

## 패혈성 폐가 유도된 신생아돈에서 외인성 Nitric Oxide 흡입의 혈역학, 가스교환 및 폐 염증에 대한 효과

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원, 삼성제일병원 소아과\*

장윤실 · 고선영\* · 박원순

### Effect of Inhaled Nitric Oxide on Hemodynamics, Gas Exchange and Pulmonary Inflammation in Newborn Piglets with *Escherichia coli* Induced Septic Lungs

Yun Sil Chang, M.D., Sun Young Ko, M.D.\* and Won Soon Park, M.D.

Department of Pediatrics, Samsung Medical Center, Samsung Jeil Hospital\*,  
Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

**Purpose :** The aim of this study was to evaluate the effect of inhaled nitric oxide(iNO) on gas exchange, hemodynamics and pulmonary inflammation in newborn piglets with *E. coli* induced septic lung.

**Methods :** Twenty three instrumented and ventilated piglets were randomized into three groups : CON(n=6), PCON(n=9), and PNO(n=8). In the piglets of the PCON and PNO groups, *E. coli* septic lung was induced by endotracheal instillation of *E. coli*. Ten ppm iNO was given continuously in the PNO group after endotracheal instillation of *E. coli*. All animals were mechanically ventilated for six hour with a peak inspiratory pressure of 30 cmH<sub>2</sub>O, frequency of 25 breaths/min, FiO<sub>2</sub> 1.0 and a positive end-expiratory pressure of 4 cmH<sub>2</sub>O. All measurements were made at one hour intervals during the experiment. At the end of the experiment, lung tissue was harvested for the analysis of myeloperoxidase activity, indicative of lung inflammation.

**Results :** All piglets with pulmonary instillation of *E. coli* developed *E. coli* sepsis. Piglets in the PCON group developed progressive pulmonary hypertension, hypoxemia and hypercarbia compared to the CON group due to increased pulmonary vascular resistance, intrapulmonary shunt fraction and physiologic dead space fraction. iNO did not reverse pulmonary hypertension in the PNO group. However iNO significantly improved oxygenation, which was attributed to marked improvement of venous admixture and partial attenuation of increase in dead space fraction. Increased myeloperoxidase activity in PCON compared to CON was significantly attenuated in PNO.

**Conclusion :** iNO improves oxygenation and lung inflammation in newborn piglets with *E. coli* induced septic lung. (*J Korean Pediatr Soc* 2003;46:777-783)

**Key Words :** Nitric oxide inhalation, Septic lung, Gas exchange, Hemodynamics, Piglet

### 서 론

최근 nitric oxide(NO로 약함)를 가스의 형태로 폐에 투여하는 NO 가스 흡입요법은 심한 호흡부전질환의 치료법으로서 보

조적 치료만으로는 70%에 달하는 신생아 지속성 폐동맥 고혈압의 사망률을 낮추는 획기적인 치료법으로 각광 받고 있으며<sup>1-3)</sup> 60-70%가 사망하는 소아와 성인의 ARDS 환자들에게 시도되어 산소화를 향상시키는 것으로 알려지고 있다<sup>4)</sup>. 또한 NO는 체내에서 폐혈관 확장<sup>2)</sup>, 기도 확장<sup>5)</sup>, 그리고 폐 염증 및 손상기전<sup>6)</sup>에 중요한 역할을 함이 알려지고 있어 외부에서 NO의 투여가 이러한 내인성 NO의 기능에 어떠한 영향을 주는지에 대한 관심이 높아지고 있다. 이에 본 연구자들은 내인성 NO와 외인성 NO의 상호작용을 알아볼 수 있는 실험동물 모델로서 패혈증 유발 염증성 폐 질환을 신생아돈에서 확립하고 내인성 NO에 대한

본 논문은 2000년도 한국학술진흥재단의 지원에 의해 연구되었음(KRF-2000-041-F00195).

접수 : 2003년 2월 26일, 승인 : 2003년 6월 5일

책임저자 : 장윤실, 성균관의대 삼성서울병원 소아과

Tel : 02)3410-3528 Fax : 02)3410-0043

E-mail : yschang@smc.samsung.co.kr

아무런 저해 없는 상황에서 외부의 NO 가스 투여가 본 실험 동물 모델의 혈역학, 가스교환, 및 폐 염증 조건에 어떠한 영향을 주는지를 알아보려고 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 실험 동물 및 외과적 처치

약 1주일된 신생자돈들을 대상으로 각각을 에테르(ether)로 흡입 마취 후 pentobarbital sodium 40 mg/kg로 귀에 있는 정맥을 통하여 정주 하여 마취 유도를 하고 양와 자세로 눕힌 후 기관절개를 실시하고 기도 삽관을 하였다. 이후 흡입산소 농도 (fraction of inspiratory oxygen tension,  $FiO_2$ ) 0.3, 최대 흡입기 압력(peak inspiratory pressure, PIP)은 16  $cmH_2O$ , 호기말 양압(positive end expiratory pressure, PEEP)은 4  $cmH_2O$ , 호흡수는 15-20회/분, 흡입기 0.6초의 설정에서 동맥혈 가스분석상 동맥혈 산소분압 80-100 mmHg, 동맥혈 이산화탄소 분압 35-45 mmHg, pH 7.35-7.45에서 유지되도록 time-cycled pressure-limited neonatal ventilator(Sechrist Infant Ventilator, Model IV-100V, Sechrist Industries, Anaheim, CA, USA)로 기계적 인공환기를 시작하였다. 마취는 pentobarbital 3.0 mg/kg/hr, pancuronium bromide 0.1 mg/kg/hr를 지속 주입하여 유지시켰으며 가온이 되는 수술대와 servo-controlled over head heater(Airshields, Neonatal intensive care unit, Hatboro, PA, USA)로 38-39°C 내외로 체온유지를 하였다. 외경 3.5 mm argyl 카테터를 이용 대퇴 동정맥을 절개하여 하행 대동맥과 하행대정맥에 도관을 삽입한 후, 체동맥 카테터를 압력 변환기(pressure transducer)와 연결, 심전도와 경피적 산소포화도와 함께 환자 감시 모니터(Hewlett-Packard Model M1276A, MA, USA)상에 나타나도록 하여 체동맥압을 지속적으로 측정하였다. 또한 우측 외경정맥을 절개, 5-Fr. balloon-tipped flow-directed thermodilution 카테터인 Swan-Ganz 카테터(Baxter Health-care Corp. Irvine, CA, USA)를 모니터상의 압력 과형을 보면서 폐동맥에 위치시켜 폐동맥압을 지속 측정하였다. 체동맥, 폐동맥 카테터를 통하여 헤파린이 mL당 1 unit가 든 0.9% 생리 식염수를 지속주입 하여 1 mL/hr의 속도로 관류시키고 정맥 카테터를 통하여 10% 포도당을 10 -15 mL/hr의 속도로 주입하였다.

### 2. 실험 과정

마취 및 외과적 처치가 모두 끝나고 약 30분의 안정화 시기를 둔 후 인공환기기 설정을 PIP 30  $cmH_2O$ , PEEP 4  $cmH_2O$ , 호흡수 25회/분, 흡입기 0.7초  $FiO_2$ 는 1.0으로 올려 기계적 가스 인공환기를 시키면서 약 10분간 안정시킨 후 기저치(0시간)로 잡고 채혈을 통한 혈액 가스분석과 심박출량 검사, 폐기능 검사를 시행하였다. 이후 동물을 무작위로 세 군으로 나누었는데 대조군(CON) 6마리는 생리 식염수를, 패혈성 폐 유발 동물은

*Escherichia coli* strain  $69 \times 10^9$  cfu(10 mL)를 위관을 통해 기도내관에 5 mL씩 좌, 우 측외위로 놓혀 폐내 주입하고 Ambubagging 하였다. 패혈성 폐 신생자돈 중 무작위로 10마리는 패혈성 폐 대조군(PCON), 9마리는 패혈성 폐에 NO 투여군(PNO)으로 나누었다. CON과 PCON군은 6시간 동안 동 조건의 실험 설정에서 별다른 처치 없이 유지하였으며 PNO군은 *E. coli* 투여 후 10분부터 NO 10 ppm을 기도 내로 지속 주입하였다 투여 방식은 이전 연구에서 기술한 것과 동일한 방법<sup>6)</sup>을 사용하였다. 이들 모두 같은 인공환기 조건에서 6시간 동안 유지하였으며 기저 시점으로부터 1시간 간격으로 채혈을 통한 혈액 가스분석과 심 박출량 검사, 폐기능 검사를 실시하였고 마지막 6시간째 채혈을 통한 혈액배양 검사를 실시하였다. 실험 종료시 고용량의 KCl을 정주하여 치사시키고 흉골 절개를 시행하여 흉곽을 절개하고 주기관지를 묶어 폐를 박리 해낸 뒤 myeloperoxidase를 측정하기 위하여 우측 폐를 절제하여 액체 질소에 급속 냉동시켰다.

### 3. 폐 세척(bronchoalveolar lavage, BAL)

주 기관지를 묶어 박리 해낸 좌측 폐에 10 F. 비위관 카테터를 위치시키고 차가운 무균 생리 식염수를 주입하여 기관지 폐포 세척(bronchoalveolar lavage, BAL)을 시행하였다. 세척액을 거즈 2겹으로 거른 뒤 4°C에서 1,500 rpm으로 10분간 원심 분리하여 세포를 침전시키고 상층액의 일부는 나중의 검사를 위해 저장하고, 침전된 세포를 phenol red가 없는 Hanks' balanced salt solution(HBSS, GIBCO Co., Carlsbat, CA, USA)으로 두 번 원심세척(4°C, 1,200 rpm, 10분)한 후 hemocytometer로 총 세포 수를 측정하고, trypan blue로 활성도를 검사하였으며 일부 세포는 Diff Quik 염색을 하여 총 300개의 세포를 세어서 백분율을 계산하였다. BAL 단백질 농도는 비세포 부분에서 bicinchoninic acid 방법으로 측정하였다.

### 4. Nitric oxide 투여 시스템

이전 연구에서 기술된 방법<sup>6)</sup>에 따라 NO 가스를 투여하였다.

### 5. 일회환기 말 이산화탄소 분압(end tidal $CO_2$ )의 측정 및 Vd/Vt 비의 측정

적절한 가스교환이 일어나기 위해서는 폐포 내 환기와 폐 모세혈관 내의 관류가 적절한 비를 이루어 환기-관류 비의 적정성을 유지하여야 하는데 사강(dead space)은 환기는 되나 적절한 가스교환이 이루어지지 않는 영역으로 전체 또는 생리적 사강이란 기도와 환기되지 않는 폐포 내 사강을 합한 것이다. 따라서 사강은 비효율적 환기의 지표가 되며 절대치보다는 그 값에서 유출된 폐포 환기와 Vd/Vt(dead space to tidal volume ratio) 같은 지수가 더욱 중요하게 된다. 환기의 주요 기능은 이산화탄소의 제거이므로 환기 기능의 직접적인 측정은 호기에서 이산화탄소를 지속적으로 측정하면 이의 변화를 통해 폐 환기의 변화 및 환기-관류 적합성에서 환기 적합의 변화정도가 측정 가능해

진다<sup>7)</sup>. 즉 호기 혼합 이산화탄소 분압(mixed expired CO<sub>2</sub>)을 구하여 Bohr 공식[VD=FACO<sub>2</sub>(alveolar fraction of CO<sub>2</sub>)-FECO<sub>2</sub>(CO<sub>2</sub> concentration of mixed expired gas)/FACO<sub>2</sub>]의 적용으로 Vd/Vt 비를 구할 수 있다<sup>8)</sup>. 이에 따라 본 실험에서는 CO<sub>2</sub>SMO(Novamatrix Medical Systems Inc, Wallingford, CT, USA)를 사용하여 호기말 혼합 이산화탄소 분압을 측정하였다. Flow transducer와 함께 조합된 이산화탄소 감지기를 O cell과 reference cell에서 check하여 초기화를 시행하고 초기화가 이루어진 이산화탄소 감지기를 adaptor에 놓고, adaptor를 영점화한 후 기도내 삽관 튜브의 끝과 연결하였다. 안정화시기에 맞추어 최소한 20분간의 데이터 측정이 이루어진 후 초기 수치들의 평균을 얻었으며 동맥혈 이산화탄소 분압과 함께 측정된 호기말 혼합 이산화탄소 분압의 값에서 Vd/Vt 값의 변화를 계산하였다.

**6. 혈액학적 지수 측정**

Calibrated pressure transducer(Datex-Ohmeda Inc. Miami, FL, USA)를 이용 중앙 흉부 부위(midchest level)에서 영점 조정후 신생아 모니터(Hewlett-Packard Model M1276A, MA, USA)를 통해 폐동맥압(pulmonary artery pressure, PAP), 체동맥압(systemic artery pressure, SAP)을 지속적으로 측정하였다. 심박출량(cardiac output, CO)은 Thermodilution computation constants(CO-set, Edwards Lifesciences, Irvine, CA, USA)를 이용하여 2회 이상 측정하여 평균을 내고 심박출지수(cardiac index, CI)는 이를 신생아체의 체중으로 나누어 계산하였다.

폐혈관 및 체혈관 저항(pulmonary and systemic vascular resistance)은 다음과 같은 공식으로 계산하였다.

$$\text{Pulmonary vascular resistance(PVR)} = \text{mean PAP} / \text{cardiac index}$$

$$\text{Systemic vascular resistance(SVR)} = \text{mean SAP} / \text{cardiac index}$$

**7. 혈액 가스 분석 및 단락의 계산**

동맥 및 정맥의 혈액가스 검사, 산소포화도(oxygen saturation, %Sat), 혈색소(hemoglobin, Hb) 등은 대퇴 동맥과 폐동맥에서 채취한 혈액을 사용하여 288 Blood Gas Analyzer(CIBA-Corning, USA)를 사용하여 측정하였으며, 혈액 내 산소량(oxygen content, C<sub>x</sub>O<sub>2</sub>)과 폐내 단락인 venous admixture는 다음의 공식을 통하여 구하였다.

$$C_xO_2 = 1.35 \times \%Sat \times Hb + PaO_2 \times 0.03$$

$$\text{Venous admixture(Shunt, \%)} = (CcO_2 - CaO_2) / (CcO_2 - CvO_2)$$

CaO<sub>2</sub>: 동맥혈내 산소량  
 CvO<sub>2</sub>: 혼합정맥혈내 산소량  
 CcO<sub>2</sub>: 이상적인 폐모세혈관내 산소량이다.  
 폐모세혈관내의 산소분압은 다음과 같이 계산하였다.

$$PaO_2 = [(기압 - 47) \times (FiO_2)] - PaCO_2$$

**8. Myeloperoxidase activity(MPO) 측정**

Krawisz 등<sup>9)</sup>의 방법에 따라 폐조직을 20 mmol/L potassium phosphate buffer 4 mL에서 30초간 homogenize하여 4°C에서 40,000×g에서 30분간 원심 분리하고 pellet을 0.5% cerium bromide가 함유된 50 mM potassium phosphate buffer 20 mmol/L 4 mL에 다시 부유시켜 -70°C에 보관하였다. 냉동된 샘플은 녹여 90초간 sonication하여 60°C water bath에서 2시간 incubation하고 최대 속도로 10분간 원심 분리하였다. 상층액 50 μL를 hexadecyltrimethyl ammonium bromide가 함유된 50 mM potassium phosphate buffer base의 0.025% dimethoxybenzidine 50 μL에 첨가하였다. 반응은 50 μL의 0.01% hydrogen peroxide를 첨가함으로써 시작되고 0, 1, 2, 3분에 460 nm에서 optical density를 측정하였다. 결과는 unites of equivalent myeloperoxidase activity/g of lung tissue로 표시하였다.

**9. 자료 분석과 통계적 방법**

모든 결과 수치는 평균±표준편차의 형태로 기술하였다. 각 시점에서의 세 군간 비교는 ANOVA로 비교하였고, Bonferroni 방법으로 post hoc 보정하였다. 이러한 통계적 처리는 SAS software(ver. 6.12)를 사용하였고 유의 수준은 P값 0.05 미만으로 하였다.

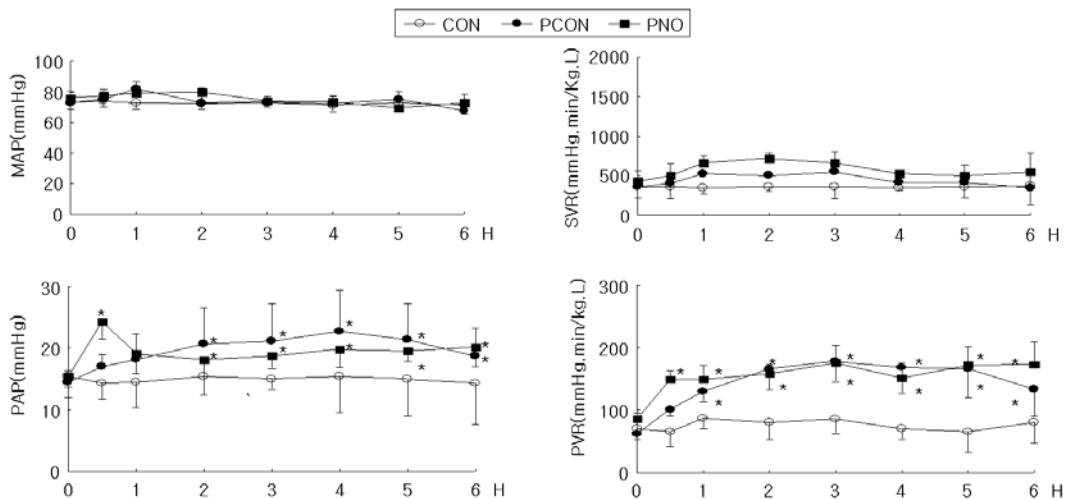
**결 과**

**1. 생존율과 패혈증 발생률**

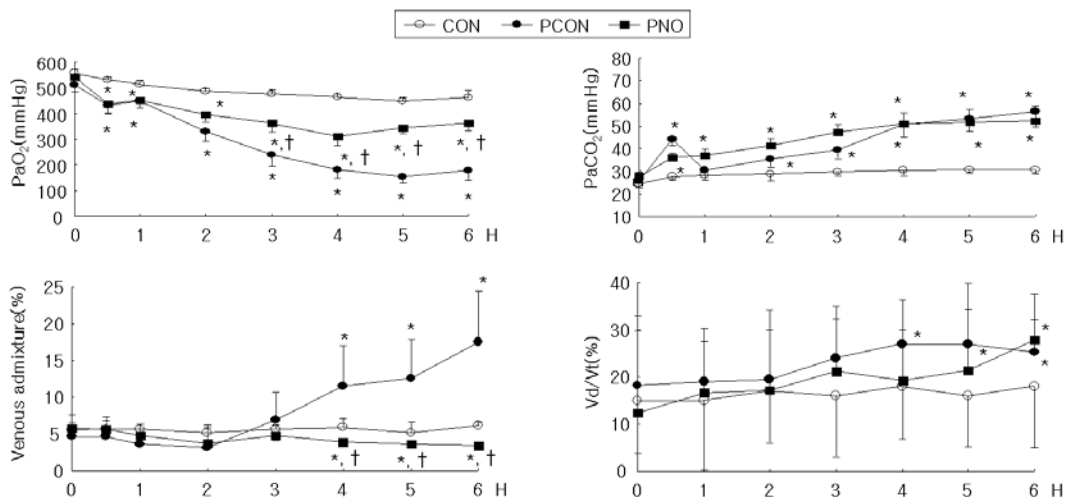
CON군의 신생아체 평균 체중은 3.3±0.3 kg이었으며 PCON 및 PNO군 각각 3.4±0.7 kg, 3.2±0.5 kg으로 각 군간의 유의한 차이가 없었다. 실험기간 중 사망한 신생아체는 PCON 및 PNO군 각각 1마리씩이었으며, 6시간째 실시한 혈액 배양 검사에서 PCON 및 PNO군 모두 E. coli 양성으로 100% 패혈증이 발생하였다. CON군 6마리, PCON군 9마리, PNO군 8마리를 분석에 포함하였다.

**2. 혈액학적 변화(Fig. 1)**

세 군 모두에서 기저치에 비해 평균 체동맥 혈압의 큰 변화는 없었으나, 심박출지수가 PCON, PNO군에서 CON군에 비해 3시간째부터 의미 있게 감소하였고(P<0.05), 체혈관 저항은 3시간째에서만 PCON 및 PNO군에서 CON군에 비해 의미있게 증가하였다(P<0.05). 평균 폐동맥압 및 폐혈관 저항은 PCON 및 PNO군 모두 1시간 이후부터 CON군에 비해 각 시점에서 의미 있게 상승하였고(P<0.05) 두 군 사이에 의미 있는 차이를 보이지 않았다.



**Fig. 1.** Mean systemic arterial pressure(MAP), mean pulmonary arterial pressure(PAP), mean systemic vascular resistance(SVR) and mean pulmonary vascular resistance(PVR) in the newborn piglets of 3 groups according to time. CON: control group, PCON: *E. coli* induced septic lung control group, PNO: *E. coli* septic lung+10 ppm nitric oxide inhalation. Data represent mean±standard deviation. \* $P<0.05$  compared to CON, † $P<0.05$  compared to PCON.



**Fig. 2.** Arterial oxygen tension, carbon dioxide tension, pulmonary shunt fraction(venous admixture) and Vd/Vt(dead space to tidal volume ratio) in the newborn piglets of 3 groups according to time. CON: control group, PCON: *E. coli* induced septic lung control group, PNO: *E. coli* septic lung+10 ppm nitric oxide inhalation. Data represent mean±standard deviation. \* $P<0.05$  compared to CON, † $P<0.05$  compared to PCON.

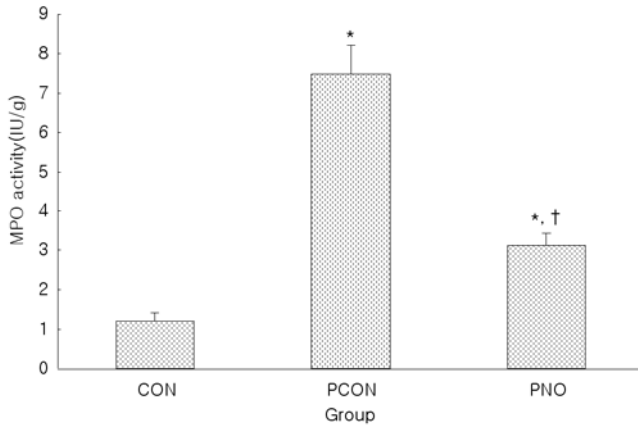
### 3. 가스 교환(Fig. 2)

CON군에 비해 PCON군은 *E. coli* 투여 후부터 각 시점 별로 시간에 따라 진행되는 동맥혈 산소분압의 감소조건을 보였으며 이러한 감소 조건은 PNO군에서 3시간째부터 의미 있게 완화되었다( $P<0.05$ ). 이산화탄소 분압 또한 *E. coli* 투여 후부터 CON군에 비해 증가되기 시작하였고 두 군간의 의미 있는 차이는 보이지 않았다. 또한 폐내의 우 좌 단락을 나타내는 venous admixture의 정도도 대조군인 CON군에서는 시간에 따라 변화가 없었으나 PCON군에서는 4시간째부터 CON군에 비해 급격히 상승

하기 시작하였다( $P<0.05$ ). NO 가스가 지속 투여된 PNO군에서는 이러한 상승이 전혀 관찰되지 않았다. 한편, 일회 환기량에 대한 생리적 사강의 비(Vd/Vt 비)는 PCON군에서 CON군에 비해 4시간째부터 의미 있게 증가하였고( $P<0.05$ ) PNO군에서는 CON군에 비해 의미있는 상승이 6시간째에 관찰되었다( $P<0.05$ ).

### 5. 기관지 폐 세척액 검사 및 폐 조직의 myeloperoxidase 활성도

실험 종료 후 기관지 폐 세척액의 단백질 농도는 PCON군  $1.3\pm 0.6$  g 및 PNO군  $1.6\pm 1.0$  g으로 CON군의  $0.32\pm 0.4$  g에



**Fig. 3.** Myeloperoxidase activity of lung tissue in newborn piglets of 3 groups. CON: control group, PCON: *E. coli* induced septic lung control group, PNO: *E. coli* septic lung + 10 ppm nitric oxide inhalation. Data represent mean  $\pm$  standard deviation. \* $P < 0.05$  compared to CON, † $P < 0.05$  compared to PCON.

비해 의미있게 높았고( $P < 0.05$ ) 두 군간 의미 있는 차이는 없었다. 기관지 세척액 내의 백혈구 수는 CON, PCON, PNO군 각각  $350 \pm 210/\mu\text{L}$ ,  $12,351 \pm 6,880/\mu\text{L}$ ,  $12,357 \pm 9,433/\mu\text{L}$ 로 PCON, PNO군에서 동일하게 CON군에 비해 상승되어 있었다( $P < 0.05$ ).

폐 조직의 백혈구 응집을 시사하는 myeloperoxidase의 활성도는 CON군에 비해 PCON군에서 의미 있게 상승되었으며( $P < 0.05$ ) 이러한 상승소견은 PNO군에서 의미 있게 완화된 소견을 보였다( $P < 0.05$ )(Fig. 3).

### 고 찰

신생아 병원 감염 패혈증 중에서 그람 음성균에 의한 패혈증은 전체의 25%를 차지하여 그람 양성균에 의한 패혈증에 이어 두 번째의 발병빈도를 보이나<sup>10)</sup> 그람 양성균에 의한 패혈증보다 더욱 치명적이고 중한 경과를 보여 주요한 사망률과 유병률의 원인이 되고 있다. 또한 신생아뿐만 아니라 소아, 성인에 있어서도 패혈증에 의한 다기관 부전 및 패혈성 폐 손상 나아가 성인형 호흡부전 증후군(adult respiratory distress syndrome, ARDS로 약함)은 매우 치명적이며, 회복 후 많은 후유증을 남긴다. 패혈성 폐 손상에 의한 ARDS의 발병기전을 생화학적 병태생리로 살펴보면 여러 다양한 자극에 의해 단핵구, 폐포대식세포가 활성화되면 종양괴사인자, 인터루킨-1(interleukin-1, IL-1), 인터루킨-8(interleukin-8, IL-8)과 같은 proinflammatory cytokine이나 다른 염증성 매개체가 분비된다. 이런 물질들은 혈관내피세포에서 selectin과 같은 adhesion molecule을 발현시키고, 직접적으로 혹은 혈관내피세포의 활성화를 통해 간접적으로 중성구를 활성화시키며 활성화된 중성구는 폐내로 유입이 일어나게 된다. 이 과정에서 활성화된 혈관내피세포와 중성구에서 발현되는 adhesion molecule의 역할이 중요하며 이렇게 유입된 활성화된 중

성구는 폐포-모세혈관 장벽을 손상시켜 투과성을 증가시킴으로써 급성 폐손상을 일으키게 된다<sup>11)</sup>. 한편 심한 패혈증은 ARDS와 같은 특징적인 폐 질환군으로까지 발전되지 않더라도 전반적으로 폐 유순도를 감소시키고, 가스교환의 장애를 일으키며 저산소증을 유발한다. 패혈증에 있어서 저산소증을 유발하는 기전에 관하여 많은 연구들이 있어왔고 심한 폐내 수분 축적, 혈관투과성에 의한 단백질량의 증가, 미만성인 기관지 수축과, 폐표면 계면활성제의 불활성화 등에 의한 폐포 허탈이 그 원인으로 제기되었다<sup>12-17)</sup>.

본 연구에서 확립한 호흡부전의 실험 동물 모델은 초기에는 폐에 국한된 염증반응을 보이며 후반에는 패혈증을 동반하는 패혈성 폐렴의 모델로서 위에서 언급한 폐내의 염증, 전신적 패혈증, ARDS 등에 의한 심한 저산소증 및 폐내 단락증가를 보이는 중증 호흡부전 모델로서 초반에 전신적인 혈액학적 불안정을 주지 않는다는 장점을 가지고 있는 것을 볼 수 있었으며 점차로 진행되는 저산소증, 고탄산혈증, 폐내 단락 및 폐내 생리적 사강의 증가, 폐내 심한 백혈구 응집이 일어나는 것을 확인할 수 있었다. 또한 심한 염증 반응이 유발되므로 내인성 NO 체계에 있어서 혈관내피세포성 NO 생성제(endothelial NO synthase, eNOS) 뿐만 아니라 유발성 NO 생성제(inducible NOS, iNOS) 체계가 활성화되므로 외부 NO 투여에 의한 내인성 NO system의 상호작용을 평가하는 데 있어서 eNOS, iNOS 체계를 함께 평가할 수 있는 이상적인 모델이 될 수 있으리라 생각된다.

NO는 여러 연구들에서 알려진 바와 같이 선택적 폐혈관 확장제이며<sup>18-21)</sup> 폐에서는 또한 기관지확장의 역할도 알려져 있다<sup>22, 23)</sup>. 이러한 NO를 ARDS에서 흡입 투여시키면 폐동맥 고혈압이 완화되고 산소화가 향상됨이 여러 실험동물 모델에서 입증되었다<sup>24, 25)</sup>.

이 중 폐동맥 고혈압의 완화는 패혈증에 의한 ARDS 및 신생아 지속성 폐동맥 고혈압증에서와 같이 폐외 우좌 단락이 저산소증의 주요 원인이 되는 경우에는 산소화 향상에 있어서 매우 중요한 역할을 한다. 그러나 소아와 성인의 ARDS에서는 폐동맥 고혈압이 폐질환으로 야기된 저산소증에 대한 반사적 기전으로 환기가 안 되는 폐포 주위의 폐혈관이 수축하는데(hypoxic pulmonary vasoconstriction, HPV) 이러한 HPV로 인해 폐동맥 고혈압이 야기되고 이는 환기-관류 부적합을 줄여주어 산소화를 유지시키는 보상적 기전이므로<sup>26)</sup> 폐동맥 고혈압을 완화시킨다고 하여 즉각적인 산소화의 향상을 가져오리라 기대하는 어렵다. 본 연구의 패혈성 폐 모델에서는 이러한 폐동맥 고혈압 및 폐혈관 저항의 증가가 외부 NO 투여에 의해 효과적으로 완화되지 않음을 보여주고 있다. 그럼에도 불구하고 NO가 산소화를 향상시키는 이유는 다른 연구<sup>27)</sup>에서 밝혀진 바와 같이 환기-관류 부적합의 감소에서 기인하는 것으로 이는 본 연구에서 패혈성 폐의 venous admixture의 증가가 NO 투여에 의해 완전히 정상화됨으로서 알 수 있었으며 이것이 곧 산소화 감소의 완화로 나타났다. 이는 NO가 가스의 형태로 투여되므로 주로 환기가 잘

되는 영역의 폐혈관을 확장시킴으로써 환기-관류 적합이 향상될 수 있으며 이는 정맥주입 혈관확장제의 효과를 증가하는 이유가 된다. NO의 기관지 확장효과에 의한 폐포 허탈 감소 가능성이 ARDS에서 NO 투여에 따른 산소화 향상의 가능한 기전으로 제시되었는데 이는 생리적인 사강(dead space)의 감소가 NO 투여로 실제적으로 일어날 수 있으나에 대한 문제로서 multiple inert-gas-elimination technique에 의해 측정된 한 보고에 따르면 이의 효과가 발견되지는 않았다<sup>28)</sup>. 그러나 본 실험에서는 비관혈적인 end-tidal CO<sub>2</sub> monitoring을 통해 호기 시 혼합 이산화탄소의 분압을 측정하고 이를 통하여 일회 환기량에 대한 생리적 사강의 비(Vd/Vt 비)를 계산하여 실험 후 패혈성 폐 대조군에 비해 NO 투여군에서 생리적 사강 비 증가의 진행이 일부 완화됨을 알 수 있었다. 과연 이러한 소견의 이론적 배경에 대하여서는 향후 폐 기능 검사를 통한 보완이 필요할 것으로 사료된다.

패혈성 폐에서 백혈구는 급성 폐손상의 일차 세포 매개체로서 매우 중요한 역할을 한다. ARDS의 환자에서 얻은 폐 세척액내와 사망 후 부검 시 폐 미세혈관에서 백혈구 수가 상당히 증가하였으며<sup>29, 30)</sup> 또한 많은 연구들에서 이미 백혈구 adherence 및 반응성 산소 유리기 변화를 감소시키면 급성 폐 손상이 감소함이 알려져 있다<sup>31-33)</sup>. 또한 기계적 인공환기 자체가 폐 손상을 일으키며 이러한 이차적인 폐 손상이 인공환기 치료 대상자들의 주요 유병과 사망의 원인으로 작용함도 지적되어왔다<sup>34-36)</sup>. 기존의 기계적 인공환기에 의한 이차적인 폐손상은 상대적으로 많은 양의 일회 환기량을 사용하게 될 때 혈관의 여과 압력이 높아져서 모세혈관 내피세포, 상피세포, 기저막에 균열을 일으키고 폐 파열을 야기하여 이로 인해 액체, 혈액, 단백질 등이 조직과 폐포로 유출됨으로써 폐조직에 염증 반응이 일어나고 감염에 대한 폐의 방어기전이 약화됨으로써 발생한다<sup>36)</sup>. 따라서 저농도의 NO 투여가 산소화의 향상을 통해 기계적 인공환기의 필요성을 감소시키고 또한 폐내 백혈구 응집을 감소시키면서 폐 손상의 특징 중의 하나인 폐 누출을 감소시킬 수 있다면 이는 NO 투여를 통해 급성 폐 손상을 줄일 수 있다는 중요한 증거가 된다. Kinsella 등<sup>37)</sup>은 태아 양의 호흡곤란 증후군 모델에서 NO 흡입 치료가 폐내 백혈구 축적 및 폐부종을 감소시켰다고 보고하였다. 또한 Bloomfield 등<sup>38)</sup>은 NO 흡입 치료가 백혈구 이동과 산화 활성을 저해하여 패혈증에 의해 유도된 급성 폐 손상의 감소효과를 보였다고 보고하였다. 본 연구는 신생자돈에서 살아있는 세균(*E. coli*)을 폐 내 투여함으로써 패혈성 폐 손상을 유도하였는데 Bloomfield 등<sup>38)</sup>의 모델과는 달리 패혈증에 의한 저혈압 및 shock 등의 전신적인 증상을 적게 하면서도 폐의 염증변화를 극대화시킨 것으로서 10 ppm의 NO 투여가 myeloperoxidase 활성의 증가를 완화시킬 수 있었으며 이는 상기 두 연구 결과와 일치하는 소견이다.

이로서 본 연구는 패혈성 폐 신생자돈 모델에서 산소화에 영향을 주는 기전, 즉 폐혈관 저항의 증가 여부, 폐 내 생리적 사강의 변화 그리고 폐 내 단락에 대한 모니터를 실시하여 적어도

내인성 NO의 저해 없이 투여된 외인성 NO가 중증 호흡부전에서 산소화 향상에 기여하며 이는 효과적인 폐 내 단락의 감소와 일부 추정되는 폐 내 생리적 사강의 감소 효과에 의한 것임을 알 수 있었고 이러한 병태생리 기전의 향상에 있어 폐 내 염증 소견의 완화와 연관됨을 알 수 있었다.

## 요 약

**목적 :** *E. coli* 패혈성 폐가 유도된 신생자돈에서 Nitric oxide(NO) 가스 흡입요법이 혈역학, 가스교환 및 폐 염증 소견에 미치는 영향을 알아보고자 본 연구를 실시하였다.

**방법 :** 23마리의 신생자돈에서 도관 삽입과 기도 삽관을 시행하여 기계적 가스 인공환기를 시키면서 CON군(n=6)은 생리적 식염수 5 mL, PCON(n=9) 및 PNO(n=8) 군은 *Escherichia coli* strain 69×10<sup>9</sup> cfu(10 mL)를 투여한 후 time-cycled pressure-limited 인공환기기로 PIP 30 cmH<sub>2</sub>O, 호흡수 분당 30회, FiO<sub>2</sub> 1.0, PEEP 4 cmH<sub>2</sub>O의 설정에서 6시간 동안 유지하였다. PNO군에서는 NO 10 ppm을 *E. coli* 투여 후부터 실험 종료 시까지 기도 내로 투여하였다. 모든 신생자돈에서 가스교환, 혈역학, 폐기능 지수들을 1시간 간격으로 측정하였고 실험 종료 후 폐 조직을 얻어 염증반응 정도 지표인 myeloperoxidase 활성을 측정하였다.

**결과 :** *E. coli*가 기도 내로 투여된 PCON 및 PNO군 모두에서 실험 종료시 *E. coli* 패혈증이 발생하였다. PCON군에서는 시간에 따라 진행되는 폐동맥 고혈압, 저산소혈증, 고탄산혈증, 및 폐 내 단락과 폐 내 사강의 비율의 증가를 보였고 대조군에서는 실험 종료시까지 의미 있는 변화를 보이지 않았다. NO가 투여된 PNO군에서 폐동맥 고혈압이 감소되지 않았으나 폐 내 단락의 의미 있는 개선과 폐 내 사강 비율 증가의 일부 감소에 기인한 저산소혈증 진행의 완화가 관찰되었다. 폐 염증정도의 지표인 폐 조직의 myeloperoxidase 활성도는 PCON군에서 CON군에 비해 의미 있게 증가되었으며 이는 PNO군에서 의미 있게 완화되었다.

**결론 :** *E. coli* 패혈성 폐가 유도된 신생자돈에서 NO 가스 흡입요법은 폐 내 단락 개선을 통해 산소화를 향상시켰으며 또한 폐 염증 소견을 완화시켰다.

## 참 고 문 헌

- 1) Davidson D, Barefield ES, Kattwinkel J, Dudell G, Damask M, Straube R, et al. Inhaled nitric oxide for the early treatment of persistent pulmonary hypertension of the term newborn : a randomized, double-masked, placebo-controlled, dose-response, multicenter study. The I-NO/PPHN Study Group. *Pediatrics* 1998;101:325-34.
- 2) Abman SH, Kinsella JP. Inhaled nitric oxide therapy for pulmonary disease in pediatrics. *Curr Opin Pediatr* 1998;10: 236-42.
- 3) Ko SY, Chang YS, Park WS. Clinical response to inhaled

- nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *J Korean Med Sci* 1998;13:500-6.
- 4) Klinger JR. Inhaled nitric oxide in ARDS. *Crit Care Clin* 2002;18:45-68.
  - 5) Abu-Soud HM, Khassawneh MY, Sohn JT, Murray P, Haxhiu MA, Hazen SL. Peroxidases inhibit nitric oxide (NO) dependent bronchodilation: development of a model describing NO-peroxidase interactions. *Biochemistry* 2001; 40:11866-75.
  - 6) 장윤실, 박원순, 최중환, 윤종구. 급성 저산소성 폐동맥 고혈압증이 유도된 신생자돈에서 nitric oxide 흡입의 혈액학적 효과. *소아과* 1997;40:1394-409.
  - 7) Chung EH, Ko SY, Kim IY, Chang YS, Park WS. Changes in dead space/tidal volume ratio and pulmonary mechanics after surfactant replacement therapy in respiratory distress syndrome of the newborn infants. *J Korean Med Sci* 2001; 16:51-6.
  - 8) Arnold JH, Thompson JE, Benjamin PK. Respiratory dead space measurements in neonates during extracorporeal membrane oxygenation. *Crit Care Med* 1993;21:1895-900.
  - 9) Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. *Gastroenterology* 1984;87:1344-50.
  - 10) Kliegman RM, Clapp DW. Rational principles for immunoglobulin prophylaxis therapy of neonatal infections. *Clin Perinatol* 1991;18:303-24.
  - 11) Strieter RM, Lukacs NW, Standiford TJ, Kunkel SL. Cytokines and lung inflammation: mechanisms of neutrophil recruitment to the lung. *Thorax* 1993;48:765-9.
  - 12) Huang UT, Fracica PJ, Simonson SG, Crapo JD. V/Q abnormalities during gram negative sepsis. *Resp Physiol* 1996;105:109-21.
  - 13) Gump FE, Mashima Y, Kinney JM. Water balance and extravascular lung water measurements in surgical patients. *Am J Surg* 1970;119:515-8.
  - 14) Brigham KL, Woolverton WC, Blake LH, Staub NC. Increased sheep lung vascular permeability caused by Pseudomonas bacteremia. *J Clin Invest* 1974;54:792-804.
  - 15) Halmagyi DFJ, Starzecki B, Horner GJ. Mechanism and pharmacology of endotoxin shock in sheep. *J Appl Physiol* 1963;18:544-52.
  - 16) Stein M, Thomas DP. Role of platelets in the acute pulmonary response to endotoxin. *J Appl Physiol* 1967;23:47-52.
  - 17) Oldham KT, Guice KS, Stetson PS, Wolfe RR. Bacteremia-induced suppression of alveolar surfactant production. *J Surg Res* 1989;47:397-402.
  - 18) Fratacci MD, Frostell CG, Chen TY, Wain JC Jr, Robinson DR, Zapol WM. Inhaled nitric oxide: A selective pulmonary vasodilator of heparin-protamine vasoconstriction in sheep. *Anesthesiology* 1991;75:990-9.
  - 19) Rovira I, Chen TY, Greene E. Effects of inhaled nitric oxide and N-nitro-L-arginine methyl ester on intrapulmonary shunting in an ovine lavage adult respiratory distress syndrome model[abstract]. *Anesthesiology* 1992;V77:122A.
  - 20) Zayek M, Cleveland D, Morin FC. Treatment of persistent pulmonary hypertension in the newborn lamb by inhaled nitric oxide. *J Pediatr* 1993;122:743-50.
  - 21) Roberts JD, Chen T, Kawai N, Wain J, Dupuy P, Shimouchi A, et al. Inhaled nitric oxide reverses pulmonary vasoconstriction in the hypoxic and acidotic newborn lamb. *Cir Res* 1993;72:246-54.
  - 22) Filep JG, Battistini B, Sirois P. Induction of endothelin-1 of epithelium-dependent relaxation of guinea-pig trachea in vitro: role for nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1993;109:637-44.
  - 23) Leurs R, Brozium MM, Hansen W, Bast A, Timmerman H. Histamine H1-receptor-mediator cyclic GMP production in guinea pig lung tissue is an L-arginine-dependent process. *Biochem Pharmacol* 1991;42:271-7.
  - 24) Shah NS, Nakayama DK, Jacob TD, Nishio I, Imai T, Biliar TR, et al. Efficacy of inhaled nitric oxide in a porcine model of adult respiratory distress syndrome. *Arch Surg* 1994;129:158-64.
  - 25) Berger JI, Gibson RL, Redding GJ, Stnadaert TA, Clarke WR, Truog WE. Effect of inhaled nitric oxide during group B streptococcal sepsis in piglets. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147:1080-6.
  - 26) Agusti AGN, Rodriguez-Roisin R. Effect of pulmonary hypertension on gas exchange. *Eur Respir J* 1993;6:1371-7.
  - 27) Naeije R. Medical treatment of pulmonary hypertension in acute lung disease. *Eur Respir J* 1993;6:1521-8.
  - 28) Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Lsama K, Pison U, Zapol WM. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Eng J Med* 1993;328:399-405.
  - 29) Bachlofen M, Weibel ER. Alterations of the gas exchange apparatus in adult respiratory insufficiency associated with septicemia. *Am Rev Respir Dis* 1977;116:589-615.
  - 30) Tate RM, Repine JE. Neutrophils and the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1983;128:552-9.
  - 31) Carey PD, Byrne K, Jenkins JK, Sielaff TD, Walsh CJ, Fowler AA 3rd, et al. Ibuprofen attenuates hypochlorous acid production from neutrophils in porcine acute lung injury. *J Surg Res* 1990;49:262-70.
  - 32) Walsh CJ, Carey PD, Cook DJ, Bechard DE, Fowler AA, Sugerman HJ. Anti-CD18 antibody attenuates neutropenia and alveolar capillary-membrane injury during Gram-negative sepsis. *Surgery* 1991;110:205-11.
  - 33) Windsor AC, Walsh CJ, Mullen PG, Cook DJ, Fisher BJ, Blocher CR, et al. Tumor necrosis factor-alpha blockade prevents neutrophil CD18 receptor upregulation and attenuates acute lung injury in porcine sepsis without inhibition of neutrophil oxygen radical generation. *J Clin Invest* 1993; 91:1459-68.
  - 34) Picron DJ. Complications associated with mechanical ventilation. *Crit Care Clin* 1990;6:711-4.
  - 35) Woodring JH. Pulmonary interstitial emphysema in the adult respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 1985;13: 786-91.
  - 36) Parker JC, Hernandez LA, Peevy KJ. Mechanisms of ventilator-induced lung injury. *Crit Care Med* 1993;21:131-43.
  - 37) Kinsella JP, Parker TA, Galan H, Sheridan BC, Halbower A, Abman SH. Effects of inhaled nitric oxide on pulmonary edema and lung neutrophil accumulation in severe experimental hyaline membrane disease. *Pediatr Res* 1997;41:457-63.
  - 38) Bloomfield GL, Holloway S, Ridings PC, Fisher BJ, Blocher CR, Sholley M, et al. Pretreatment with inhaled nitric oxide inhibits neutrophil migration and oxidative activity resulting in attenuated sepsis-induced acute lung injury. *Crit Care Med* 1997;25:584-93.