

Verapamil (anti-calcium agent)의 심근 보호 작용

—Langendorff씨 장치하의 심근보호 작용—

유 홍 석*·정 정 기*·이 동 준*

—Abstract—

Effects of Myocardial Protection of Verapamil in Serum —Under Langendorff Apparatus in Ischemic Arrest Heart—

You Hong Sak, M.D., Cheong Jung Ki, M.D., Lee Dong Joon, M.D.

This study was evaluated the metabolic, physiologic and histologic effects of myocardial protection of verapamil(isoveratril)on isolated rat hearts to 90 minutes of ischemic arrest. Heart was perfused with a modified Kreb's Henseleit bicarbonate buffer with glucose and arrested with retrograde coronary perfusion by glucose insulin(GI), potassium and verapamil.

Mean aortic systolic pressure, heart rate, coronary flows were measured and morphologic changes were examined during working heart perfusion. Perfusion and arrest were controlled four groups subjected 60 isolated rat hearts. Four groups hearts reperfused during 40 minutes after 90 minutes global ischemia for physiologic recovery. 15 hearts of four groups were assayed to histological morphologic changes.

GI treated hearts recovered less than 28% of function and changed more than 80% of mitochondria of control group. Verapamil hearts(0.2, 0.1gm/kg) recovered more than 88% of function and permitted the maintenance of continous cellular level of Serum Glutamic Oxalacetate Transaminase(SGOT), but declined 28% of Phosphate Kinase(CP), GI treated heart showed widespread evidence of extensive damage of mitochondria. The damage was that interstitial huge edema are present and there was contraction band formation within the swollen cells. The verapamil and potassium group were not found morphologic change compared with control group.

Their functions were shown that metabolic and physiologic action of verapamil-group lasted 20 minutes longer than potassium group.

緒 論

심장수술에서 心停止液은 심장운동이나 혈류의 선

*전남대학교 흉부외과학교실

*Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Chonnam National University, Medical School
1990년 12월 3일 접수

택적인 arrest에 대단히 유용하게 이용되고 있다. cardioplegia방법에는 저온, fibrillation, potassium 그리고 ischemic arrest등 많은 보고들이 있다. 심장을 적출한 상태에서 실험적으로 심기능을 평가하는 방법은 생체의 다른 장기나 組織에 의한 영향을 배제하고 순수한 心機能을 평가할 수 있으므로 실험에 많이 이용되고 있다. 機能的, 代謝的 그리고 形態學的인 변화를

복합적으로 나타내든지 산소의 공급없이 心筋細胞는 빠르게 high energy phosphate를 고갈시키고 죽거나 괴사가 일어난다⁴⁾.

손상된 心筋細胞는 生化學的, 機能的인 비정상을 동반한다. cardioplegia 용액은 심장을 arrest하여 心筋細胞의 손상을 줄여서 ATP와 CP의 손실을 최소한으로 하며 ischemia동안에 ATP와 CP의 store를 유지하고 心筋細胞의 機能을 있는 그대로 보존해 준다⁵⁻⁹⁾.

Ca⁺⁺은 정상 心筋운동의 필수적인 요소이며 Cellular level에 있는 cardiac energy이용의 주요 결정을 해주고 있다.

본 실험에서는 Calcium antagonist중의 하나인 verapamil(isoveratril)을 心停止液에 첨가하며 cardioplegic과 protective agent로서 역할을 측정하였다. verapamil은 Ca⁺⁺이온이 sarcolemmal membrane에 녹아 나오는 것을 막아주고 心筋 산소 소모를 줄여¹⁰⁾ mitochondria 기능을 유지해 주는 것은 매우 중요한 사실이다¹¹⁾. hypoxia에 의한 손상에 대항하는데 verapamil에 흔히 使用되고 있다. 이 실험에서는 standard isolated perfused rat heart model¹²⁾를 이용하여 ischemic heart로부터 heart가 生理學的, 機能的 회복이 되는데 verapamil이 미치는 영향을 조사하였다¹³⁾.

準備 및 實驗方法

1. Preparation of the hearts

200~250gm 무게의 흰쥐를 使用하였으며 心臟을 적출하기 3분전에 sodium-heparin(2.5mg /rat. ipc-intra peritoneal)을 주사하였다. sodium pentobarbital(0.1ml /β.w. rat. ip)로 rat를 적당히 마취시킨후 3분정도 지나 마취가 적당히 된후 heart를 빠르게 摘出하여 즉시 iced physiologic saline(0.9% NaCl)이 담긴 beaker에 옮겼다. 수축이 멈춘후(20~30 sec)摘出 心臟을 내부에 있는 血液을 제거하고 操作에 의한 心筋손상을 방지하며 anoxia상태에서 회복시켜 주기 위한 ice saline에서 13gauge주사바늘을 使用하여 대동맥에 삽관한 후에 retrograde coronary perfusion을 실시하였다.

2. Buffer and Cardioplegia

摘出 心臟 灌流器(isolated heart perfusion Sys-

tem)인 Langendorff씨 循環裝置에 使用된 灌流液은 glucose가 첨가된 변형된 kreb's-Henseleit bicarbonate buffer(37±0.5℃)액으로 심장에 관류하고 기본 心停止液은 Kcl을 없앤 GI(10±0.5℃)용액을 사용하였다. Buffer와 GI 구성성분은 다음과 같다(Table 1).

perfusate는 산소와 이산화탄소가 95 : 5의 비율로 혼합된 것으로 기포화하여 PO₂가 350~450mmHg, PCO₂는 35~40mmHg가 되게하고 PH는 7.40~7.45로 하였다.

Table 1. Compositions of Physical solutions

	Kreb's Henseleit bicarbonate buffer(mmol /L)	*GI solution (mmol /L)
NaCl	118.0	0.5
KCl	4.7	—
CaCl ₂ ·2HO	2.5	—
MgSO ₄ ·7HO	1.2	—
KH ₂ PO ₄	1.2	—
Na-EDTA	0.5	—
NaHCO ₃	25.0	8.3
Glucose	11.0	277.5
Regular insulin	—	20.0unit
Aerating gas	5vol%CO ₂	—
PH	7.4	—

*GI=Glucose Insulin

3. 實驗方法

Langendorff model을 이용하여 70cmH₂O로 대동맥을 통하여 역류되는 buffer용액은 冠狀動脈으로 관류되어 또한 좌심실로 들어가 다시 좌심실의 수축에 의하여 大動脈으로 나가게되고 冠狀動脈으로 역류 순환되어 우심방의 coronary sinus를 통하여 상하 대정맥과 폐동맥을 거쳐 心臟밖으로 유출되는 역류순환을 최소한 5분간 유지하며 그 동안에 심장에서 점적되는 coronary용출액을 모아서 버렸다. 이시간 동안은 摘出된 heart내의 血液을 씻어내고 어떤 anoxia로부터 회복을 시켜준다. retrograde관류후에 좌심방 관류를 위하여 large pulmonary vein을 확인하여 15 gauge 주사바늘로 挿管을 실시하였다.

retrograde 5분후에 作業性 心臟(working keart model)상태로 바꾸어 주었다. 심장으로 부터 10cm 상방에 위치한 LA (left atrium) reservoir에서 灌流液

은 좌심방으로 灌流되고 좌심실의 수축에 의하여 大動脈 canmula에 있는 압력기(transducer)로 관류액이 전달된다.

좌심실의 수축이 일어 났을때, 心臟에서 70cm위에 위치한 aortic bubble trap안으로 Tygon tube를 통하여 들어가는 용액의 힘으로 transducer를 통하여 압력이 전달된다. 이 overflow 灌流液은 pump에 의해 압력의 불안정을 줄이고 冠 灌流(coronary flow)를 위해 계속 액체 정학적(hydrostatic) 압력을 유지하여 大動脈辨의 작동을 해주고 있다. 灌流液은 oxygenating chamber를 통해서 흐르고 rotatory pump에 의해서 LA reservoir로 되돌아 가게 하였다. 冠狀動脈에서 심장밖으로 유출되는 것은 heart chamber안으로 점적되고 pump에 의해 Tygon tube를 통하여 oxygenating chamber로 순환하게 하는 관류장치를 사용하였다(Fig. 1).

15분간 작업성 심장을 유지하면서 대동맥압, 관상동맥 관류량, 심박동수를 측정하였다. 압력은 大動脈 canmula의 측면에 연결된 transducer에 의해 측정되고, 冠灌流量은 drop counter와 눈금이 있는 cylinder로 5분 간격으로 1분간 Sample을 모아 측정하고 버렸다.

心機能의 평가를 위하여 Physiography(MK III, NARCO)에서 pressure tracing하고 심박동수를 계산하였다. 작업성 심장 15분 후에 좌심방과 대동맥을 통

하는 line을 막고 retrograde perfusion을 시행하였다. 그후에 大動脈 line을 풀고 90분간 ischemic heart가 되게 하였다. group별 灌流液과 ischemic heart를 유도하기 위한 retrograde 灌流液, 그리고 실험쥐의 수는 다음과 같다(Table 2).

90분 후에 작업성 심장 model을 사용하여 再灌流를 시작하였다. 그리고 灌流量, 압력, 심박동수를 physiograph에서 monitor하고 작업성 심장 상태에서의 再灌流 35분후에 細胞 化學的 檢査를 위한 標本을 얻고 形態學的인 변화를 보기 위하여 재관류가 끝남과 함께 組織을 절편하여 電子顯微鏡用的 標本을 얻었다(Fig. 2).

4개군으로 나누었고 각군은 rat를 15마리씩 실험하였으며 모든 군의 심장은 5분간 역류 순환을 실시하고 15분간 作業性 心臟을 하여 control기간을 명확히 하였다. 제1군은 cardioplegia을 처리하지 않은 군으로써 control시간 후에 순수한 GI용액만을 사용하여 2분 30초 동안씩 30분 간격을 두고 3회 逆 灌流를 시행해 준 후에 心臟의 生理學的인 機能을 위하여 40분간 再灌流를 해주었다. 제2군은 GI용액에 potassium (20mEq/L)을, 제3군은 verapamil(0.2mg/kg, 0.1mg/kg, 0.1mg/kg)을 GIK용액에 혼합하여 전과 같은 방법으로 90분간씩의 ischemia를 만들어 주었고, 제4군은 retrograde와 preischemic antegrade 관류時부터 buffer에 verapamil(0.5 μ g/kg/min)을 혼합하

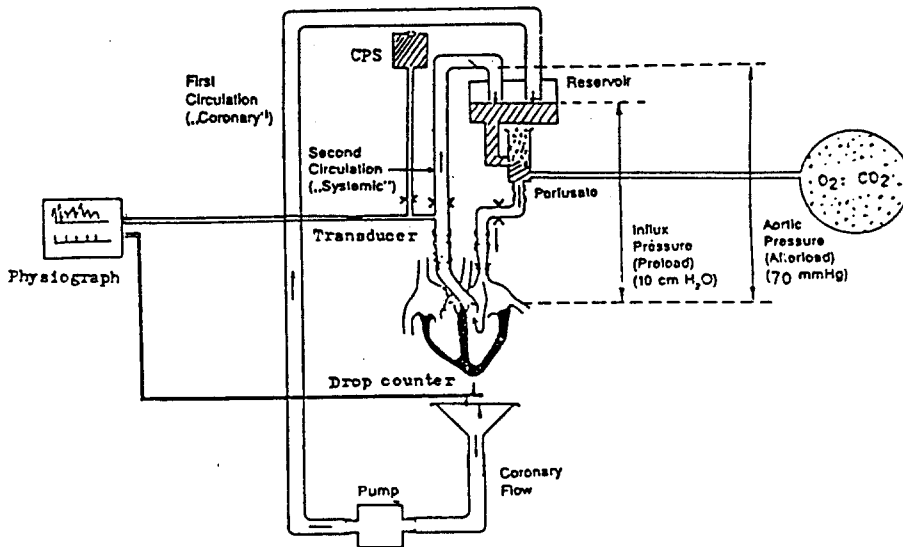


Fig. 1. Isolated perfused heart apparatus.

Table 2. Sequence and Perfusate composition for perfusion Rat number

	Retrograde	Preischemic antegrade	I	Retrograde CPS II	III	Reperfusion antegrade
Temp.	37°C	37°C		10°C		37°C
제1군 (n*=15)	K-H*	K-H	GI*	GI	GI	K-H
제2군 (n=15)	K-H	K-H	GI+KCl*	GI+KCl (KCl : 720mEg/L)	GI+KCl	K-H
제3군 (n=15)	K-H	K-H	GIK*+VRP*	GIK+VIP (VRP : 0.2mg/kg)	GIK+VRP (I, II : 0.1mg/kg)	K-H
제4군 (n=15)	(VRP : 0.5ug/kg/min. iv)		GIK+VRP (VRP : 0.2mg/kg)	GIK+VRP (I, II : 0.1mg/kg)	GIK+VRP	K-H

*K-H=Kreb's Henseleit bicarbonate buffer

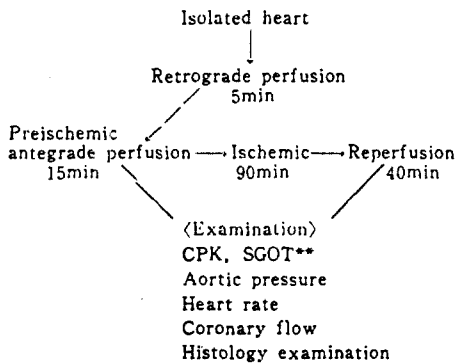
*GI=Glucose Insulin

*GIK=Glucose Insulin Potassium

*VRP=Verapamil(Isoveratril)

*N=Number of rat

*KCl=Potassium Chloride



* CPK=Creatine Phosphate Kinase

** SGOP=Serum Glutamic Oxalacetatic Transaminase

Fig. 2. Schematic representation of experimental schedule

여 관류하고 ischemia는 제3군과 같은 방법을 사용하였다.

작업성 심장 15분 동안의 측정치를 대조군으로 하여 다른 심장 90분씩 시행한 후에 재灌流를 한 4개군들을 실험군으로 설정하여 그 측정치를 대조군과 비교하였다(Table 2). 작업성 심장 15분후의 심장 3개와 재灌流후 各群에서 무작위로 3개씩의 심장을 추출하여 심장 절편을 만들어 전자현미경像의 細胞內微細構造 변형 정도를 추적 비교하였다. 세포내 미세구조중에서 High energy phosphate의 근원이 되는 mitochondria의 수와 크기 그리고 形態學的인 변형을 보았고 핵과 myofilaments의 형상과 異物質(foreign body)의 有無를 電子顯微鏡(Hitach 500)으로 확인하

였다. 이를 위해 1mm²정도의 心筋 절편을 0.1mol phosphate buffer로 조성된 karnovsky에 고정한 후에 ethyl alcohol을 이용하여 단계적(30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%)으로 脫水시켰다. 各 조직은 epoxy로 포매하고 중합(polymerization)하여 電子顯微鏡으로 5300배에서 사진을 찍은후 15,000배로 확대하였다.

成 績

1. 心機能과 心筋酵素

preischemic 15분간을 대조군으로 정하고 ischemic 다음에 再灌流시킨 4개군을 各各의 실험군으로 하여 이들의 기능 측정치를 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

대조군으로 정한 心停止 前의 生理學的인 檢査에서 모든 군이 機能的으로 正常的인 心臟이었다. 즉 통계학적으로 이들 심장들은 control기간 동안의 檢査에서 生理學的인 어떤 차이가 나오지 않았다. 60개의 心臟에서 control period동안의 평균대동맥 수축기압은 8±1.3mmHg이고 심장박동수는 평균 249.5±5.9 beat/min, 평균 관상 동맥 관류량은 7.63±0.35ml/min⁻¹이었다.

Table 3은 제1군(CI만 사용한 群), 제2군(KCl만 사용한 群), 제3군(verapamil과 potassium 처리群), 제4군(시작에서 부터 verapamil 처리群)들의 심장에서 preischemic 時와 reperfusion때의 機能을 측정하

Table 3. Hemodynamic effect of potassium and verapamil(3,4) on physiologic recovery from ischemic arrest.

minutes	Preischemic perfusion		Reperfusion						
	15	5	10	15	20	25	30	35	40
Aortic pressure(mmHg)									
1group	86±1.2	41±3.5	42±1.2	43±3.0	44±4.0	43±4.7	41±9.5	39±1.5	31±3.3
2group	85±1.8	79±2.8	82±1.4	81±3.1	79±5.3	80±1.5	85±2.0	81±2.0	82±2.1
3group	85±2.0	69±4.2	70±1.8	72±3.2	84±5.1	87±1.5	84±3.1	82±4.7	85±4.9
4group	83±5.2	67±3.8	71±2.5	66±3.8	82±4.7	86±3.1	84±3.5	83±3.7	88±3.9
Heart rate(beat /min)									
1group	258±12	21.5±12	20±40	39±18	41±20	30±15	15±11	7±4	5±3
2group	246±10	232±8	241±9	249±8	230±12	251±18	247±10	234±10	239±8
3group	245±7	109±5	145±8	191±8	220±10	235±11	245±9	238±14	242±9
4group	249±9	92±18	98±9	146±12	185±19	209±7	232±9	235±7	249±11
Coronary flow(ml. min ⁻¹)									
1group	7.5±1.0	6.3±3.5	12.0±2.1	11.0±2.9	13.5±4.7	19.0±5.9	24.5±6.7	30.4±8.8	28.3±10.2
2group	8.0±2.0	7.5±2.5	9.0±1.5	8.0±1.8	8.5±2.2	8.0±0.5	8.0±1.4	7.5±1.3	7.7±1.0
3group	7.2±0.9	6.5±2.0	6.5±0.5	7.0±1.2	7.5±0.5	8.0±1.0	7.9±0.5	8.0±2.1	7.5±1.1
4group	7.8±1.1	6.5±2.1	6.0±1.4	7.0±1.0	6.5±1.4	7.1±2.5	8.1±1.1	8.5±0.5	8.0±1.8

Value=Mean±Standard deviation

2군과 3군=P<0.02, 3군과 4군=P<0.01

것이다. 再灌流 후에 4군등에서 나타나는 대동맥압, 심박동수, 관 관류량의 회복되는 비율을 도표로 나타냈다(Fig. 3). 再灌流 시작을 0으로 하고 회복되는 동안을 5분 간격으로 대조군을 100%로 하여 비교한 %로 표시하였다. 1군에서는 大動脈 壓이 대조군에 비해 46.88±4.8%가 회복되었다. 특히 冠灌流量에서는 心機能의 저하로 인하여 정상적인 灌流 형태를 보이지 못했다. 초기 20분까지 3,4군의 機能이 potassium군에 비하여 약간씩 떨어져 있지만 그후로는 potassium군과 동등한 회복을 보이고 있다. 2군은 대조군의 95.25±2.3%, 3군은 93.00±8.8%이상, 4군은 94.63±0.

6%이상이 회복되었다. 1군과 비교하여 2군과 3군사이의 p value는 0.02이하였고, 3군과 비교한 4군의 p value도 0.01이하였다. 이는 potassium 처리군과 verapamil처리군과의 어떤 의의를 가질만한 통계학적인 차이가 없었다는 것이다.

2분 30초동안의 각기 다른 心停止처리에서 보면, 처리하지 않은 군에서는 大動脈과 좌심실 灌流를 차단한 후에도 정상 박동수를 보이다가 4분이 지나면서 그 속도가 느려지지만 1~2분 동안 계속해서 수축성을 보였다. potassium군은 potassium 주입후 흰쥐 모두에서 30초 以內에 arrest되었고, verapamil군 중에 3群은

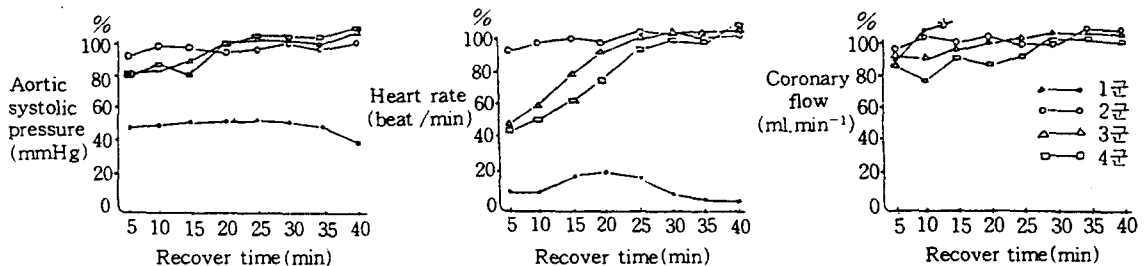
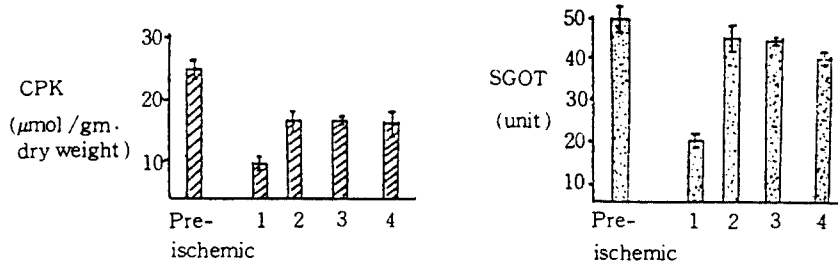


Fig. 3. Percent recovery of aortic pressure, heart and coronary flow after 90 minutes of ischemic rat heart (comparison to control).



Effective serum enzyme levels of four groups. There were some declined in enzyme activity of CPK and SGOT Compared with control group. Post-ischemic CPK level were equal to potassium and verapamil groups, while SGOT of verapamil groups were decrease more than potassium arrested group.

Fig. 4. Changing values of serum enzyme after 90 min of ischemic arrest

박동수가 감소하면서도 心停止液 주입 동안에 강한 수축을 보이다가 1~2분 후에 arrest되었으며 4군에서는 수축 정도가 약간 더 강하게 일어나면서 arrest시간은 3군과 유사하게 나타났다.

各群에서 CPK와 SGOT의 활성을 검사하여 다음과 같은 결과를 얻었다(Fig. 4).

CPK와 SGOT는 대조군에 비하여 모든군이 약간의 감소를 나타냈다. 모든 결과는 각각 $\mu\text{mol/gm/dry weight}$ 와 unit로 표시하였다. baseline인 preischemic 測定치는 CPK가 25.1 ± 2.0 이고 SGOT는 51 ± 2.5 였다. 그러나 ischemic 90분후, 처리하지 않은 群의 測定치는 baseline의 40%정도인 CPK 10.04 ± 0.5 , SGOT 20.5 ± 1.5 를 가지고 있었다. 3군은 CPK 17.91 ± 2.1 , SGOT 46.7 ± 3.9 이고 4군은 CPK 18.32 ± 0.8 , SGOT 45.1 ± 1.5 를 각각 나타냈다. potassium군은 verapamil군과 CPK는 17.0 ± 3.0 으로 차이가 없었지만 SGOT는 40.8 ± 2.1 로 약간 떨어져 있었다(Fig. 4).

2. 組織 檢査 成績

3개의 대조군과 再灌流 후 4개群중에서 無作爲로 뽑은 3개씩의 실험군을 電子顯微鏡으로 관찰하였다. 대조군에서는 微細構造 사이에 약간의 수축된 band를 가지고 있었지만 mitochondria의 형상이나 다른 구조들이 변형되어 있지 않음을 확인할 수가 있었다. 1군에서는 이 수축된 band가 더욱 顯著하게 나타났고 사이 사이에 빈 空間이 보였는데 이는 細胞의 변성으로 인한 空胞가 생겼다는 것을 말해주고 있다. potassium 처리군이나 verapamil 처리한 3,4군에서도

myofilaments인 수축된 band는 보였지만 대조군과의 차이는 거의 없었고 대체로 정상으로 보였다. high energy phosphate인 ATP(adenosine triphosphate)의 생산에 관여하고 있는 mitochondria의 腫脹이 있음을 말해주고 있다. 반면에 potassium군과 verapamil군이 대조군에 비하여 mitochondria의 形態상의 서로간의 차이는 없었으며 특히 처음부터 verapamil로 처리한 군에서의 微細構造는 verapamil 心停止시킨 3군과의 거의 비슷한 형상을 보였다(Table 4, Photo 1).

考 察

verapamil은 하나의 papaverine 誘導體로서 1962년에¹⁴⁾관상 동맥 확장제로 처음 소개된 다음에 실험동물에서¹⁵⁻¹⁷⁾ potent antiarrhythmic 특성을 가졌다는 것이 발견 되었으며¹⁸⁾ 현재 verapamil의 antiarrhythmic작용은 명확히 확인된 상태이다⁹⁻²¹⁾.

본 실험은 ischemia후에 心筋의 내약성을 높이는 데 verapamil의 효과가 어느정도인가를 실험한 것이다. 실험동안에 外部 溫度나 操作에 의한 손상을 최소한으로 줄이기 위해서는 逆流 순환시에 폐동맥을 찾아 挿管하는 과정을 될수 있는 한 단축하는 것이 매우 중요하였다.

본 실험에서도 verapamil이 arrest시간을 안전하게 연장시켜주고 arrest前에 수축을 감소시켜 주었다. 이는 verapamil처리가 처리하지 않은 心臟보다는 high energy phosphate를 더 잘 보존해 준다는 의미이며

Table 4. Scoring of the most typical ultrastructure symptoms leading to the preischemic myocardial cell versus myocardium of protected with differential cardioplegia.

	Ultrastructure							
	Mitochondria				Vacuole		Myofilaments	
	Normal granule	Flocculent densities	Matrix light	Cristae broken	Size	No	Contracted or	Contraction band
	+ or -	+ or -	grading		grading		Relax.	+ or -
Preischemic	+	-	-	-	-	-	contr.	+/-
1Group	+++	-	+++	+++	+	+	relax.	++
2Group	+	-	+	-	-	-	contr.	+
3Group	-	-	+	-	-	-	contr.	+
4Group	+	-	+	-	-	-	contr.	+

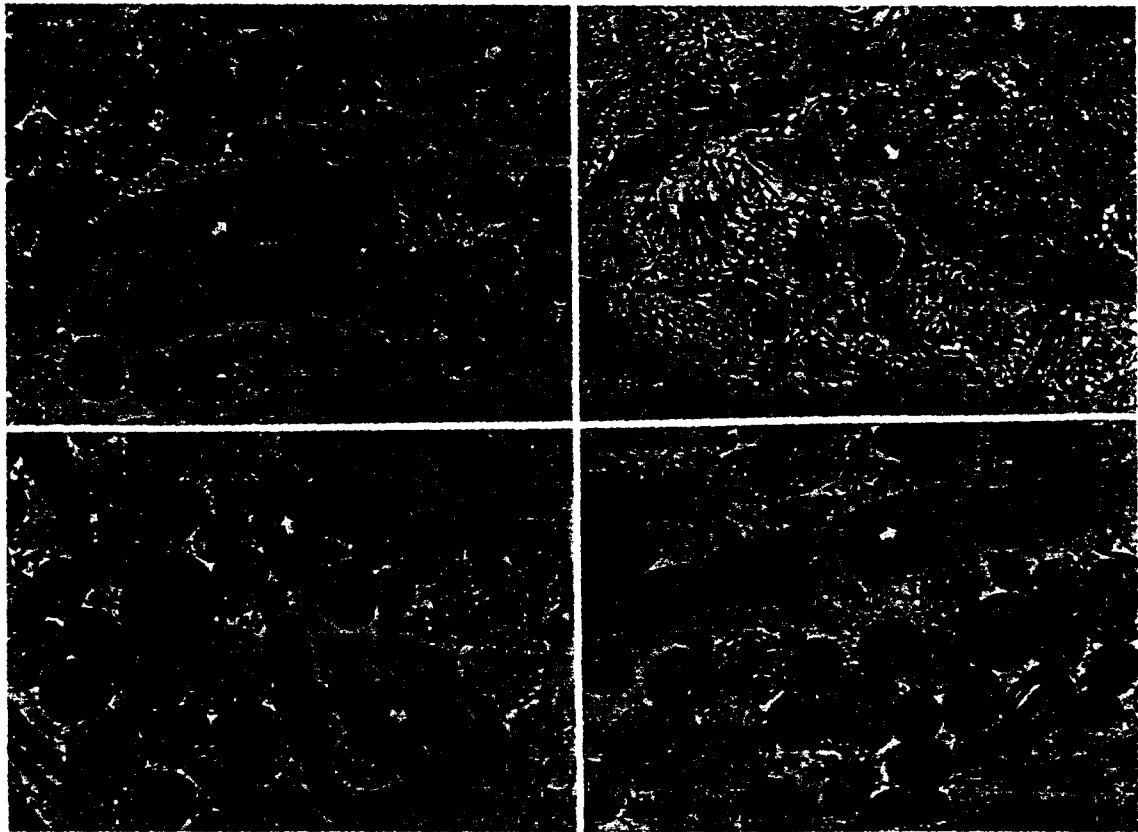


Photo. 1. Electron micrographs from the myocardium cell of isolated rat hearts subjected to ischemic arrest with hypothermic and cardioplegic agents.

(A) Normal heart(control) (B) Non-treated heart (C) Potassium arrest (D) Verapamil arrest. Mitochondria severe swelling (S) and disruption (D) and contraction band (arrow) and huge vacuoles (V) are present in B,C,D are no changes compare with control group(A,B,C,D 15000 \times).

potassium군과는 유사하게 나타나고 있었다. 心筋機能에서 보듯이 verapamil은 心筋 운동의 변화를 가져왔다.

즉, verapamil이 心筋細胞안으로 유입되는 Ca^{++} 을 차단하면서 Sarcolemmal 膜에서 축적된 Ca^{++} 의 결합 능력을 감소시켜 주고 있기 때문이다²²⁻²⁴).

Frishman²⁵도 verapamil이 心筋의 수축능을 저하시키고 電位에 영향을 주며 심박동수를 감소시켜줄 뿐만 아니라 冠灌流量도 증가시켜 주는 등의 Ca^{++} channel에 영향을 주고 있다고 하였다.

Flecken-Stein은 verapamil이 또한 sodium ion의 細胞膜 통과를 차단하지 않는다고 한다. 이는 心筋 운동에 있어서 細胞膜電位 활동을 방해하거나 지연시키지 않고 있다는 것이며^{23,26} 虛血性 心停止중에도 정상적인 酸化代謝經路(oxidative metabolic pathway)가 차단되지 않는다고 한다^{27,28}. 冠灌流量만을 의존하는 심장에서는 組織酸素가 빠르게 소모된다고 한다. 즉 혐기성하에서 高 energy phosphate를 생산하기 위해서 心筋에 저장되어 있는 glycogen을 glycolytic 경로를 통하여 기질로 이용한다는 것이다^{29,30}. 이와같은 상황에서 verapamil은 ischemic 동안에 ATP의 손실을 적게 하며 남은 ATP는 intracellular hemostasis를 유지해 주는데 사용된다. 그러므로서 mitochondria가 Ca^{++} 으로 인한 환경적 overloading을 피하고 그의機能が 잘 보존되고 있는 것이다³¹⁻³³. verapamil은 sarcolemmal membrane에 Ca^{++} 유입을 2차적으로 역할을 가지고 있는 것으로 보여진다. Ca^{++} 축적의 활동은 verapamil-membrane 영향으로 직접될 수도 있고 high energy phosphate의 결핍에서 제2차적으로 얻을 수가 있다³⁴. 본 실험의 組織檢査에서도 potassium군이나 verapamil군에서의 Ca^{++} 에 의한 mitochondria의 변화를 볼 수가 없었다. potassium과 verapamil이 ischemia없이 비교되었을때의 生理學的인 차이는 verapamil의 心筋 보호 능력이 떨어지지 않으면서 회복되는 속도를 지연시켜 준다는 것이다. 다시 말해서 Ca^{++} 에 결합되고 해리되는 것이 verapamil보다는 potassium이 더 빠르게 진행되고 있다는 것이다. 최근에는 verapamil이 再灌流 동안에 수축이 안되는 상태를 얼마간 유지하고 있는 것이 좋다는 확설이 있는데³⁵. 이와같은 결과라고 하면 心筋 보호에 좋은 영향을 주기 위해서는 verapamil을 첨가하는 것이 가능하다고 할 수 있다. 반면에 Verapamil사용이 모든 동물

의 ATP소모를 서서히 해주는 동등한 활성을 보여주고 있다는 또다른 보고들이 있다^{36,37}. 본 실험 결과에서도 verapamil군이 초기 회복에 있어서 약간 지연되는 효과를 심근 보호나 心筋機能의 결과로 보아서 cardioplegia이나 protective제재로써 potassium만 사용하는 것보다 우수하다고 할 수는 없었다. verapamil의 high energy phosphate 보존이 potassium에서와 같이 동등하게 보존되고 있다는 것이 기능 보존면에서도 잘 나타나고 있었다.

두 群사이에서 처음 再灌流 20분까지의 生理學的 측정에서는 약간의 차이를 보이지만 20분 後의 결과에서는 차이는 의의를 발견할 수가 없었다. 즉 再灌流後 20분이 지나면 potassium과 verapamil 群과의 통계학적인 차이가 없는 것으로 potassium은 細胞膜에서 脫分極(depolarization)을 일으키지만 verapamil은 膜電位에 영향을 미치고 있지 않기 때문에 생긴 것이다.

결과적으로 보면 처음 灌流液에서 부터 verapamil을 혼합하여 사용하든지 또는 안하는지 간에 心筋 보호에 관한 차이는 발견할 수 없었지만 心停止 시간을 지연시키고자 할때는 verapamil의 영향이 potassium보다 상당한 이점을 가져올 수가 있다는 것이다.

REFERENCES

1. Jennings, R.B., Sommers, H.M., Flack, H.A., Linn, H. : *Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog.* Arch. Pathol. 70 : 68~78, 1960.
2. Jennings, R.B., Ganote, C.E. : *Structural changes in myocardium during acute ischemia.* Circ. Res. 34, 35 : Suppl. III : III-156~72, 1974.
3. Katz, A.M., Hecht, H.H. : *The early "pump" failure of the ischemic heart.* Am. J. Pathol. 47 : 493~502, 1969.
4. Ganote, C.E., Seabra-Gomes, R., Nayler, W. G., Jennings, R.B. : *Irreversible myocardial injury in anoxia perfused rat hearts.* Am. J. Pathol. 80 : 419~50, 1975.
5. Maloney, J.V., Nelson, R.L. : *Myocardial preservation during cardiopulmonary bypass.* J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 70 : 1040, 1975.
6. Hearse, D.J., Stewart, D.A., Chain, E.B. : *Recovery from cardiac bypass and elective cardiac arrest.* Circ. Res. 35 : 448, 1974.

7. Hearse, D.J., Stewart, D.A., Braimbrige, M. V. : *Cellular protection during myocardial ischemia. Circulation.* 54 : 193, 1976.
8. Hearse, D.J., Stewart, D.A., Braimbrige, M. V. : *Hypothermic arrest and potassium arrest. Circ. Res.* 36 : 481, 1975.
9. Todd, G.J., Tyers, G.F. : *Potassium induced arrest of the heart. Surg. Forum.* 27, 1976.
10. Fleckenstein, A. : *Specific inhibitors and promoters of calcium action in excitation contraction coupling of the heart muscle and their role in the prevention or production of myocardial lesions. In: Harris, P., Opie, L.H., eds. : Calcium, and the heart. New York. Academic press. 135~88, 1971.*
11. Henry, P.D., Schleich, R., Davis, J., Weiss, E.S., Sobel, B.E. : *Myocardial conture and accumulation of mitochondrial calcium in ischemic rabbit heart. A. Am. J. Physiol.* 233 : H677~H84, 1977.
12. Doring, H.J., Dehert, H. : *The isolated perfused heart according to Langendorff. English. Edition. ist : 83~85, 1988.*
13. Neely, J.R., Rovetto, M.J. : *Techniques for perfusing isolated rat hearts. In Hormones and Cyclic Nucleotides. Methods in Enzymology. Vol. 38. edited by O'Malley, B.J. and Hordman. J.G. New York. Academic press. 75, 1974.*
14. Hass, H., and Hartfelder, G. : *a isopropyl a (N-methyl N homoveratryl)a amino propyl 3,4 dimethoxyphenylacetoneitril, eine substanz mit koronargefasseruciterned eigenschaften. Arzncim. Forsch.* 12 : 549, 1962.
15. Meville, K.I., Shister, H.E., and Hug, S. : *Ipr-overatril : experimental data on coronary dilatation and antiarrhythmic action. Can. Med. assoc.* 90 : 761, 1964.
16. Kaumann, A.J., and Aramendia, P. : *Prevention of ventricular fibrillation induced by coronary ligation. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 164 : 326, 1968.
17. Singh, B.N., and Vaughan Williams, E.M. : *A forth class of anti-dysrhythmic action? Effect of verapamil on ouabain toxicity, on atrial and ventricular intercellular potential and on other features of cardiac function. Cardiovasc. Res.* 6 : 109, 1972.
18. Sandler, G., Clayton, G.A., and Thorncroft, S.G. : *Clinical evaluation of verapamil in angina pectoris. Br. Med. J.* 3 : 224, 1968.
19. Schamroth, L. : *Immediate effects of intravenous verapamil on atrial fibrillation. Cardiovasc. Res.* 5 : 419, 1971.
20. Schamroth, L., Erikler, D.M., and Garrett, C. : *Immediate effects of intravenous verapamil in cardiac arrhythmias. Br. Med. J.* 1 : 660, 1972.
21. Heng, M.K., Singh, B.N., Roche, A.H.G., Norris, R.M., and Mercer, C.J. : *Effects of intravenous verapamil on cardiac arrhythmias and on the electrocardiogram. Am. Heart J.* 90 : 487, 1975.
22. Naylor, W.G., Szeto, J. : *Effect of verapamil on contractility. oxygen utilization and calcium exchangeability in mammalian heart muscle. Cardiovasc. Res.* 6 : 120, 1972.
23. Fleckenstein, A. : *Specific inhibitors and promoters of calcium action in the excitation contraction coupling of heart muscle and then role in the prevention of production of myocardial lesions. In Calcium and The Heart. New York. Academic press, 1972.*
24. Entman, M.L., Allen, J.G., Rornet, F.P., Gillette, P.C., Wallick, E.T., Schwartz, A. : *Mechanisms of calcium accumulation and transport in cardiac relaxing system. J. Mol. Cell Cardiol.* 4 : 681, 1972.
25. Frishman, W.H., et al : *Calcium-channel blockers in systemic hypertension. Med. Clin. North Am.* 72 : 453, 1988.
26. Kriker, D. : *Verapamil in cardiology : a review. Am. J. Cardiol.* 21 : 3, 1974.
27. Angell, W.W., Rikkers, L., Dong, E., Shumway, N.W. : *Organ viability with hyperthermia. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 58 : 619, 1969.
28. Tyers, G.F.O., Williams, E.H., Hughes H.C., Todd, G.J. : *Effect of perfusate temperature on myocardal protection from ischemia J. Thorac. Cardiovasc. Surg* 73 : 766, 1977.
29. Kirsch, U., Rodewald, G., and Kalman, P. : *Induced ischemic arrest : Clinical experience with cardioplegia in open heart surgery. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 63 : 121, 1972.
30. Benson, E.S., Evans, G.Y., Hallaway, B.E., Phibbs, C., and Freier, E.F. : *Myocardium creatine phosphate and nucleotides in anoxic cardiac arrest and recovery. Am. J. Physiol.* 201 : 687~

693, 1961.

31. Shen, A.C., Jennings, R.B. : *Kinetics of calcium and accumulation in acute myocardial injury*. *Am. J. Pathol.* 67 : 441-52, 1972.
32. Shen, A.C., Jennings, R.B. : *Myocardial calcium and magnesium in acute ischemic injury*. *Am. J. Pathol.* 67 : 417-40, 1972.
33. Lehninger, A.L., Carafoli, E., Rossi, C.S. : *Energy-linked ion movements in mitochondrial systems*. *Adv. Enzymol.* 29 : 259-320, 1969.
34. Hearse, D.J., Garlick, P.B., Humphrey, S.M. : *Ischemic contracture of the myocardium: mechanisms and prevention*. *Am. J. Cardiol.* 39 : 986, 1977.
35. Follette, D.M., Steed, D.C., Foglia, F.P., Fey, K.H., Buckberg, G.D. : *Reduction of postischemic myocardial damage by maintaining arrest during initial reperfusion*. *Surg. Forum.* 28 : 281, 1977.
36. Clark, R.E., Ferguson, T.B., West, P.N., Shuchlich, R.C., Henry, P.D. : *Pharmacological preservation of the ischemic heart*. *Am. J. Thorac. Surg.* 24 : 307, 1977.
37. Lowe, H., Kleinman, I.H., Reimer, R.A., Jennings, R.B., Wechsler, A.S. : *Effects of cardioplegia produced by calcium flux inhibition*. *Surg. Forum.* 28 : 297, 1977.