

오줌 유래 Trypsin 억제제가 출혈성쇼크에 미치는 영향

권오경 · 김종민 · 이희천 · 정언승 · 양한석 · 변종환¹ · 송동호¹ · 조명행
서울대학교 수의과대학, ¹(주)녹십자

The Effects of Urinary Trypsin Inhibitor on Hemorrhagic Shock

Oh-Kyeong KWEON, Jong-Min KIM, Hee-Chon LEE, Eon-Seung CHUNG,
Han-Seok YANG, Jong-Hwan BYUN¹, Dong-Ho SONG¹ and Myung-Haing CHO

College of Veterinary Medicine, Seoul National University,
¹Green Cross Pharmaceutical Co.

(Received March 10, 1997; accepted June 17, 1997)

Abstract – The protective effect of human urinary trypsin inhibitor(UTI) on acute hemorrhagic shock in beagle dog was studied. Hemorrhagic shock was experimentally induced in thoracotomized beagle dogs by removing blood and maintaining low arterial blood pressure for 30 min, and then blood removed was entirely transfused back into the dogs within one hour. When the blood was transfused, UTI was administered together to check the potential protective effect of UTI on hemorrhagic shock. The arterial blood pressure recovery was accelerated slightly by UTI treatment. Blood pH and P_aCO_2 returned to normal level in shorter time in the UTI treatment group. These data suggest that UTI may have protective effects on experimentally induced hemorrhagic shock.

Keywords □ hemorrhagic shock, UTI

쇼크(shock)란 혈량과 순환기의 용적간의 불균형으로 나타나는 증상으로 조직으로 운반되는 산소의 양이 정상적인 세포호흡 유지에 충분하지 못한 상태를 이른다. 쇼크는 크게 3가지 형태로 분류되며 저혈량성 쇼크, 혈액저류성 쇼크, 기타 신경원성, 심장성, 과민성 쇼크로 구분된다(Webb, 1982). 이중 저혈량성 쇼크는 혈량 손실로 인한 쇼크로서 일반적으로 출혈에 의해 다량의 전혈이 상실되어 일어나기 때문에 출혈성 쇼크라고도 한다.

오줌유래 trypsin 억제제(urinary trypsin inhibitor, UTI)는 lysosome막을 안정화시키고 lysosome 효소분비를 억제하며, 단백분해효소를 억제시켜 심근억제인자 등의 독성물질의 생산을 막아 쇼크의 악순환을 막는다고 한다(Oda, 1984). 본 연구는 실험동물인 beagle dog을 대상으로 개흉술조건하에서 인위적인 출혈성 쇼크를 유발시키고 실험대상약제인 UTI를 투여하여 동물의 vital sign과 심맥관계에 대한 UTI의 효과를 관찰하고자 실시하였다.

재료 및 방법

시험물질과 실험군분리

* To whom correspondence should be addressed.

실험동물은 White Eagle Laboratories (Philadelphia, USA)로부터 성숙한 1년생의 beagle dog(8~15 kg)를 공급받아 실험개시 전 1주일간의 환경적응을 거친 후 일반신체검사와 내부 기생충검사 등, 건강이상 유무를 확인하여 건강한 개체만을 골라 사용하였다. 실험기간동안 사육실의 환경조건은 온도 $20 \pm 3^\circ C$, 상대습도 $50 \pm 10\%$ 로 조절하였으며, timer를 이용하여 12시간씩 명암을 주기적으로 교환하고 200~300 lux 정도의 조도를 유지하였으며, 개 사육용 cage에 상자당 1마리씩 사육하였다. 사료는 애완견용 고형사료를 물은 수돗물을 자유섭취 시켰다.

본 실험에 사용한 시험물질인 UTI는 (주)녹십자 종합연구소로부터 공급받았으며, urostatin 역가 측정방법에 따라 1 vial당 UTI 220,000단위가 함유되어 있는 test sample에 증류수 5 ml를 무균적으로 첨가하여 44,000 U/ml이 되도록 희석하여 사용하였다.

실험군은 약물 및 수술처치를 전혀 실시하지 않고 쇼크만을 유발시킨 비수술대조군과 좌측 제5늑간 흉벽절개술을 실시한 수술대조군, 좌측 제5늑간 흉벽절개술 후 수혈시 UTI를 투약한 UTI투약군의 3군으로 분리하여 각 군당 암수 구별 없이 3두씩 배치하였다.

실험동물의 처치

수술 전 18시간동안 절식시켰으며 마취는 propionyl pro-

mazine(Combelen[®], 한국바이엘화학) 0.1 mg/kg을 정맥주사하여 전마취시킨 후 10분에 thiopental sodium(치오닐[®], 대한약품) 20 mg/kg을 정맥내 주사하여 유도 마취하였다. 수술처치 중에는 2% halothane(할로탄[®], 일성신약)으로 마취를 유지시켰으며 호흡은 인공호흡장치를 이용하였다. 앙와 자세(dorsorecumbency)로 보정하여 채혈부위에 대한 소독을 실시한 후 좌우측의 대퇴동정맥을 노출시켰다. 실험동물인 beagle dog에 쇼크를 유발하기 위하여 Miyahara(1983)의 방법에 준하여 대퇴동맥에 연결된 채혈팩을 이용하여 10분간 출혈시켜 평균동맥압을 40 mmHg로 유지시켰다. 출혈된 혈액은 채혈팩에 20분간 보관한 후 대퇴정맥을 통하여 1시간동안 수혈시켰다. 수술대조군과 UTI투약군에서는 출혈시키기 전에 좌측흉부를 면도한 후 좌측 흉벽절개술을 5번째 늑간에서 실시하였다. UTI투약군에서는 수혈 동안 좌측대퇴정맥을 이용하여 수혈과 동시에 UTI 50,000 U/kg을 투약하였다.

수술중 관찰사항 및 검사항목

수술중 모세혈관 재충만 시간(capillary refilling time, CRT), 점막상태, 체온, 심박동수, 혈압, 혈류량, 동맥의 pH, P_aCO₂ 및 P_aO₂를 출혈 시작시(-30분), 출혈 종료시(-20분), 출혈 종료 후 10분(-10분), 수혈시작시(0분), 수혈 시작 후 10 분마다 1시간동안(10, 20, 30, 40, 50, 60분) 관찰 및 측정하였다.

CRT는 구강점막을 이용하여 측정하였고, 점막상태는 구강점막과 결막에서 관찰하였다. 체온은 전자식 체온계(electrotherm digital thermometer, Cooper)를 이용하여 직장 체온을 측정하였다. 심박동수는 pulse-oximetry(Vet/Ox SDI 4402, PSD)의 probe를 혀에 장착하여 측정하였다. 혈압은 ultrasonic doppler flow detector(Parks electronics)를 이용하여 측정하였으며 측정은 우측전지 완부장측의 피모를 제거한 후 gel을 바르고 ultrasonic doppler flow detector의 probe를 장착하여 median artery의 맥박을 탐지한 후 혈압계 cuff를 장

착하여 평균동맥혈압을 측정하는 간접법을 이용하였다. 혈류량은 doppler 초음파(Sono Rex, Medison, Korea)를 이용하여 측정하였다. 경동맥 부근의 피모를 제거한 후 doppler 초음파를 이용하여 경동맥의 직경과 시간별 혈류속도를 측정 후 아래 식에 의해 혈류량을 계산하였다.

$$\text{혈류량} = \text{혈관면적} \times \text{혈류속도} \times 0.57 / \text{체중}$$

좌측대퇴동맥에서 1000 U/ml의 heparine을 묻힌 1 ml syringe를 이용하여 시간별로 채혈하고 채혈 10분 이내에 pH, P_aCO₂, P_aO₂를 혈액 pH 가스분석기(pH/Blood gas analyzer 813, Labgas)로 측정하였다.

통계처리

실험군간의 각 측정치에 대한 유의성은 ANOVA-SAS program을 이용하여 검정하였다.

결 과

CRT, 점막상태, 체온, 심박동수

모든 실험군에서 CRT는 출혈 후 빠른 속도로 증가하며 수혈 후 급격히 감소하는 양상을 나타내었으며 각 군간의 확연한 차이점은 인정할 수 없었다(Fig. 1). 점막상태는 대조군에서 -20분부터 0분까지 창백하였으며 수술대조군과 UTI투약군에서는 -20분부터 창백하기 시작하여 10분까지 창백하였으며 이후 정상으로 회복되었다. 체온은 비수술대조군과 비교하여 볼 때 수술대조군보다는 UTI투약군에서 특히 30분 후부터 보다 빠른 회복양상을 나타내었다(Fig. 2). 심박동수는 출혈 후 수술대조군과 UTI투약군 모두에서 급격히 감소하였으며 양군 모두 수혈 15분 후에 출혈전의 상태로 회복되었으나 군간 뚜렷한 차이점을 인정할 수 없었다(Fig. 3).

말초동맥혈압, 혈류량

말초동맥혈압은 대조군에서 -30분부터 -20분까지 감소한 후 0분까지 다른 군에 비하여 약간 빠른 회복양상을 보였

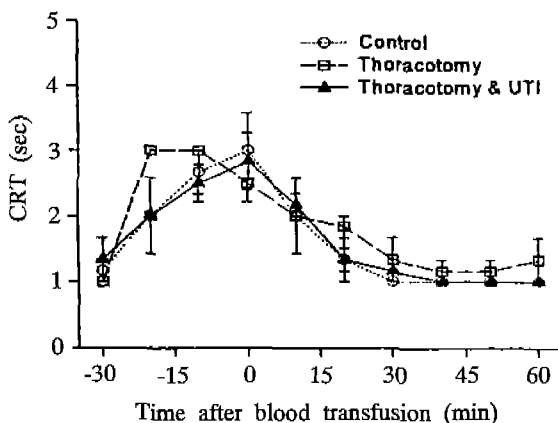


Fig. 1. Changes of capillary refilling time (CRT) after hemorrhagic shock in beagle dogs. Each value represents mean \pm S.E. (n=3).

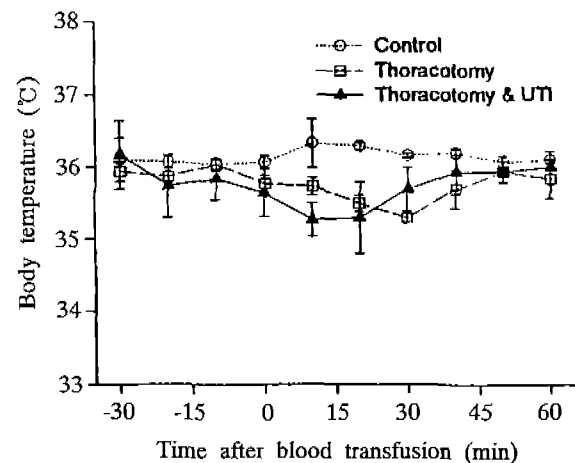


Fig. 2. Changes of body temperature after hemorrhagic shock in beagle dogs. Each value represents mean \pm S.E. (n=3).

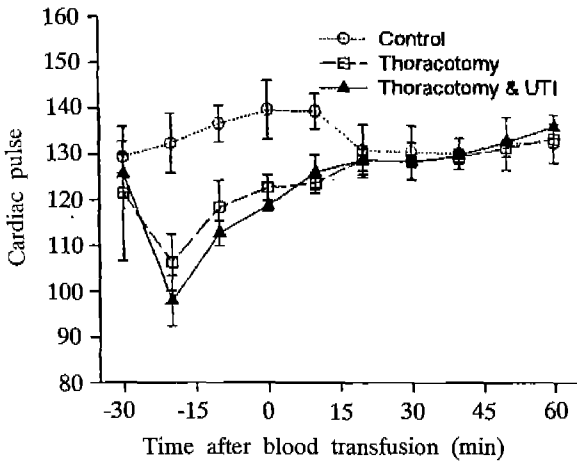


Fig. 3. Changes of cardiac pulse after hemorrhagic shock in beagle dogs. Each value represents mean ± S.E. (n=3).

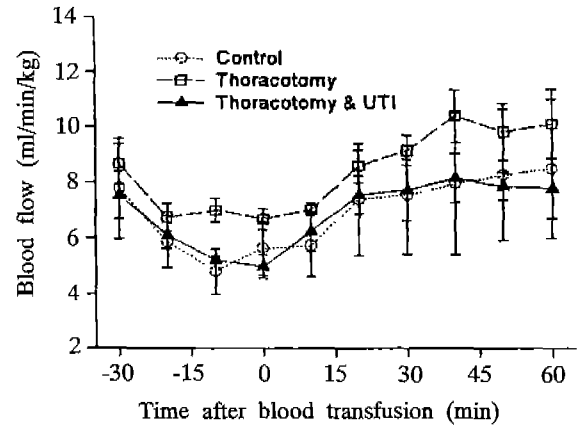


Fig. 5. Changes of arterial blood flow after hemorrhagic shock in beagle dogs. Each value represents mean ± S.E. (n=3).

으며 이후 60분까지 급격히 증가, 회복되었다. 수술대조군, UTI투약군에서도 유사한 양상을 보였으나 UTI투약군에서는 다른 실험군에 비하여 특히 수술대조군에 비하여 혈압 회복속도가 보다 빠름을 알 수 있는데 통계학적으로 유의성은 없지만 술후 10분 후부터는 완전한 차이를 관찰할 수 있었다(Fig. 4). 혈류량은 대조군에서 -30분에서 -10분까지 감소한 후 점진적으로 증가하였다. 수술대조군에서는 -30분에서 -20분까지 감소한 후 10분까지 유지하다가 점진적으로 증가하였으며 UTI투약군에서도 유사한 경향을 나타내었으나 군간의 차이는 인정할 수 없었다(Fig. 5).

동맥혈의 pH, P_aCO₂, P_aO₂

동맥혈의 pH는 출혈 후 감소하였다가 수혈 후 증가양상을 보였다. 대조군에서는 -30분에서 -20분까지 유지되다가 -10분까지 감소한 뒤 이후 일정수준을 계속 유지하는 양상을 보였다. 수술대조군과 UTI투약군에서는 -20분에서 10분까지 감소하였으며 이후 계속 비슷한 상태로 pH가 저하된

양상을 보여주었으나 투여 30분 후부터는 UTI투약군이 보다 빠른 속도로 회복되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 6). P_aCO₂는 대조군에서는 변화를 나타내지 않았으며 수술대조군에서는 -20분에서 40분까지 지속적인 완만한 증가양상을 보였으며 60분까지 높은 수준으로 유지되었다. UTI 투약군에서는 수술대조군과 비슷한 양상으로 -10분에서 10분까지 증가하는 양상을 보였으나 UTI 투여 10분 후부터 점차 감소하여 60분에서 정상수준으로 회복되었다(Fig. 7). P_aO₂는 대조군에서는 특이적인 변화를 보이지 않았으나 수술대조군에서는 -30에서 0분까지 점진적으로 감소한 후 약간 증가하였으나 비수술대조군과 UTI투약군보다 비교적 낮은 수준으로 유지되었다(Fig. 8).

고 찰

UTI는 사람의 뇨에서 분리 정제된 분자량 약 67,000~

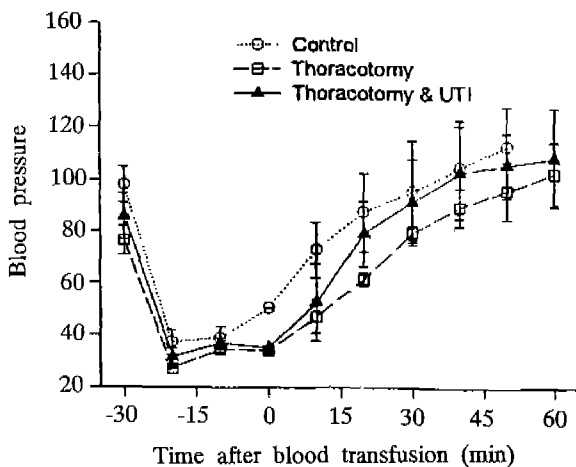


Fig. 4. Changes of arterial blood pressure after hemorrhagic shock in beagle dogs. Each value represents mean ± S.E. (n=3).

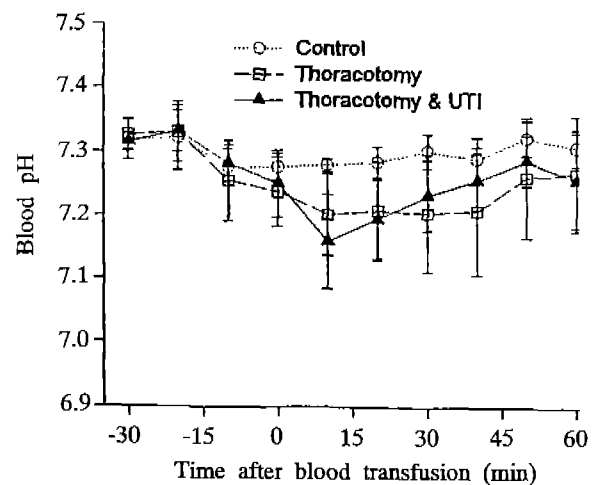


Fig. 6. Changes of arterial blood pH after hemorrhagic shock in beagle dogs. Each value represents mean ± S.E. (n=3).

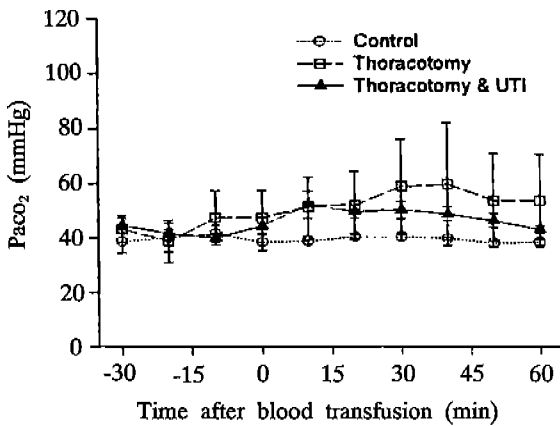


Fig. 7. Changes of arterial blood CO₂ concentration after hemorrhagic shock in beagle dogs. Each value represents mean \pm S.E. (n=3).

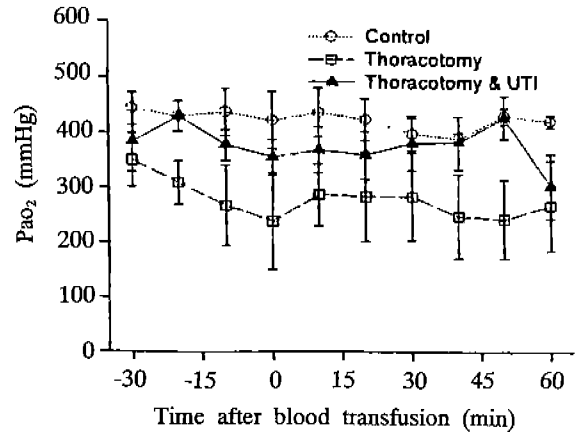


Fig. 8. Changes of arterial blood O₂ concentration after hemorrhagic shock in beagle dogs. Each value represents mean \pm S.E. (n=3).

70,000의 산성 glycoprotein으로서 trypsin, chymotrypsin 또는 elastase 등의 단백분해 효소 및 hyaluronidase, lipase 등의 여러 종류의 효소를 효과적으로 억제시키는 것으로 알려져 있다(Kosuzume, 1983). 이러한 특성으로 인해 체장염시 각종 속발성 피해의 주된 원인체인 trypsin 등의 제반 소화 효소에 대해 탁월한 억제 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(Ohnishi 등, 1984). 또한 lysosome의 막을 안정화시킴으로서 쇼크시 유발되는 2차적 손상 등을 예방하는 것으로 알려져 있다(Oda, 1984). 본 실험은 이러한 목적으로 개발된 UTI제에 대하여 단기간의 과다 출혈로 유발시킨 출혈성 쇼크시 심맥관계에 대한 UTI의 예방 효과를 관찰하고자 실시하였다. 출혈성 쇼크시 동맥압은 떨어지고 심장으로 되돌아오는 정맥혈은 감소되며 심박수는 증가하나 심박출량과 박출력은 감소되며 이로 인해 심박출량이 감소되어 2차적인 동맥혈압의 하강이 유발되는데 본 연구결과에서도 인위적으로 쇼크를 유발시켰을 경우 유사한 경향을 관찰할 수 있어 수술이 성공적으로 이루어졌음을 알 수 있었다. 따라서 개를 이용한 흉벽절개술은 인위적인 출혈성쇼크에 대한 실험동물 모델의 개발에 적합함을 확인할 수 있었으며 UTI를 투여시 수술대조군에 비하여 뚜렷한 유의성은 없었지만 동맥혈압의 회복속도가 보다 빠름(Fig. 3)을 알 수 있어 UTI의 쇼크에 대한 예방효과를 추측할 수 있었다. 또한 쇼크의 발생시 동맥압수용기에 의한 보상기전으로 catecholamine이 분비되어 말초 동맥혈관이 수축되며(Rutherford, 1976) 특히 비장과 피부의 혈관이 수축되어 점막이 창백해지고 CRT가 증가된다고 알려져 있다(Kolata, 1979). 그리고 쇼크가 지속되면 신장과 체장, 간장 등의 실질장기의 혈관수축으로 인해 요량이 감소하는데 이때의 동맥혈 또는 중심정맥혈의 pH, P_aCO₂, P_aO₂, 등의 존재상태는 쇼크상태에 대한 간접적인 정보를 제공해 준다. 젖산에 의한 산증으로 혈액의 pH는 낮아지고 출혈로 인해 PCV(hematocrit)가 점차 낮아져 혈액의 산소

포화도가 낮아진다. 본 연구에서도 상기의 지표를 검색하였는바 결과에 나타난바와 같이 전반적으로 유의성은 없었으나 수술대조군에 비하여 UTI처리군이 일반적으로 우수한 반응을 나타내어 쇼크에 대한 효과가 있음을 알 수 있었다. 또한 쇼크의 발생시 대사율 저하로 인해 체온은 하강하는데 체온의 변화를 조사한 결과에서도 수술대조군에 비해 UTI 투여군에서 역시 유의성은 없었으나 체온 회복속도가 약간 빠름을 알 수 있었으며 특히 30분 후부터는 보다 확연하게 관찰할 수 있어 UTI가 체온회복을 돕고 있음을 추측할 수 있었다(Fig. 2). 종합적으로 고찰하여보면 뚜렷한 통계학적인 유의성은 관찰할 수 없었으나 UTI 투여군에서 pH의 회복이 빠른 속도로 이루어지고 CO₂의 분압이 낮아지고 O₂의 분압이 수술대조군에 비해 높게 나타남을 확인하였다. 이와 같은 통계학적 유의성의 결여는 아마도 사용동물수의 숫자가 적기 때문일 것이며 따라서 보다 확실한 효과를 관찰하기 위해서는 충분한 숫자의 마리 수가 사용되어야 하리라 사료된다. 하지만 본 결과를 바탕으로 고찰하여볼 때 본 연구에서 사용한 각 지표들은 쇼크를 평가하는 일시적인 지표로 실제 임상에서 훌륭히 사용될 수 있음을 시사하여 주고 있다. 또한 이상의 결과로 고찰할 때 UTI는 Oda(1984)에 의해 확인된 기전에서 기술한 바와 같이 lysosome 막을 안정화시키고 쇼크시 2차적 손상의 주원인인 trypsin 등의 효소를 효과적으로 억제시킴으로서 쇼크로 인한 조직손상을 예방하여 혈압, 체온 등을 정상으로 회복시키는 데 있어 촉진적 작용을 나타내는 것으로 생각할 수 있으나 보다 확실한 기전의 이해를 위해서는 추가적인 연구가 수행되어야 한다고 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 서울대학교 수의과대학 부설 수의과학연구소의 연구비 지원에 의하여 이루어 졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Kolata, R. J. (1979). The significance of changes in toe web temperature in dogs in circulatory shock. *Proc. 28th Gaines Vet. Symp.* 21-26.
- Kosuzume, K. (1983). The mechanism of enzyme inhibition by human urinary trypsin inhibitor. *Progress in Medical Sciences.* **125**(3), 187-190.
- Miyahara, T. (1983). Effect of MR-20, a urinary trypsin inhibitor, on circulatory kinetics and endocrine functions during hemorrhagic shock. *Anesthesia,* **32**(8), 943-955.
- Muramatsu, M., Matsuzawa, Y., Horiguchi, Y. and Tanaka, M. (1980). Purification and characterization of urinary trypsin inhibitor from normal human urine and its cleavage by human uropepsin. *J. Biochem.(Tokyo),* **88**, 1317-1329.
- Oda, T. (1984). Antishock effect of human urinary trypsin inhibitor(MR-20). *Anesthesia,* **33**(2), 137-142.
- Ohnishi, H., Kosuzume, H., Ashida, Y., Kato, K., and Honjo, L. (1984). Effects of urinary trypsin inhibitor on pancreatic enzymes and experimental acute pancreatitis. *Dig. Dis. Sci.,* **29**(1), 118-123.
- Rutherford, R. B. (1976). Comparison of hemodynamic and regional blood flow changes at equivalent stages of endotoxin and hemorrhagic shock. *J. Trauma,* **16**, 886.
- Webb, A. E. (1982). Fluid therapy in hypovolemic shock. *Vet. Clin. North. Am. Sm. Anim. Pract.,* **12**, 515.