

흰쥐의 허혈심장에서 Adenosine의 심근보호효과에 관한 연구

박 승 규* · 박 병 루** · 성 시 찬* · 정 황 규*

- Abstract -

Myocardial Protective Effect of Adenosine in Ischemic Rat Heart

Seung Kyu Park, M.D., Byung Ryul Park, M.D., Si Chan Sung, M.D., Hwang Kyu Jung, M.D.

This study was undertaken to investigate whether adenosine administered during cardioplegic arrest could enhance myocardial protection and improve recovery of function after ischemia.

Isolated Langendorff-perfused rat hearts were subjected to 40 minutes of normothermic (37°C) ischemia.

Control hearts (n=10) received modified St. Thomas' cardioplegic solution, and the remaining hearts received modified St. Thomas' cardioplegic solution with either 20 μM (n=10), 200 μM (n=10) adenosine. After ischemia of 40 minutes and 30 minutes of reperfusion, left ventricular contractility was superior in all groups of adenosine-treated hearts compared with control hearts. Furthermore, there was a significant incremental increase in functional recovery with increasing dose of adenosine. Post-ischemic diastolic stiffness was significantly better in all adenosine groups compared with controls. No differences were noted in coronary flow or myocardial water content between adenosine-treated and control hearts. These data demonstrate that adenosine administered in these concentrations provides myocardial protection, preservation of myocardial ATP and creatine phosphokinase and improved post-ischemic functional hemodynamic recovery after normothermic ischemia, presumably metabolically by reducing depletion of adenosine triphosphate, inducing rapid cardiac arrest and enabling improved post-ischemic recovery.

서 론

대동맥이 결찰되어 있는 동안에 심근보호를 위해 반복적인 potassium 심정지액 투여와 저체온법(deep

*부산대학교 의과대학 흉부외과학교실

*Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Pusan National University

**부산의료원 흉부외과

**Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Pusan Medical Center

1990년 11월 6일 접수

myocardial hypothermia) 등이 임상적으로 광범위하게 이용되어 오고있다^{1,2,3}. 그러나 이러한 심근보호법에도 불구하고 허혈상태에서 상당한 adenosine triphosphate(ATP)의 소모가 생길 수 있다. 세포내 ATP는 심근의 수축과 이완에 필수적인 에너지원으로 ATP의 고갈은 허혈과 재관류후 심실기능의 불완전한 회복에 영향을 미치는 중요한 인자가 될 수 있다. 허혈상태에서 high energy phosphate는 adenosine, inosine, hypoxanthine 그리고 uric acid로 분해되며 adenosine triphosphate(ATP)량은 허혈상태에서 회

복되는 수일동안에 감소되어 있을 수 있다^{4,5,6}. 이전의 실험연구에서 adenosine을 전처치하므로 허혈상태후 ATP 고갈방지효과를 보고하였다⁷. 동시에 고농도의 potassium정지액의 잇점에 대한 의문이 제기되었으며^{8,9} Adenosine은 cardiac calcium channel에 대해 길항적 특성으로 sinoatrial node, atrioventricular node 그리고 심근 수축 등을 억제하여 결국 심정지를 초래한다는 보고가 있다^{10,11,12}. 이에 저자는 심정지액에 adenosine을 첨가하므로 빠른 시간내에 완전한 심정지를 유도하고 허혈시 ATP의 기질인 adenosine을 공급하므로 허혈 상태후 재관류시 심근기능의 회복과 high energy phosphate 보존에 효과가 있을 것이라는 가정하에 본 실험을 하게되었다.

실험방법

본 실험에서는 300-350gm의 Spaque Dawley종의 흰쥐를 대조군과 adenosine 20 μ M/L군과 adenosine 200 μ M/L군으로 나누어 각각 10마리씩 이용하였다. 먼저 pentothal sodium 12.5mg을 복강내에 주사하여 마취한 뒤 대퇴정맥에 250u heparin을 주사하고 흉골 정중절개후 신속하게 심장을 적출한 다음 즉시 4 $^{\circ}$ C의 생리식염수에 담가 심장운동을 정지시켰으며 즉시 Langendorff 관류장치에 연결하고 결체조직을 제거하였다. 곧이어 박동하고 있는 심장의 좌심방(left atrium)을 통해 그 속으로 latex balloon을 좌심실에 집어 넣어 좌심실의 이완기 압력이 5-10mmHg가 되도록 팽창시킨 뒤 계속적으로 좌심실 압력과 dP/dt를 측정(Gould 3000 RS 3200) 하였다(Table 1).

본실험에서 사용된 latex balloon은 그 크기가 길이 9mm, 폭 5mm정도되게 condom의 끝부분을 이용하여 제작된 것으로 흰쥐 심장의 좌심실 이완기 용적보다 큰 0.3cc를 압력의 증가없이 채울 수 있었다.

Table 1. Compositions of perfusion solution

NaCl	118.0
KCl	4.70
CaCl ₂	1.25
MgSO ₄	1.66
NaHCO ₃	24.88
KH ₂ PO ₄	1.18
Glucose	5.55
pH(5Vol%)	7.4

관류액은 0.45 μ m membrane filter (Whatman)에 여과한 Klebs-Henseleit solution을 사용하였으며 oxygenator와 heat exchanger로서 modified Langendorff Heart Preparation apparatus (Hugo Sachs Elektronik KG D-7806 March F.R. Germany)를 이용하였다. 관류액의 온도는 37 $^{\circ}$ C를 유지하도록 했고 관류압은 75cmH₂O가 되도록 하였으며 관류액의 산소분압은 450-550mmHg사이에 유지되었다.

심정지액으로는 Saint Thomas용액을 사용하였고 대조군에서는 이심정지 용액만으로, 실험군에서는 adenosine (Hayashi Pure Chemical Industries, Ltd. Osaka, Japan) 20 μ M/L (A20군)와 adenosine 200 μ M/L (A200군)를 Saint Thomas심정지액에 첨가하여 관류액을 차단함과 동시에 aortic root에 주입하였다. 심정지액은 37 $^{\circ}$ C, 100cmH₂O의 압력으로 3분간 주입했다. 이때 관류 1분후 1분간 관류액의 양을 측정함으로써 심정지액 투여시 관상동맥관류량을 결정하였다. 또한 관류액관류 및 허혈시 이중유리관을 사용하여 37 $^{\circ}$ C의 Klebs-Henseleit solution에 담가둠으로써 심장의 온도를 정확하게 37 $^{\circ}$ C로 유지할 수 있도록 하였다(Table 2).

본 실험의 순서는 2가지 protocol로 나누어 처음에는 흰쥐 심장을 Langendorff장치에 연결시킨후 약 15분간 평행상태에 도달하도록 방지하였으며 15분후 3분간 심정지액 주입과 동시에 허혈 및 심정지를 유발하였고 이후 약 40분간 허혈상태를 유지하였다. 허혈 상태에서도 좌심실의 balloon을 inflation한 채로 그냥

Table 2. Composition of cardioplegic solution

NaCl	110.0	110.0	110.0	mM/L
KCl	16.0	16.0	16.0	
MgCl ₂	16.0	16.0	16.0	
CaCl ₂	1.2	1.2	1.2	
NaHCO ₃	10.0	10.0	10.0	
Adenosine	-	20.0	200.0	μ M/L

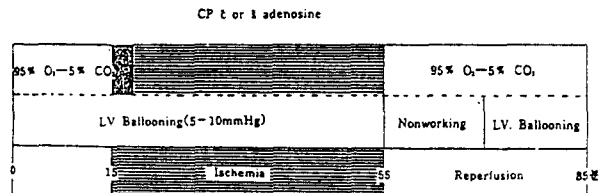


Fig. 1. Schematic time course diagram of the experiment. CP, Cardioplegic solution, LV, Left ventricle

두어 허혈시 좌심실의 압력을 계속 기록함으로써 허혈성경축(ischemic contracture)의 발생시점과 정도를 측정하였다. 허혈 40분후 재관류를 시작하였으며 재관류 15분동안은 좌심실의 balloon을 deflation시켜 심장이 운동부하가 없는 상태에서 심박동의 회복을 할 수 있도록 방치하였고 재관류 15분 후 다시 balloon을 5-10mmHg로 재팽창시켜 재관류 15분 후와 30분 좌심실 압력 및 dP/dt를 측정하였다. 심박동수는 허혈 직전, 재관류 15분, 재관류 30분대에 좌심실압 곡선을 기준으로 계산했고 관상관류량은 각각 같은 시점에서 1분간 모아 전자칭평기(Sartorius R180D)로 측정하였다. 심장을 Langendorff관류장치로 부터 분리하여 125C의 온도로 건조기에서 24시간 건조시켜 건조중량을 측정하였다. 본 실험에서 대조군과 A20군 그리고 A200군에 있어서 좌심실압력(developed pressure), developed pressure X 심박동수, 좌심실의 dP/dt, 관상관류량을 측정 비교하였는데 이는 재관류 30분의 회복률을 허혈전 평행상태의 수치에 대해 percent로 표시하여 비교하였다.

두번째 실험에서는 역시 대조군과 두 실험군 각각 10마리씩으로 40분간 허혈상태 유지후 즉시 관류장치에서 분리하여 냉동 질소 용액에 담가 급속 응결시킨 후 24시간 이내에 Imamoto, Iwasa 그리고 Okunki 방법에 의한 심근내 ATP량측정¹³⁾과 Sobel등과 Forster 등의 방법으로 심근내 creatine phosphokinase측정¹⁴⁾ 그리고 Shah, Cruz 그리고 Baricos등의 방법으로 심근내 Maldondialdehyde (MDA)를 측정하여¹⁶⁾ adenosine의 심근내 energy보존 효과와 oxygen free radical scavenger의 기능에 대해 비교해 보았다 (Table 3), (Fig 2).

Table 3. Measurements

Time to Cardiac Arrest
Number of Beats during Cardioplegia
Heart Rate
Coronary Flow
Left Ventricular Developed Pressure
Developed Pressure x Heart Rate
+max aP/dt
Ischemic Contracture
ATP, Crdatinephosphokinase amd
Malondialdehyde(MDA) in myocardium

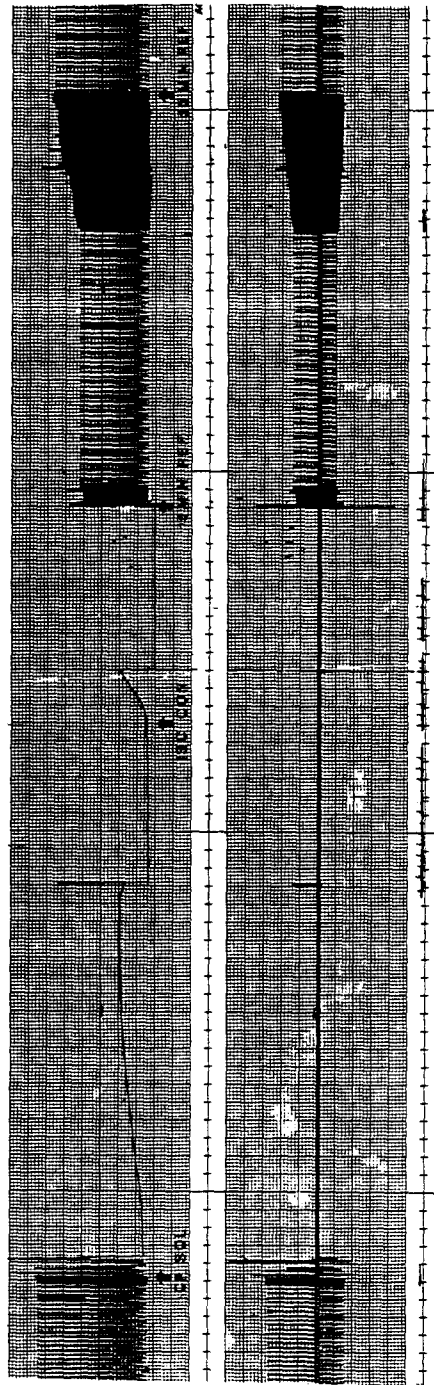


Fig. 2. Pressure and dP/dt recording of experiment. CP SOL, Cardioplegic Solution, ISC CON, Ischemic Contracture, REF, Reperfusion

실험결과

1. 심정지액 투여시 심정지까지 심박동수

심정지액 투여시 심정지까지 박동수는 대조군에서 24.0+3.30 A20군은 15.70+2.26 그리고 A200군은 5.40+1.35로 A20군과 A200군에서 훨씬 적었다($P < 0.01$) (Table 4), (Fig. 3, 4).

2. 심정지액 투여시 심정지까지 ectopic beats

심장지액 투여시 심정지까지 ectopic beats는 대조군에서 6.70+1.25, A20군에서 4.40+2.17, 그리고 A200군에서 0.40+0.69로 A20군과 A200군에서 훨씬 적었다($P < 0.01$) (Table 4), (Fig. 3, 4).

3. 심정지액 투여시 심정지까지 총 심박동수

심정지액 투여시 심정지까지 총 심박동수는 대조군에서 30.7+4.24, A20군은 18.1+6.67 그리고 A200군은 5.80+1.94으로 A20군과 A200군에서 훨씬 적었다($P < 0.01$) (Table 4), (Fig. 3, 4).

4. 심정지액 투여시 심정지까지 시간

심정지액 투여시 심정지까지 시간은 대조군은 8.32+1.69초 A20군은 6.96+1.72초 그리고 A200군은 1.95+1.25초로 A20군($P < 0.05$)과 A200군($P < 0.01$) 모두에서 대조군에 비해 빠른 심정지가 유도됨을 관찰할 수 있었다(Table 5), (Fig. 3, 5).

5. 심박동수의 회복

심박동수는 허혈상태이전에는 대조군에서 275.00

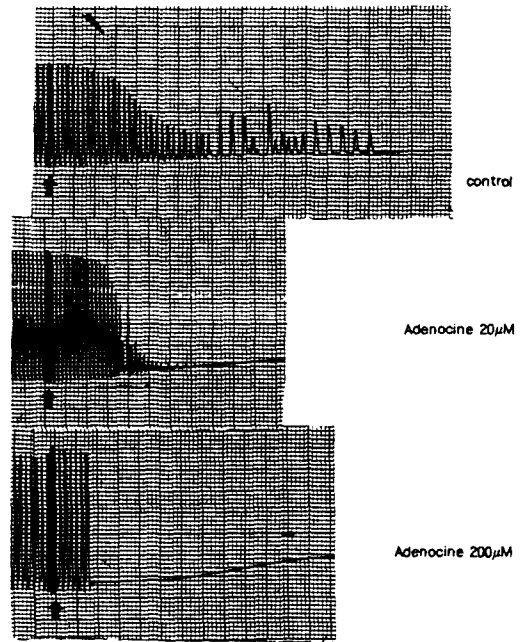


Fig. 3. Arrest beats during cardioplegia

Table 5. Time to cardiac arrest after infusion of cardioplegic solution

Cardioplegic solution	Time to cardiac arrest
Control	8.32±1.96
Adenosine 20µM /L	6.96±1.72
Adenosine 200µM /L	1.95±1.25

+25.18, A20군에서 267.50+17.51, 그리고 A200군에서 257.90+12.26/분이었으며 재관류에서 250.20+11.16 (93.96+8.24%), 그리고 A200군에서 247.

Table 4. Cardiac arrest time, number of arrest beats, number of escape beats, and total number of beats during cardioplegia

Cardioplegic solutions	Time to cardiac arrest(sec)	No of arrest beats	No of escape beats	Total No of beats during cardioplegia
Control	8.32 ±1.69	24.0 ±3.3	6.7 ±1.25	30.7 ±4.25
Adenosine 20 µM /L	6.96 ±1.72	15.7 ±2.26	4.4 ±2.17	18.1 ±6.67
Adenosine 200 µM /L	1.95 ±1.25	5.4 ±1.35	0.4 ±0.29	5.8 ±1.93

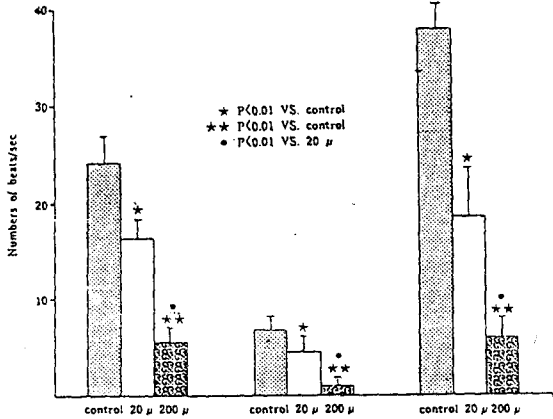


Fig. 4. Number of arrest beats, No of escape beats, and total No of beats during cardioplegia No of arrest beatsNo. of escape beats Total No of beats during cardioplegia

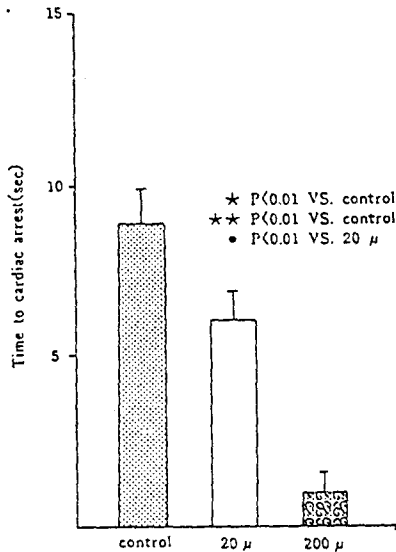


Fig. 5. Cardiac arrest time

Table 6. Recovery of heart rate after 40 minutes of ischemia (beats /min)

Cardioplegic solution	heart rate of preischemia	heart rate after 40 min of ischemia	%
Control	275.0 ±25.18	257.3 ±22.43	93.75 ±5.48
Adenosine 20 μM /L	267.5 ±17.51	250.2 ±11.16	93.96 ±8.24
Adenosine 200 μM /L	257.9 ±12.26	247.4 ±9.06	90.07 ±4.69

40+9.06 (96.07+4.69) /분의 회복률을 보여 통계적 유의성은 없었다 (Table 6), (Fig. 6).

6. 심장지액 투여시 관상동맥관류량

허혈상태이전의 관상동맥관류량은 대조군에서 14.30 +1.94, A20군에서 13.89+1.41, 그리고 A200군에서 14.37+1.95mm1 /분이었으며 심장지액을 투여하는 동안의 관상동맥관류량을 측정 한 결과 대조군에서 21.80+4.30 (156.73+48.12%), A20군에서 21.55+3.06 (157.13+31.63%), 그리고 A200군에서 21.97+1.98 (156.47+32.67%)ml /분의 변화를 보여 허혈상태 이전보다 관상동맥관류량이 증가하였음을 알 수 있으나 각 군 사이에 통계적 유의성은 없었다. 즉, adenosine에 의한 심장지액 투여시 관상관류량의 증가는 관찰되지 않아 adenosine이 potassium 심장지액과 동시에 투여될 경우 관상혈관의 저항에 특별한 영향을 미치지 않는 것으로 사료되었다 (Table 7).

7. 재관류후 관상동맥관류량

40분간의 허혈상태후 재관류 15분과 30분에 있어서 관상동맥관류량은 대조군에서 각각 15.60+3.51 (119.09+32.80%), 15.63+3.70 (111.73+35.76%)였고

Table 7. Recovery of coronary flow during initial cardioplegia and postischemic reperfusion period

Cardioplegic Solution	Coronary flow of preischemic period	Coronary flow during cardioplegic period		Coronary flow during postischemic reperfusion period			
			%	15minute %	30minute %		
Control	14.3 ±1.94	21.8 ±4.3	156.74 ±48.12	15.6 ±3.51	119.09 ±32.8	15.63 ±3.7	111.73 ±35.76
Adenosine 20 μM /L	13.89 ±1.41	21.55 ±3.06	157.13 ±32.63	15.0 ±2.25	109.78 ±26.88	15.32 ±2.29	112.12 ±26.95
Adenosine 200 μM /L	14.37 ±1.95	21.97 ±1.98	156.47 ±32.67	15.59 ±1.97	110.38 ±10.35	15.46 ±2.11	109.91 ±24.02

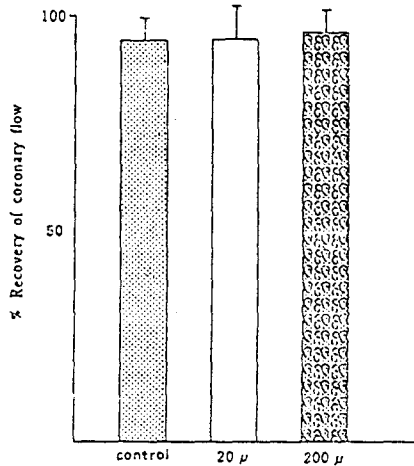


Fig. 6. Heart rate

A20군에서 각각 15.00±2.25 (109.78±26.88%), 15.32±2.29 (112.12±26.95%)였으며 A200 군에서는 각각 15.59±1.97 (110.38±20.35%), 15.46±2.11 (109.91±24.02%)ml/분으로 허혈상태이전보다 관상동맥 관류량이 다소 증가하였으나 각 군 사이에 통계적 유의성은 없었다(Table 7), (Fig. 7).

8. 좌심실 수축력의 변화 (developed pressure)

허혈상태이전의 좌심실의 수축력은 대조군에서 137.10±13.58, A20군에서 148.20±15.24, 그리고 A200군에서 137.00±16.36mmHg였으며 재관류후 15분과 30분에서 좌심실의 수축력의 변화는 대조군에서 각각 45.70±14.88 (34.05±12.94%), 64.40±16.61 (47.73±13.4%), A20군에서 64.30±17.14 (44.27±13.4%), 94.00±18.28 (64.12±14.62%)였으며 A200군에서는 74.80±11.00 (55.44±10.75%), 102.50±13.68 (75.03±16.95%)mmHg로 재관류후 15분에서 A200군 그리고 재관류후 30분에서 A20군과 A200군 모두

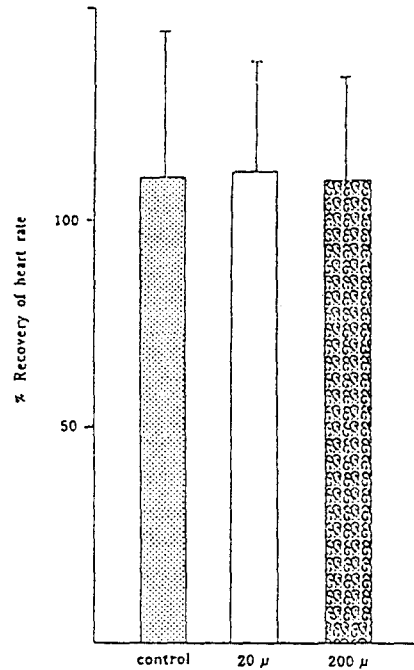


Fig. 7. Coronary flow

에서 수축력증가의 통계적 유의성을 보였다 (P<0.01) (Table 8), (Fig. 8).

9. 좌심실의 수축력 변화 (developed pressure X 심박동수 : DP X HR)

DP X HR의 회복률은 재관류후 15분과 30분에서 각각 대조군에서는 30.96±11.93, 44.97±14.72%, A20군에서는 41.51±13.85, 60.43±15.28%, 그리고 A200군에서는 51.82±8.58, 72.06±7.10%로 재관류후 15분과 30분에서 대조군에 비해 A20군 (P<0.05)과 A200군 (P<0.01)모두에서 수축력 증가의 통계적 유의성을 보였다 (Table 9), (Fig. 9).

Table 8. Recovery of left ventricular developed pressure after 40 minute of ischemia

Cardioplegic solution	developid pressure of preischemia	developed pressure of reperfusional period			
		15 minute	%	30 miunte	%
Control	137.1 ±13.38	45.7 ±14.88	34.05 ±12.94	64.4 ±16.61	47.73 ±13.84
Adenosine 20 μM /L	148.2 ±15.24	64.3 ±17.14	44.27 ±13.84	94.0 ±18.28	64.12 ±14.62
Adenosine 20 μM /L	137.0 ±16.36	74.8 ±11.0	55.44 ±10.75	102.5 ±13.68	75.03 ±16.95

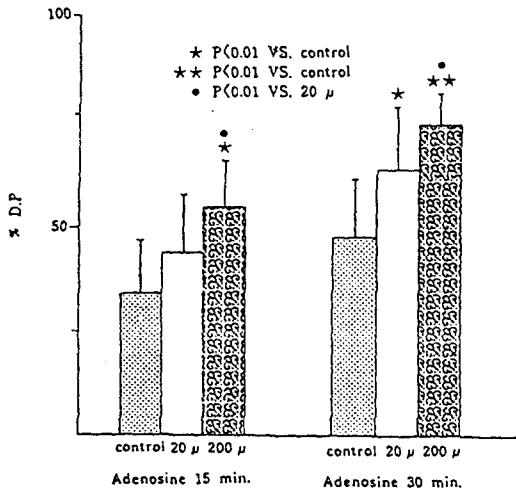


Fig. 8. Recovery of developed pressure with time of reperfusion (% D.P. percent of developed pressure compared with pres ischemic baseline level)

Table 9. % Recovery of developed pressure \times heart rate after 40 minute of ischemia

Cardioplegic solution	% recovery of D.P \times H.R after reperfusion	
	15 minute	30 minute
Control	30.96 \pm 11.93	44.97 \pm 13.72
Adenosine 20 μ M /L	41.51 \pm 13.85	60.43 \pm 15.28
Adenosine 20 μ M /L	51.82 \pm 8.58	72.06 \pm 7.10

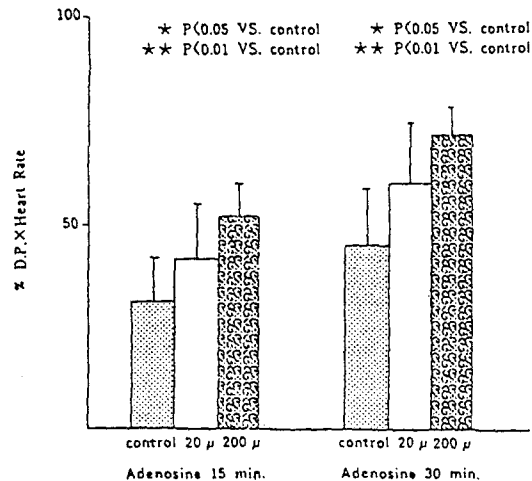


Fig. 9. % Recovery of developed pressure \times heart rate with time of reperfusion

10. 좌심실의 +max dP / dt

허혈상태이전의 좌심실의 +LV max dP /dt는 대조군에서는 2090.00+280.67, A20군에서는 2102.00+309.52, 그리고 A200군에서는 2137.00+436.34 mmHg / 초였으며 재관류후 30분에서는 대조군에서는 1180.00+286.90 (55.98+8.11%), A20군에서는 00+136.36 (58.85+9.68%), 그리고 A200군에서는 1572.00+349.86 (73.78+7.57%)mmHg / 초로 A200군에서 좌심실의 수축력이 더 좋은 통계적 유의성을 보였다(P<0.01) (Table 10), (Fig. 10).

11. 좌심실의 허혈성 경축

좌심실의 허혈성 경축 발생시점은 대조군에서 29.63+1.47, A20군에서는 32.17+1.91, 그리고 A200군에

Table 10. Recovery of coronary flow during initial cardioplegia and postischemic reperfusion period

Cardioplegic solution	Preischemic period	Postischemic period	% Recovery
Control	1090.0 \pm 280.67	1180.0 \pm 286.9	55.98 \pm 8.11
Adenosine 20 μ M /L	2102.0 \pm 309.52	1212.0 \pm 136.36	58.85 \pm 9.68
Adenosine 20 μ M /L	2137.0 \pm 436.34	1572.0 \pm 349.86	73.78 \pm 7.57

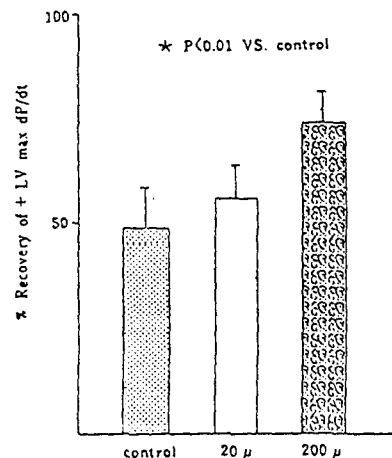


Fig. 10. % Recovery of + LV max dP /dt after 40 minutes of ischemia

서는 34.13±1.76분으로 A20군과 A200군에서 대조군에 비해 늦게 허혈성 경축이 발생하였으며 (P<0.01) 허혈성 경축의 정도는 대조군에서 42.40±2.59, A20군에서 39.50±4.81, 그리고 A200군에서 23.15±6.29mmHg로 A200군에서 허혈성 경축이 훨씬 완화되었다(P<0.01) (Table 11), (Fig. 11, 12).

12. 심근내 ATP 함유량의 변화

Table 11. The time to onset of ischemic contracture and degree of contracture

Cardioplegic solution	Time to onset of ischemic contracture(min)	Degree of ischemic contracture(mmHg)
Control	29.63 ± 1.47	24.4 ± 2.59
Adenosine 20 μM/L	31.17 ± 1.91	39.5 ± 4.81
Adenosine 200 μM/L	33.13 ± 1.76	23.25 ± 6.29

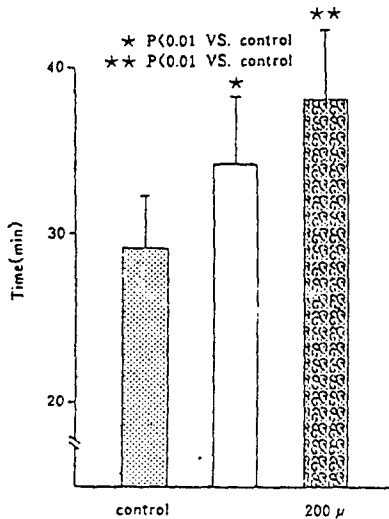


Fig. 11. The time to onset of ischemic contracture

40분간의 허혈성 심정지후 심근내 ATP 함유량은 대조군에서 2.07±0.19, A20군에서 2.51±0.15, 그리고 A200군에서 3.44±0.26 μM /gm of wet weight로 A200군에서 훨씬 많은 심근내 ATP 함유량을 보였다 (P<0.01) (Table 12), (Fig. 13).

13. 심근내 creatinephosphokinase 함유량의 변화

40분간의 허혈성 심정지후 심근내 creatinephosphokinase 함유량은 대조군에서 44.66±4.82, A20군에서 52.03±7.44, 그리고 62.43±8.62IU /mg tissue로 A200군에서 비교적 많은 심근내 creatinephosphokinase1 함유량을 보였다(P<0.05) (Table 12), (Fig. 14).

14. 심근내 MDA 함유량의 변화

40분간의 허혈성 심정지후 심근내 MDA 함유량은 대조군에서 7.63±0.82, A20군에서 8.95±0.63, 그리고

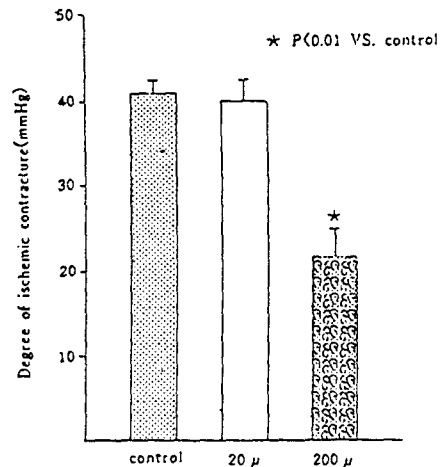


Fig. 12. The degree of ischemic contracture

Table 12. ATP Creatinephosphokinase and MDA value in myocardium after 40 minute of ischemiaThe time to onset of ischemic contracture and degree of fia

Cardioplegic solution	ATP (μM /gm of wet wt)	Creatinephospho kinase(l.u /mg tissue)	MDA (μMg / tissue)
Control	2.07 ±0.19	44.66 ±4.82	7.63 ±0.82
Adenosine 20 μM/L	2.51 ±3.44	52.03 ±62.43	8.95 ±7.21
Adenosine 200 μM/L	3.44 ±0.26	62.43 ±8.62	7.21 ±0.46

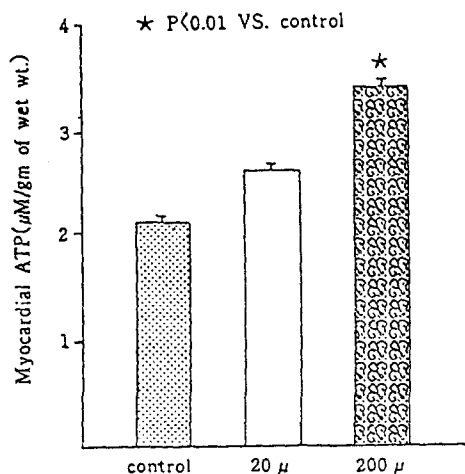


Fig. 13. ATP in myocardium after 40 minutes of ischemia

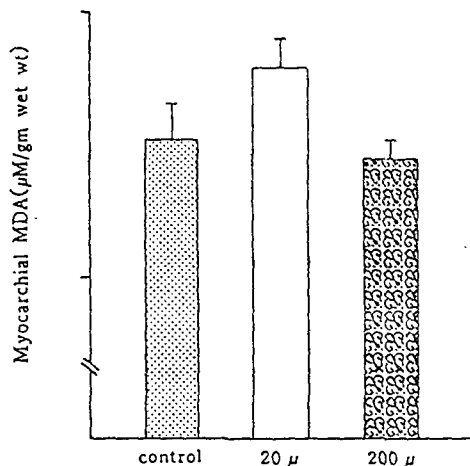


Fig. 15. MDA in myocardium after 40 minute of ischemia

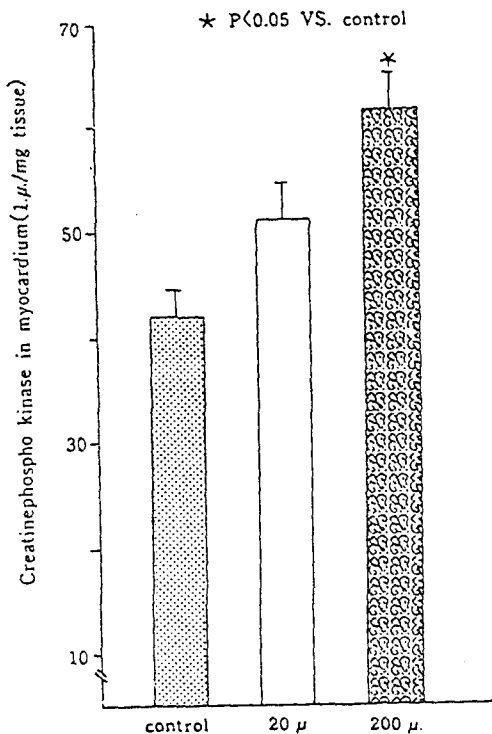


Fig. 14. Creatinephosphokinase in myocardium after 40 minutes of ischemia

고 A200군에서는 $7.21 \pm 0.46 \mu\text{M} / \text{gm tissue}$ 로 심근내 MDA 함유량은 각 군 사이에 통계적 유의성은 보이지 않았다 (Table 12), (Fig. 15).

고 안

이 실험의 결과 Adenosine을 함유한 심정지액은 37℃의 40분간의 ischemia에 노출된 적출원위의 심장 에서 기능회복과 ATP 보존이 상당히 개선됨을 보여 주었다. 심근은 산소 소모율이 가장 높으며 신체의 다른 부위에 비해 동맥산소의 extraction률이 가장 큰 조직이다. 산소의 extraction이 약 70%정도인데 반해 탄소기질은 10%이하로 ischemia때 탄소기질의 공급이 적어 ATP 생성이 제한된다고는 생각되지 않는다. 그러나 산소 공급이 감소되게 되면 궁극적으로 심장의 모든 대사와 기능의 과정에 영향을 미치게 되며 electron transport를 통한 slow flux가 mitochondria와 cytosolic compartment에 NADH의 축적을 조장하게 된다. 따라서 mitochondria내에 NADH가 증가하게 되면 citric acid cycle, pyruvate oxidation, 그리고 fatty acid의 beta oxidation등을 억제 시키게 된다. 그리고 cytosol내에 NADH가 증가하게 되면 lactate 생성이 증가하고 glycolysis에 의한 ATP의 anaerobic 생성을 억제시킨다^{17,70)}. oxidative metabolism이 감소하게 됨으로 나타나는 대단히 중요한 결과 중의 하나는 ATP, ADP, 그리고 AMP의 총 pool에서 adenine nucleotide의 not loss이다. ischemia시 심장에서 ATP의 precursor의 catabolism이 일어나는 것은 오랫동안 알려져 왔으며 Benson등은 이때문에 ATP의 재생이 제한된다고 하였다¹⁸⁾. ATP는 ADP로 가수분

해되며 adenylate kinase에 의해 그 ADP는 ATP와 AMP로 변하여 tissue내 AMP의 량이 증가하게 된다. AMP가 증가하게 되면 그 대사산물인 adenosine, inosine, hypoxanthine등이 만들어지며 phosphorylated uncleotide와는 달리 이러한 dephosphorylated 대사물은 세포막을 통과하여 세포에서 소실하게 된다. Adenine nucleotid 대사물의 제거는 결국 adenine nucleotide의 net loss를 초래한다¹⁹⁾. Reibel등은 isolated rat model에서 adenosine을 infusion함으로 ATP의 재생이 개선되며 exogenous ATP는 세포막을 통과할 수 없으며 세포막에 있는 ATPase에 의해 파괴되기 때문에 ATP level의 회복에는 효과적이지 못하다고 하였다²⁰⁾. 이러한 uncleotide의 대사산물인 adenosine은 강력한 coronary vasodilator의 특성을 갖고 있으며 coronary blood flow의 생리적 조절을 담당하고 coronary resistance의 metabolic control을 담당한다⁵⁾. adenosine의 rat의 정상 농도는 0.1-0.3 μ M/L이며 이 이상의 농도에서는 vasodilatation이 생길 수 있는데 Sollevi와 Spark등의 실험에서 adenosine을 0.25 μ M에서 0.5 μ M로 배로 하였더니 vasodilatation이 약 50%정도 증가하였다는 보고를 하였다^{20,21)}. 본 실험의 예비실험에서 관상관류량이 20 μ M/L 용액에서는 약 50% 증가하였고 200 μ M/L 용액에서는 약 60% 증가하였음을 보여주었다. 그러나 심정지액에 adenosine을 20 μ M/L, 200 μ M/L를 첨가하여 심정지액 투여시 대조군에 비해 관상관류량의 증가가 없는것으로 보아 심정지액 투여시 adenosine의 혈관 확장효과가 추가되지 못함을 보여주었다. 그리고 adenosine의 심장에 대한 다른직접적인 효과는 일시적인 negative chromotropic and dromotropic effect가 있다. 이것은 사람을 포함한 많은 species에서 보고되었다^{22,23,24)}. Adenosine이 일시적으로 sinoatrial node와 atrioventricular node 둘다에 영향을 줄 수 있으며 이러한 영향은 vagal mechanism에 의한 것이 아니라는 증거가 있다. 마지막으로 adenosine은 myocardial contractility에 대해 negative inotropic action을 나타내는데 아마도 antiadrenergic mechanism을 통해서인 것 같다²⁵⁾. 최근 연구에 의하면 adenosine은 B-receptor-dopendent adenylate cyclase activity를 약화시켜 B-adrenergic-mediated contractile response에 대해 negative feedback modulator로도 역할을 한다고 한다. 학자에 따라서는

adenosine이 positive inotropic effect가 있음을 보고 하며 본 예비실험에서도 약간의 positive inotropic effect가 관찰되었다.

Stephen등은 adenosine의 부작용으로 hypotension, bradycardia, 그리고 renal vasoconstriction등이 있다고 보고했다²⁶⁾.

Adenosine이 inosine이나 hypoxanthine에 비해 좋은 이유는 nucleotide합성이 비교적 쉽기 때문인데 adenosine은 adenosine kinase에 의해 빠르게 AMP로 phosphorylation되는데 비해 inosine에 대해서는 이러한 효소가 없으며 또한 inosine이 adenosine으로 재전환 할 수 없기 때문이다²⁷⁾. High energy phosphate compounds는 심근의 수축과 이완 그리고 cellular integrity의 유지에 필수적이므로 high energy phosphate compound의 감소는 심근세포에 상당한 영향을 줄 수 있다. 심근내 ATP량의 감소는 ischemia후 좌심실 기능의 불완전한 회복과 비례한다는 보고가 있다²⁸⁾. 심장의 기능회복은 ATP, ADP, AMP와 adenosine의 총량에 의해서가 아니고 재관류시 ATP의 조직량에 주로 의존한다²⁹⁾. Cardiac ischemia의 subcellular effect에 대한 많은 연구 결과가 역성 상태에서 비가역성 상태로 전환되는 경우 이에 대해 mitochondrial dysfunction¹⁹⁾, membrane damage로 인한 세포부종^{30,31)}, 세포내 acidosis³²⁾, 그리고 ATP precursor의 소실등의¹⁸⁾ 여러가지 이론이 제기되었는데 ischemia후 adenosine nucleotide의 회복은 2가지 주요경로로 이루어지는데 첫째는 nucleotide pool의 합성과 재생에 의한 것이다. 그러나 이 경로는 극히 느리며 총 nucleotide pool의 0.4%만이 시간당 재합성된다. 만약 ATP level이 허혈상태 이전의 반으로 준 경우 이러한 경로를 통해 ATP level이 완전 회복되기 위해서는 약 1주일 이상이 소요된다는 계산이 된다. 두번째는 첫번째보다는 훨씬 효율적 방법으로 salvage pathway이다 이 경로는 효소 adenosine kinase에 의해 adenosine을 adenosine monophosphate로 rephosphorylation시켜 ATP 재생을 가능하게 하는 경로이다. 그래서 phosphorylation에 필요한 세포내 adenosine을 이용할 수 있다면 대단히 효율적이며 시간 또한 빠른 경로이다³³⁾. 만약에 ischemia후 extracellular space에서 adenosine을 washout시키게 되면 이러한 nucleotide의 precursor인 adenosine을 salvage pathway에서 이용할 수 없게 된다. 그외 다

른 2가지의 salvage pathway가 있는데 adenine 이나 hypoxanthine을 PRPP(phosphoribosylpyrophosphate)와 condensation시켜 AMP와 IMP를 각각 만들게 된다는 것이다^{34,35,36,37,38,39}. 최근의 실험에서 ATP의 불충분한 재생은 mitochondria의 dysfunction 보다는 ATP precursor인 Adenosine을 이용할 수 없기 때문임을 보여주었다^{40,41}.

효소를 이용한 측정법으로 세포내 adenosine을 이용한 adenosine salvage rate는 기질로서 세포의 adenosine에 의존한 경우보다 약 8배정도 됨을 보여 주었다. 이러한 통계로 미루어 볼 때 myocyte cell wall을 통한 adenosine의 운반율이 extracellular source를 이용한 adenosine의 salvage pathway에 limiting step으로 생각된다. 따라서 세포내 adenosine이 high energy phosphate의 가장 좋은 기질이며 이상적인 것은 ischemia동안에 adenosine의 총량을 증가시키던지 혹은 adenosine이 myocyte를 떠나지 못하도록 함으로 고농도의 세포내 adenosine을 유지하도록 하는 것이라 생각한다. Mature rat cardiac myocyte에 대한 실험에서 adenosine influx는 Michaelis-Menten 상수(K_m) 6.2 μM로 transport system이 포화되면서 일어나게 되며 최대 속도는 0.96 pM / mg / s 된다는 것을 알게 되었다²⁶. transport system을 통해 세포내로 옮겨진 adenosine은 adenosine monophosphate로 빠르게 phosphorylation되며 세포의 adenosine의 농도가 32 μM 이하가 되면 transport system을 통해 세포내로 옮겨지자 곧 adenosine monophosphate로 phosphorylation되어 세포내 adenosine 농도의 증가는 거의 없게 된다. 그러나 32 μM 이상의 농도에서는 세포내 adenosine이 축적 되게 된다. 그래서 adenosine의 농도가 100 μM 이상이 되면 nonsaturable component의 adenosine이 myocyte내로 옮겨진다는 증거가 있다. 이때 adenosine의 운반은 mass action에 의한 것으로 생각된다. Stven 등이 저체온하에서 adenosine을 ATP의 precursor로 이용하여 global ischemia 후 기능회복을 개선시켰다는 것과 Foker, Enzig 그리고 Wang등이 adenosine을 adenosine deaminase inhibitor인 EHNA등을 함께 이용할때 심근내 ATP 보존효과가 대조군에 비해 개선되었다는 보고를 하였다. 그리고 본 저자의 경우는 정상체온에서 40분간의 허혈상태후 심근내 ATP 함유량은 대조군에 비해 adenosine 200 μM / L군에서 약 75%정도

높게 측정되었다. 이상의 실험 결과를 미루어 볼 때 산소가 없는 상황에서도 adenosine은 ATP의 net degradation을 억제할 수 있으며 이러한 효과의 기전은 자세히는 알 수 없으나 adenosine이 ATP의 파괴를 억제하거나 anaerobic 상태에서 ATP의 생산을 자극하기 때문으로 생각된다.

본 실험에서는 St. Thomas 심정지액에 adenosine 20 μM / L와 200 μM / L를 각각 첨가하여 두 실험군으로 나누었는데 이는 본 실험의 예비 실험에서 adenosin 200 μM / L군에서는 좌심실 수축력이 10% 증가하였고 50%의 관상관류량이 증가하였으며 심박동수는 변화가 없었다. 또한 adenosine 200 μM / L군에서는 좌심실 수축력이 20% 증가했고 관상관류량은 160% 증가하였으며 심박동수는 50%로 감소하였다. 따라서 본 실험에서는 심박동수에 변화가 없는 저농도와 심박동수가 50% 정도 감소하는 고농도의 adenosine을 나누어 사용하므로 어느정도 효과가 있는지 알고져하였다. 다른 저자는 isolated, isovolumetrically contracting rat heart에서 10분간의 global nor-mothermic ischemia시 adenosine을 100 μM 첨가시 좌심실 기능회복과 ATP의 재생이 증가되었으며 이러한 결과는 100 μM의 adenosine이 ischemia중 ATP의 net degradation을 감소시키고 재관류시 ATP의 재생을 촉진시켰기 때문으로 보고하였다⁴². 또 다른 저자는 iso-lated working heart에서 adenosine을 10 μM 혹은 80 μM EHNA (erythro-9,2-hydroxy-3-nonyl adenine hydrochloride, an adenosine deaminase inhibitor) 첨가시켰을 때 30분간의 허혈동안 myocyte내 adenosine level의 감소를 방지할 수 있었다고 하였으며 이 때 조직 ATP량은 1 μM / g 이상으로 이것이 재관류시 기능회복의 현저한 개선에 기여했다고 보고 했다²⁹. 그리고 Diane등⁴³은 [8-14℃] adenosine이 aerobic hear에서 adenine nucleotide로 incorporation되는데 최고 속도는 45 μM / g dry tissue / min으로 Namm등⁴⁴의 20 μM salvage pathway의 rate limiting step의 포화는 adenosine 20 μM 근처에서 생기며 50, 100, 200 μM / L adenosine으로 관류시 adenosine의 incorporation의 rate는 일정하였으나 adenosine 농도의 증가에 따라 deaminated adenosine metabolite가 증가하였는데 이는 adenosine deaminase가 포화되지 않았음을 의미한다고 할 수 있다. ischemia가 시작될 때 ade-

nosine pathway는 $20\mu\text{M}$ 의 adenosine에 의해 포화되어 AMP의 feedback 조성질 때문에 조기의 ATP 분해율을 느리게 할 수 있다²⁸⁾. 이 실험에서 St. Thomas cardioplegic solutions에 adenosine $200\mu\text{M}/\text{L}$ 을 첨가한 군에서 빠른 심정지와 심근내 ATP량의 양호한 보존효과의 소견을 보였다. postis-chemic hemodynamic recovery도 또한 adenosine $200\mu\text{M}/\text{L}$ 군에서 좋았다.

Adenosine cardioplegic solution 주입후 빠른 심정지의 기전은 adenosine량에 비례하여 K의 투과도가 증가하여 심방과 sinus node조직의 hyperpolarization을 유발하여 심방의 action potential을 억제하고 방실 차단을 유발시키는 것과^{45,46)} calcium influx가 감소됨으로 negative inotropic effect를 유발시키는 것으로 생각된다^{47,48,49)}. cardiac arrest까지 총 beats의 수는 Adenosine $200\mu\text{M}/\text{L}$ 가 adenosine $20\mu\text{M}/\text{L}$ 에 비해 훨씬 적어서 매우 빠른 심정지를 유도할 수 있었다. 이 실험의 모델에서 adenosine의 작용기전은 아마도 세포내 adenosine의 이용도가 증가하여 ATP가 재생되고 결국 더 나은 좌심실의 기능회복이 초래될 수 있었던 것으로 생각되며 다른 저자는 이러한 작용기전에 adenosine은 허혈상태 동안에 ATP의 파괴를 차단시켜 재관류후 ATP량을 보다 높게 유지시켜 줄 수 있다고 보고 하였다⁵⁰⁾.

Adenosine에 의한 심근내 ATP 량의 보존은 빠른 심정지에 의해 설명될 수 있으며 adenosine은 허혈상태에서 심근내 ATP의 not degradation을 느린 속도로 일어나게 한다고 할 수 있다. 최근 보고에 의하면 adenosine이나 EHNA를 허혈전 관류시키면 30분간의 global ischemia후 'no-reflow의' subendocardial area가 증가하므로 이를 방지하기위해 허혈전 low calcium solution으로 허혈전 관류시킴으로 심실기능의 완전한 회복과 심근내 ATP 보존효과를 얻을 수 있었다^{51,52)}. low calcium농도가 조직 ATP량을 대조군에 비해 높게 유지하는 이유는 첫째 세포외액에 calcium이 2.4mM 에서 0.05mM 까지 심근수축을 즉시 중지시키므로 허혈시 초기에 유효한 ATP를 보존하게 되며 둘째는 0.05mM calcium으로 허혈전 관류시키게 되면 허혈성 경축을 크게 감소시켜⁵²⁾ ATP의 분해를 감소시키고²¹⁾ vascular patency의 소실을 감소시키게 되기 때문이다⁵²⁾. 좌심실의 기능회복을 위한 심근내 ATP량에 대한 연구에서 rat와 dog의 경우 허혈후

20-30분이내에 ATP량이 $1\mu\text{M}/\text{gm}$ 으로 떨어졌으며 functional recovery는 불가능했으며⁵³⁾ 세포괴사가 발견되었다⁴⁾. Kao와 magovern은⁵⁴⁾ adenosine을 cardioplegic solution에 첨가하여 주입한 후 60분간 ischemia후에 ATP가 보존되는 것을 보였다. 저자의 실험에서도 adenosine $200\mu\text{M}/\text{L}$ 군에서는 대조군과 adenosine $20\mu\text{M}/\text{L}$ 군에서 보다 ATP 보존량이 상당히 높았음을 보여주고 있다. postischemic phosphocreatine value가 ischemia동안에 심근보호의 정도를 보는데 보다는 parameter라는 보고가 있으나 본 실험에서는 이를 측정하지 못했다.

Potassium cardioplegic solution은 cardiac arrest의 시간이 길었고 myocardial ATP level도 낮았다. 그리고 postischemic functional recovery도 저하되었다. potassium cardioplegic solution은 1955년 Melrose⁵⁵⁾가 처음으로 사용한 이후 많은 다른 solution, infusion style 그리고 첨가물이 개발되어 현재 사용되고 있다.

High K cardioplegia 때는 diastolic arrrest⁵⁶⁾가 초래되는데 이는 membrane의 depolarization과 sodium influx의 감소로 action potential duration에 변화가 초래되기 때문이다^{56,57,58)}. cardioplegic solution에 사용되는 K의 농도는 15에서 $40\text{mM}/\text{L}$ 사이에 다양하다⁵⁶⁾.

K의 농도가 높을수록 myocardial wall tension의 증가와 세포내 Calcium의 축적때문에^{59,60)} saroplasmic reticulum의 calcium pump를 자극하여 calcium pump activity의 증가로 인해 tension independent high energy phosphate의 소모가 증가된다. 한편 K의 농도가 적으면 membrane을 충분히 depolarization을 시키지 못해 완전한 cardiac arrest가 유발되지 않게 된다. 처음 Melrose solution의 해로운 점은 과도한 K 농도와 hyperosmolality 그리고 cytotoxicity와 관계가 있었다⁶¹⁾. 요즘 흔히 사용되는 high K plus hypothermia의 혼용은 에너지 보존을 훨씬 유리하게 해주고 있다^{1,2,3)}.

그러나 hypothermia와 hyperkalemia의 혼용은 이상적이지는 못하다는 보고가 있다.

첫째 허혈심정지동안 low-amplitude의 심방전기 활동이 어느정도 있으며^{62,63)} 둘째 어느정도의 K 정도가 회복기 동안 ATP level을 감소시킬수 있으며⁶⁴⁾ 셋째 hypothermia plus hyperkalemia가 심정지 유도를 비

교적 느리게 유발할 수 있으므로 이러한 혼용법이 적당한 심근보호를 유지하지 못한다고 생각된다^{62,63,65}. high external K이 존재할 때 adenosine의 작용기전은 K의 투과도를 증가시켜 out-ward K current를 유발하며 high K solution에 의한 depolarization 상태에서 sinus node의 자연 탈분극을 억제하기 때문으로 생각되는데⁶⁶ 심정지를 위해 adenosine과 K의 혼용은 빠른 심정지유도에 adenosine을 단독으로 사용한 경우만큼 효과가 있으나 hemodynamic recovery나 biochemical status는 adenosine과 K 혼용에 의해 개선되지 않았으며 이에 대한 이유로는 세포막이 K에 의해 탈분극되며 adenosine에 의해서는 hyperpolarization 되기 때문이며 resting membrane potential에 대한 K와 adenosine 혼용의 효과를 결정하기 위해 electrophysiologic study가 필요하며 adenosine과 K의 혼용은 ischemia동안 불완전한 심정지를 유발시키며 회복기 동안 ATP value가 감소했다는 보고가 있다⁶⁷. 따라서 adenosine 단독 사용이 adenosine과 K의 혼용에 비해 효과가 우수하다고 주장하였다. 그러나 본 실험에서는 Thersten등⁶⁷이 실험한 고농도의 adenosine (10mM/L) 만으로 심정지를 유도시켜 보지 않았으나 K와 adenosine 200 μ M/L 혼용한 경우 K 만을 이용한 경우보다 훨씬 빠른 심정지를 관찰할 수 있었다⁶⁶.

Stephen등은 adenosine을 rat heart에 응용한 실험에서 global ischemia를 약 10분간 시키고 난 후 myocardial ATP를 측정된 결과 adenosine을 투여한 군에서 adenosine을 투여하지 않은 군에 비해 ATP 함유량이 훨씬 높음을 발견하게 되었다. adenosine salvage mechanism은 mitochondria에서 ATP를 재생하기 위해서는 산소를 필요로 하게 되지만 10분간의 anoxia후 adenosine 투여군에서 심근내 ATP가 훨씬 높게 측정됨으로 ischemia 동안의 adenosine effect를 알기 위해 ischemic contracture protocol을 고안하게 되었는데 이러한 ischemic contracture model을 이용해 ischemia에 대한 myocardium의 tolerance의 upper limit 즉 contracture가 비가역적 상태가 되며 ATP량이 critical level로 감소되어 noncontractural 상태가 더 이상 유지될 수 없고 calcium-independent rigor complex가 형성되는 경우를 functional assessment 하였다^{20,68}. Hearse등²¹은 ischemic contracture의 발생 시간을 지연시키는데 ATP의 ana-

erobic production의 중요성을 밝히며 net ATP degradation의 정도와 contracture 정도와는 밀접하게 관련되어 있다고 했다. Stephen등²⁰의 실험에서 adenosine은 ischemic contracture의 발생시간을 약 50% 정도 지연시킬수 있었고 contracture의 종결까지의 시간도 비슷한 정도로 지연시킬 수 있었다. 본 저자의 실험에서는 허혈성 경축 발생시간이 대조군에서는 29.63 \pm 1.47분, adenosine 20 μ M/L군에서는 31.17 \pm 1.91분 그리고 adenosine 200 μ M/L군에서는 33.13 \pm 1.76분으로 Stephen등의 실험결과와 일치하지는 않았으나 통계적으로 유의한 결과를 나타내었다. 허혈성 경축의 정도는 adenosine 200 μ M/L군에서 대조군에 비해 50%정도 완화되는 결과를 보였다.

Adenosine이 oxygen free radical scavenger로서의 기능을 나타내는 malondialdehyde(MDA)의 평가에서는 대조군에 비해 유의한 차이를 나타내지 않았다.

이러한 결과를 임상적 상황에 대해 추정하는 것은 상당한 주의를 요한다. 특히 다량의 adenosine을 bolus로 주입하면 동통과 불쾌감을 초래할 수 있다^{66,69}. 또한 임상에서 adenosine이 angina pectoris like pain을 유발시킬수 있다는 보고가 있다. 그러나 현재의 실험결과는 adenosine이 cardioplegic agent로 중요한 의의를 갖는다는 것을 증명하며 특히 supraventricular tachycardia치료를 위해 이미 사용되고 있기도 하다⁷⁰.

상기 실험으로 기존의 심정지액에 adenosine을 첨가함으로써 보다 향상된 심근보호효과가 있음을 증명하였으나 이 보호효과가 빠른 심정지 유발에 의한 효과인지 adenosine에 의한 ATP의 보존효과인지 혹은 이 두기전이 합쳐진것인지 알기위해서는 계속적인 실험이 요할 것으로 사료된다.

요 약

저자는 심장에서 관상동맥을 이완시키고 교감신경 말초에서 norepinephrine의 분비를 억제시키며 방실 자극전도와 그 속도를 감소시키고 음성의 심박동효과를 나타내는 것으로 알려져 있는 adenosine을 이용하여 허혈성 심정지시 adenosine 심정지액의 심근보호 효과, 심근내 ATP보존, 그리고 허혈성 심정지후 심근의 기능회복효과를 평가하기 위해 흰쥐 척출심장에서 Langendorff관류장치를 이용하여 대조군, adenosine

20 μ M군, 그리고 Langendorff 관류장치를 이용하여 대조군, adenosine 20 μ M군, 그리고 adenosine 200 μ M군으로 나누어 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 심정지시 심박동수가 adenosine군에서 대조군에 비해 적었으며 완전한 심정지시까지 소요된 시간도 adenosine군에서 대조군에 비해 짧았다. 또한 고농도의 adenosine군에서 저농도의 adenosine군에 비해 심박동수가 적었고 심정지시간이 짧았다.

2. 재관류시 심박동수와 관상동맥관류량의 변화는 adenosine군과 대조군에서 유의한 차이는 보이지 않았다.

3. 허혈성 심정지후 심근의 기능회복은 adenosine군에서 대조군에 비해 우수했으며 또한 고농도의 adenosine군에서 저농도의 adenosine군에 비해 우수했다.

4. 허혈성 심근경축의 발생시간은 adenosine군에서 대조군에 비해 지연되었고 고농도의 adenosine군에서 저농도의 adenosine군에 비해 더 지연되었다. 또한 허혈성 심근경축의 정도는 고농도의 adenosine군에서 대조군과 저농도의 adenosine군에 비해 완화되었다.

5. 허혈성 심정지후 심근내 ATP 함유량은 고농도의 adenosine군에서 대조군과 저농도의 adenosine군에 비해 많았다.

6. 허혈성 심정지후 심근내 creatinephosphokinase의 함유량은 고농도의 adenosine군에서 대조군과 저농도의 adenosine군에 비해 많았다.

7. 허혈성 심정지후 심근내 Malondialdehyde의 함유량은 adenosine군과 대조군사이에 유의한 차이는 없었다.

이상의 결과를 요약해 볼 때 환류 심장에는 adenosine을 심정지역에 함께 투여시 빠른 심정지가 유도되며 허혈성 심근경축의 발생이 지연되며 그 정도도 완화되고 허혈성 심정지후 심근의 기능회복이 우수하고 심근내 ATP량이 높게 유지되며 심근의 손상이 적게 되며 허혈성 심정지후 심장박동수, 관상동맥관류량 그리고 oxygen free radical scavenger의 기능등에는 유의한 변화가 없음을 알수있었다. 아마도 이는 adenosine이 빠른 심정지를 유도하며 허혈성 심정지시 심근내 ATP의 분해를 방지하고 ATP의 기질로서 ATP의 재생에도 관여하는 까닭으로 생각된다.

REFERENCES

1. Flaherty, J.T., Weisfeldt, M.L., Hollis D.P., et al : *Mass spectrometry and phosphorus nuclear magnetic resonance demonstrate additive myocardial protection by potassium cardioplegia and hypothermia during global ischemia. Ad Myocardiol., 2; 487-99, 1984.*
2. Hearse, D.J., Stewart, D.A. and Braimbridge MV. : *The additive protective effects of hypothermia and chemical cardioplegia during ischemic cardiac arrest in the rat. J. Thorac. Cardiovas. Surg., 79: 39-43, 1980.*
3. Rosenfeldt, E.L., Hearse, D.J., Darracott-Canovic, S. et al. : *The additive protective effects of hypothermia and chemical cardioplegia during ischemic cardiac arrest in the dog. J. Thorac. Cardiovas. Surg., 79: 29-38, 1980.*
4. Jannings, R.B., Hawkins, H.K., Lowe, L.E. et al. : *Relation between high-energy phosphate and lethal injury in myocardial ischemia in the dog. Am. j. Pathol., 92: 187-214, 1978.*
5. Berne, R.M., Rubio, R. : *Adenine nucleotide metabolism in the heart. Circ. Res., 35(suppl 3): 109-20, 1974.*
6. Jennings, R.B., Steenbergen, C.J. : *Nucleotide metabolism and cellular damage in myocardial ischemia. Ann. Rev. Physiol., 47: 727-730, 1985.*
7. Ely, S.W., Mentzer, R.M., Lasley, R.D. et al : *Functional and metabolic evidence of enhanced myocardial tolerance to ischemial and reperfusion with adenosine. J. Thorac. Cardiovas. Surg., 90: 549-56, 1985.*
8. Ware, H.B., Kriett, K.B., Einzig, S. et al. : *Adenine nucleotides and cardiac function following global myocardial ischemia. surg. forum., 34: 264-6, 1983.*
9. Kao, R.L., Magovern, G.J. : *Prevention of reperfusional damage from ischemic myocardium. j. thorac. Cardiovas. Surg., 91: 106-14, 1986.*
10. Schrader, J., Rubio, R. and Berne, R. and Berne, R. M. : *Inhibition of slow action potentials of guinea-pig atrial muscle by adenosine. a possible effect on Ca^{2+} influx. J. Mol Cell. Cardiol., 7: 427-33, 1975.*

11. Stafford, A. : *Potentialtion of adenosine and the adenine nucleotides by dipyridamole*. *Br. J. Pharmacol. chemother.*, 28 : 218-27, 1966.
12. Drury, A.N., Szent-Gyorgyi, A. : *The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart*. *J. Physiol. (Lond.)*, 68 : 213/37, 1929/1930.
13. Imamoto, Iwasa, Okunuki. : *磷酸代謝 實驗法*, 廣川書店, 東京, p.52, 1958.
14. Sobel, B.E., Shell, W.W. and Klein, M.S. : *An isoenzyme of creatine phosphokinase associated with rabbit heart mitochondria*. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 4 : 367, 1972.
15. Forster, G., Bernt, E. and Bergmeyer, H.U. : *Creatine phosphokinase determination with creatine phosphate substrate*. In *Methods of Enzymatic Analysis. Vol II, 2nd Ed.*, edited by H.U. Bergmeyer, Academic Press, New York, pp. 789, 1974.
16. Jacob, M.I., Berne, R.M. : *Metabolism of purine derivatives by the isolated cat heart*. *Am. J. Physiol.*, 198 : 323-26, 1960.
17. Benson, E.S., Evans, G.Y. and Hallaway, B.E. : *Myocardial creatine phosphated and nucleotide in anoxic cardiac arrest and recovery*. *Am. J. Physiol.*, 201 : 287, 1961.
18. Jennings, R.B., Kaltenbach, J.P. and Sommers, H.M. : *Mitochondrial metabolism in ischemic injury*, *Arch. Pathol.*, 84 : 15, 1967.
19. Sollevi, A., Torssell, L., Owall, A. et al. : *Level and cardiovascular effects of adenosine in humans*. In : Gerlach, E., Becker, B.F. eds. : *Topics and perspectives in adenosine reserch. proceedings of the 3rd international symposium ine reserch. proceedings of the 3rd international symposium on adenosine*. Berlin : spring Verlag, 599-612, 1987.
20. Sparks H.V. Jr., Bardenheure H. : *Regulation of adenosine formation by the heart*. *Circ. Res.* 58 : 193-201, 1986.
21. Ware, H.B. St., Cry, S.A., Cogordan, J.A. et al. : *Recovery of adenosinenucleotide levels after global myocar dial ischemia in dogs*. *Surg.* 96 : 248-55, 1984.
22. West, G.A., Giles, W., Belardinelli, L. : *The negative chro notropic effect of adenosine in sinus node cells*. In : Ger lach, E., Becker B.F., eds. *topics and perspectives in adenosine reserch. Proceedings of the 3rd international sym posium on adenosine* : Springer, Verlag. 336-43, 1987.
23. Belardinelli, L., West, G.A, Clemo, s. H.E. : *Regulation of atrioventricular node function by adenosine*. In : Gerlach E., Becker, B.F., eds : *Topics and perspectives in adenosine reserch. Proceedings of the 3rd international symposium on adenosine*. Berlin : Springer Verlag, 344-55, 1987.
24. Scholz, H., Bohm, M., Bruckner, R. et al. : *Mechanism of the antiadrenergic effect of adenosine on myocardial force of contraction*. In : Gerlach, E., Becker, B.F., eds. *Topics and perspectives in adenosine reserch. Proceedings of the 3rd international symposium on adenosine*. Berlin : Springer, Verlag, 369-82, 1987.
25. Stephen, W.E., Robert, Robert, D.L. et al : *Funct lonal metabolic evidence of enhanced myocardial tolerance to ischemia and reperfusion with adenosine*. *J. Thorac. Cardiovas. Surg.* 90 : 549-556, 1985.
26. Wiedmeier, V.T., Rubio, R., Berne, R.M. : *Inosine incor poration into myocardial nucleotides*. *J. Mol Cell Cardiol.*, 4 : 445-452, 1972.
27. Reibel, D.K., Rovetto, M.J. : *Myocardial ATP synthesis and mechanical function following oxym deficiency*. *Am. J. Physiol.*, 234 : H 620-4, 1984.
28. Humphrey, S.M., Seelye, R.N., Phil, D. : *Improved functional recovery ischemic myocardium by suppression of adenosine catabolism*. *J. Thorac. Cardiovas. Surg.* 84 : 16-22, 1982.
29. Leaf, A. : *Maintenance of concentraion gradients and regnlation of cell volume*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 72 : 396, 1979.
30. Whalen, D.A. Jr., Hamilton, D.G., Ganote, E., jennings, R.B. : *Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells*. *Am J. Pathol.*, 74 : 381, 1974.
31. Steenborg, C., Deleeun, C., Deleeun, G., Rich, T. et al. : *Effects of acidosis and Ischemia on contractility and intracellular PH of rat heart*. *Circ. Res.*, 41 : 849, 1977.
32. Zimmer, H.G., Trendelenburg, C., kammereir, H. et al. : *Denove synthesis of myocardial adenine nucleotides in the rat*. *Cir. Res.*, 32 : 635-42, 1973.
33. Goldthwait, D.A. : *Mechanisms of synthesis of purine nucleo-tides in heart muscle extracts*. *J. Clin. Invest.*, 36 : 1572-79, 1977.

34. Tsuboi, K.K., Buckley, N.M. : *Metabolism of perfused C₁₄-labeled nucleosides and bases by the isolated heart.* *Circ. Res.*, 16 : 343-52, 1965.
35. Liu, M.S., Feinberg, H. : *Incorporation of adenosine-8-C₁₄ and inosine-8-C₁₄ into rabbit heart adenine nucleotides.* *Am. J. Physiol.*, 220 : 1242-84, 1972.
36. Weidmeir, V.T., Rubio, R., Berne, R.M. : *Incorporation and turnover of adenosine-U adenosine-U-14c in perfused guinea pig myocardium.* *Am. J. Physiol.*, 223 : 51-54, 1972.
37. Jacob, M.I., Berne, R.M. : *Metabolism of adenosine by the isolated anoxic cat heart.* *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 107 : 738-39, 1981.
38. Namm, D.H. : *Myocardial nucleotide synthesis from purine bases and nucleosides.* *Circ. Res.*, 23 : 686-695, 1973.
39. De Witt, D.F., Jochim, K.E., Behrendt, D.M. : *Nucleoside degradation and adfunctional impairment during cardioplegia: amelioration by inosine.* *Circ.*, 76 : 171-8, 1983.
40. Ward, H.B., St. Cry, S.A., Cogordan, J.A. et al : *Recovery of adenosine nucleotide levels after global myocardial ischemia in dogs.* *Surg.*, 96 : 248-55, 1984.
41. Ely, S.W., Mentzer, R.M., Lasley, R.D. et al : *Functional and metabolic evidence of enhanced myocardial tolerance to ischemia and reperfusion with adenosine.* *J. Thorac. Cardiovas. Surg.*, 90 : 549-56, 1985.
42. Diane, K.R., Michael, J. R. : *Myocardial adenosine salvage rates and restoration of ATP content following ischemia.* *J. Am. Physiol.*, H : 247-252, 1979.
43. Namn, D.H. : *Myocardial nucleotide synthesis from purine bases and nucleosides.* *Circ. Res.*, 33 : 686-695, 1973.
44. Belardinelli, L., Weat, G.A. : *Cardiac electrophysiological effects of adenosine.* In : De Jong, J. W., ed. *Cardiac energy metabolism.* Dordrecht, Nijhoff, 93-104, 1988.
45. Belardinelli, L., Giles, W.R., Weat, A. : *Ionic mechanisms of adenosine actions in pacemaker cells from rabbit heart.* *J. Physiol (Lond)*, 405 : 615-33, 1988.
46. Schrader, J., Rubio, R., Berne, R.M. : *Inhibition of slowaction potentials of guinea pig atrial muscle by adenosine: a possible effect on Ca²⁺ influx.* *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 7 : 427-33, 1975.
47. Stafford, A. : *Potential of adenosine and the adenosine nucleotides by dipyridamole.* *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, 28 : 218-27, 1966.
48. Drury, A.N., Szent-Gyorgyi, A. : *The physiological activity of adenosine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart.* *J. Physiol. (Lond)*, 68 : 213-37, 1929/1930.
49. Buhl, M.R. : *The postanoxic regeneration of 5-adenine nucleotide in rabbit kidney tissue during in vitro perfusion.* *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 36 : 175-81, 1976.
50. Humphrey, S.M., Seelye, R.N., Gavin, J.B. : *The influence of adenosine on the no-reflow phenomenon in anoxic and ischemic hearts.* *Pathology*, 14, 1982.
51. Humphrey, S.M., Gavin, J.B., Herdson, P.B. : *The relationship of ischemic contracture to vascular reperfusion in the isolated rat heart.* *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2 : 1397-1406, 1989.
52. Hearse, D.J., Stewart, D.A., Braimbridge, V. : *Hypothermic arrest and potassium arrest: metabolic and myocardial protection during elective cardiac arrest.* *Circ. Res.*, 36 : 481-9, 1975.
53. Kas, R.L., Magovern, G.J. : *Prevention of reperfusional damage from ischemic myocardium.* *J. Thorac. Cardiovas. Surg.*, 91 : 106-14, 1986.
54. Melrose, D.G., Dreyer, B., Bentall, H.H. et al. : *Elective cardiac arrest.* *Lancet*, 2 : 21-3, 1953.
55. Lell, W.A., Buttner, E. : *Myocardial Preservation during cardiopulmonary bypass.* In : Kaplan, A. ed. *Cardiac Anesthesia.* Vol 2. *Cardiovascular Pharmacology.* New York: Grune and Stratton, 525-50, 1983.
56. Ettinger, P.O., Regan, T.J., Oldewurtel, H.A. : *Hyperkalemia, Cardiac conduction and the electrocardiogram: A review.* *Am. Heart J.* 88 : 360-71, 1984.
57. Rosen, M.R., With A.L., Hoffman, B.F. : *Electrophysiology and pharmacology of cardiac an*

- thmias. I. cellular electrophysiology of the mammalian heart. *Am. Heart J.* 88 : 380-5, 1974.
58. Isselhard, W., Merguet, H., Aengenvoort, J. et al : Vergleich des Herzstoffwechsels bei verschiedenen methoden des kunstlichen herystill standes. *Pflugere Arch.*, 286 : 336-71, 1965.
 59. Rich, T.L., Brady, A.J. : potassium contracture and utilization of high energy phosphates in rabbit heart. *Am. J. Physiol.*, 226 : 105-13, 1974.
 60. Tyers, G.F., Todd, G.J., Niebauer, I.M. et al : The mechanism of myocardial damage following potassium citrate(Melrose) cardioplegia. *surg.*, 78 : 45-53, 1975.
 61. Landymore, R.W., marble, A.E., Trillo, a. et al : Cameron C. Effect of small amplitude electrical activity on myocardial preservation in cold potassium arrested heart. *J. Thorac. Cardiovas. Surg.*, 91 : 684-9, 1986.
 62. Ferguson, T.B., Smith, P.K., Lofland, G.K. et al : The effects of cardioplegic potassium concentration and myocardial temperature on electrical activity in the heart during elective cardioplegic arrest. *J. Thorac. Cardiovas. surg.*, 92 : 755-65, 1986.
 63. Engelman, R.M., Dobbs, W.A., Roussou, J.H., Lemeshow, S. : The optimal potassium concentration in a cardioplegic solution. In : *Proceedings of a symposium, Royal Society, London*, 89-90, 1980.
 64. Hearse, D.J., Braimbridge, M.V., Jynge, P. : *Protection of ischemic myocardium: cardioplegia*, New York, Raven Press 209-99, 1981.
 65. Sylven, C., Beenmann, B., Jonzon, B., Brandt, R. : Angina pectoris like pain provoked by intravenous adenosine in healthy volunteers. *Br. Med. J.*, 293 : 227-30, 1986.
 66. Thersten, S., Herbert, V., Patricia, O. et al : Adenosine versus potassium cardioplegia: Effects on cardiac arrest and postischemic recovery in the isolated rat heart. *J. Thorac. Cardiovas. Surg.*, 98 : 1057-65, 1989.
 67. Cooley, D.A., Reul, G.J., Wukasch, D.C. : Ischemic contracture of the heart. "stone heart". *Am. J. Cardiol.*, 29 : 575-577, 1972.
 68. Sylven, C., jonzon, B., Fredholm, B.B et al : Adenosine injection into the brachial artery produces ischemia likd pain or discomfort in the forearm. *Cardiovas. Res.*, 22 : 674-8, 1988.
 69. DiMarco, J.P., Sellers, T.D., Berne, R.M. et al : Adenosine: electrophysiologic effects and therapeutic use for terminating paroxysmal supraventricular tachycardia. *Circ.*, 68 : 1254-63, 1983.
 70. Sonnenblick, E.H. : *Skeleton CL: Oxygen consumption of the heart: Physiological principles and clinical implaications*. *Mod. Concepts Cardiovas. Dis.*, 40 : 9, 1971.