcl-2 and inhibitor of apoptosis protein families. Cardiol Clin 2001;19::57-74.
31) Le MG, Mathieu MC, Douc-Rasy S, Le Bihan ML, Adb EI All H, Spielmann M, et al. C-myc, p53 and bcl-2, apoptosis-related genes in infiltrating breast carcinomas : evidence of link between bcl-2 protein over-expression and a lower risk of metastasis and death in operable patients. Int J Cancer 1999;84:562-7.
32) Clark RSB, Kochanek PM, Adelson PD, Bell MJ, Carcillo JA, Chen M, et al. Increases in Bcl-2 protein in cerebrospinal fluid and evidence for programmed cell death in infants and children after severe traumatic brain injury. J Pediatr 2000;137:197-204.
33) ONG YL, McMullin MF, Bailie KEM, Lappin TRJ, Jones FG, Irvine AE. Hing bax expression is a good prognostic indicator in acute myeloid leukemia. Br J Haematol 2000;111:182-9.
34) Lane RH, Ramirez RJ, Tsirka AE, Kloesz JL, McLaughlin MK, Gruetzmacher EM, et al. Uteroplacental insufficiency lowers the threshold towards hypoxia-induced cerebral apoptosis in growth-retarded fetal rats. Brain Res 2001;895:186-93.
35) Ravishankar S, Ashraf QM, Fritz K, Mishra OP, Delivoria-Papadopoulos M. Expression of Bas and Bcl-2 proteins during hypoxia in cerebral cortical neuronal nuclei of newborn piglets; effect of administration of magnesium sulfate. Brain Res 2001;901:23-9.
36) Chen Y, Ginis I, Hallenbeck JM. The prospective effect of ceramide in immature rat brain hypoxia-ischemia involves up-regulation of Bcl-2 and reduction of TUNEL-positive cells. J Cereb Blood Flow Metab 2001;21:34-40.
37) Azhar G, Liu L, Zhang X, Wei JY. Influence of age on hypoxia/reoxygenation-induced DNA fragmentation and Bcl-2, Bcl-x, and Bax in the rat heart and brain. Mech Ageing Dev 1999;112:5-25.
38) Ekert P, MacLusky N, Luo XP, Lehotay DC, Smith B, Post M, et al. Dexamethasone prevents apoptosis a neonatal rat model of hypoxic-ischemic encephalopathy by a reactive oxygen species-independent mechanism. Brain Res 1997;747:9-17.
39) Towfighi J, Yager JY, Housman C, Vannucci RC. Neuropathology of remote hypoxic-ischemic damage in the immature rat. Acta Neuropathol. 1991;81:578-87.
40) 이왕복, 권순학, 김행미. 저산소성 허혈이 신생쥐 c-fos의 발현에 미치는 영향. 소아과 2000;43:389-95.
41) 이동석, 곽수희, 김행미, 손윤경. 신생쥐 저산소성 허혈성 뇌손상에 고농도 산소 소생술이 미치는 영향. 소아과 2001;44:1278-88.