

# 허혈전후 적출 가토 심근내의 구성 효소의 변화

천 수 봉\* · 전 도 환\* · 박 성 달\* · 이 재 성\* · 김 송 명\*

=Abstract=

## Pre- and Post-ischemic Changes of the Constituent Enzymes in Isolated Rabbit's Myocardium

Soo Bong Chaun, M.D.\*, Do Hwan Jeon, MD.\*, Sung Dal Park, M.D.\*,  
Jae Seong Lee, M.D.\*, Song Myung Kim, M.D.\*

**Background:** Nucleoside transport inhibitor(NTI) keeps AMP, ADP, ATP levels high in myocytes by inhibiting adenosine catabolism, so that it may preserve the myocardial contractability during ischemia. In this study, we investigated the effects of cyclic AMP phosphodiesterase inhibitor(C-AMP PDSI) and S-P-nitrobenzyl-6-thioinosine(NBT; a sort of NIT) on myocardial preservation and changes of constituent enzyme. **Material and method:** Twenty-six isolated rabbit hearts were perfused with Krebs-Henseleit buffer solution for 20 minutes, arrested for 20 minutes, and then reperfused for 30 minutes. The following four groups were prepared and hemodynamic changes, coronary effluent lactate dehydrogenase (LDH),  $\alpha$ -hydroxybutyric acid( $\alpha$ -HBD) levels and myocardial LDH, creatine kinase-MB (CK-MB), adenosine deaminase(ADA),  $\alpha$ -HBD levels were analysed before and after cardiac arrest. ; Group I(control) ; the heart was only perfused with K-H; Group II ; the heart was perfused with K-H including C-AMP PDSI(Amrinone<sup>®</sup>, 25mg/L); Group III ; the heart was perfused with K-H including NBT(4.19mg/L); Group IV ; the heart was perfused with K-H including C-AMP PDSI + NBT. **Result:** Left ventricular developed pressure(LVDP) at 10 minutes of the equilibrium was significantly higher in group III ( $72.1 \pm 5.3$  mmHg,  $p < 0.01$ ) and group IV ( $87 \pm 11.0$  mmHg,  $p < 0.025$ ) as compared with group I ( $40.8 \pm 4.7$  mmHg), and LVDP at 20 minutes of the reperfusion was significantly higher in group II ( $74 \pm 5.3$  mmHg,  $p < 0.01$ ) and group III ( $72 \pm 5.6$  mmHg,  $p < 0.025$ ) as compared with group I ( $44.2 \pm 4.6$  mmHg). Percentage recovery of LVDP at the reperfusion was the highest in group II(123.3%). Percentage recovery of coronary flow at the equilibrium, reperfusion were higher in group II (310%,270%), group III (230%,290%), group IV (310%,280%) as compared with group I (100%), respectively. Myocardial LDH level was significant lower in group IV ( $33495 \pm 1802$  IU/gm,  $p < 0.04$ ) as compared with group I ( $48767 \pm 1421$  IU/gm), Myocardial CK-MB level was significant higher in group II ( $74820 \pm 7054$  IU/gm,  $p < 0.01$ ) compared with group I ( $45450 \pm 1737$  IU/gm), Myocardial ADA level was significant higher

\*고신대학교 복음병원 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Kosin University, Gospel hospital, Busan

†1998년도 대한 흉부외과학회 추계학술대회에서 구연된 내용

논문접수일 : 99년 5월 24일 심사통과일 : 2000년 2월 16일

책임저자 : 김송명 (602-702) 부산광역시 서구 암남동 34번지, 고신대학교 복음병원 흉부외과학교실. (Tel) 051-240-6466

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

group IV ( $1215 \pm 8$  IU/gm,  $p < 0.005$ ) compared with group I ( $125 \pm 15$  IU/gm), but there was no significant difference between group I and group II, III, IV in changes of coronary effluent LDH,  $\alpha$ -HBD levels. **Conclusion:** C-AMP PDSI solely appears to have a better effect on myocardial preservation after ischemia than NBT but with no synergistic effect, and it could keep CK-MB level high in myocardial tissues.

(Korean Thorac Cardiovasc Surg 2000;33:117-24)

**Key words** : 1. Myocardial ischemia  
2. Myocardial protection  
3. enzymes

## 서 론

심장수술 도중에 대동맥 차단으로 인한 심근 허혈과 급성 관상동맥 부전으로 인한 심근허혈의 발생 시에는 공통적으로 심근세포에 존재하는 기질들(substrates)의 대사가 효소의 종류와 양에 따라 다양한 변화를 보이게되나 일반적으로 생체내의 가역적인 심근 보호작용에 의해 일시적인 심근 허혈로부터 회복된다. 그러나 균형이 깨어질 때에는 심각한 심근경색을 일으켜 생명에 위협을 주게 된다.

심근 보호는 고에너지 인산 화와 관련된 ATP의 보존과 연관되어 있고<sup>1)</sup> 허혈의 유무에 무관하게 세포내의 각종 구성 효소들에 의해 그 대사 산물들인 adenosine, inosine, hypoxanthine 등으로 대사가 이루어 진다<sup>2)</sup>. 이러한 대사 과정에는 대표적으로 creatine kinase-MB(이하 CK-MB)<sup>4)</sup>, adenosine deaminase(이하 ADA)<sup>5)</sup>, lactate dehydrogenase(이하 LDH)와  $\alpha$ -hydroxybutylic dehydrogenase(이하  $\alpha$ -HBD)<sup>6)</sup> 등의 효소들이 작용을 하며, 동시에 이러한 효소들이 심근 손상으로 세포 밖으로 누출될 경우 혈청 내에서 정량적 검사에 의해 손상 유무를 진단도 하며 심근경색의 예후를 추정하는데 중요한 지표로 이용되고 있다. 본 연구에서는 심근허혈이나 심근경색 시에 심근내의 구성효소들의 변화를 조사하여 추후 심근 허혈에 효과적인 치료방법을 모색하고자 실험을 실행하였다. 가토 심장을 이용하여 허혈후 재관류를 실시하여 cyclic AMP의 강심 작용을 증가시킬 수 있는 cyclic AMP phosphodiesterase inhibitor(이하 C-AMP PDSI)<sup>7)</sup>와 nucleoside전이 억제제인 nucleoside transport inhibitor(이하 NTI)<sup>8)</sup>들을 단독 또는 동시에 투여하는 변화를 줌으로서 심근 세포내의 LDH, CK-MB, ADA,  $\alpha$ -HBD 등과 같은 구성효소의 정량변화를 관찰하여 허혈개선에 미치는 영향을 조사해 보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 실험 대상

실험에 사용된 동물은 생물학적 실험에 대비하여 영양이

잘 조절된 배합사료로서 전문인에 의해 사육된 체중 2.0 kg 내외의 가토 26마리를 암수 구분 없이 사용하였다.

실험동물을 4군으로 구분하여, 제 1군 6마리는 대조군으로 Krebs-Henseleit (이하 K-H) 완충액을 관류액으로 하였고, 제 2군 5마리는 강심제인 C-AMP PDSI (Amrinone<sup>®</sup>, 25 mg/L)가 투여된 K-H 완충액을, 제 3군 10마리는 NTI 일종인 S-P-nitrobenzyl-6-thioinosine(이하 NBT, 4.19 mg/L)가 투여된 K-H 완충액을, 제 4군 5마리는 C-AMP PDSI(25 mg/L)와 NBT(4.19 mg/L)가 투여된 K-H 완충액을 각각 관류액으로 하였다(Table 1).

### 2. 실험 방법

실험 장치 : 실험에 사용된 정압형 Langendorff 관류장치의 구조는, K-H 완충액을 담은 저수조를 150 cm H<sub>2</sub>O의 정압으로 유지하도록 하고 저수조 옆에 기포관을 장치하여 carboxan(95% O<sub>2</sub>와 5%CO<sub>2</sub>의 혼합가스)으로 완충액을 기포화 하였다. 직경 6 mm의 대동맥관에서 반복 검사한 완충액의 가스 분석 결과를 산소 분압이 500 mmHg 이상, 이산화탄소 분압은 35~45 mmHg로 되게 하고 pH는 7.35~7.45의 범위 이내로 유지시켰다. K-H 완충액은 118 mM/L의 NaCl, 4.7 mM/L의 KCl, 1.64 mM/L의 MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 1.18 mM/L의 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5.55 mM/L의 glucose, 24.88 mM/L의 NaHCO<sub>3</sub>, 그리고 2.55 mM/L의 CaCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 등의 조성으로 제조하였다.

기포관과 대동맥관 사이에는 열 교환기를 사용하고, 욕조에는 정온 순환기(constant temperature regulator, VWR scientific 1160, USA)를 사용하여 실험 전 과정 중에 37°C의 온도를 일정하게 유지시켰으며, 심장보온용 정온조를 제일 하단에 설치하고 열 교환기와 함께 병렬 연결하여 대동맥관에 부착된 실험용 심장을 보온하였다.

심장 적출 : 가토의 이정맥에 2.5% thiopental sodium (pentothal sodium<sup>®</sup>) 30 mg/kg과 heparin 750 IU/kg을 주사하여 전신마취를 유도한 후 실험용 수술대에 사지를 결박하였다.

수술은 검상돌기 하부의 피부에 소절개를 가하고 경부까지 연장하여 피부를 제거한 다음에, 복강을 개방하여 검상돌

Table 1. Experimental group

Group	No. of cases	Experimental agent
I	6	
II	5	C-AMP PDSI
III	10	NBT
IV	5	C-AMP PDSI+NBT

C-AMP PDSI; cyclic AMP phosphodiesterase inhibitor (Amrinone<sup>®</sup>), NBT; S-P-nitrobenzyl-6thio-inosine

기를 거상하고 양측 흉골연을 따라 늑연골 부위를 절개하여 심장을 노출시켰다. 심낭을 절개하고 심장을 수지로 거상하여 대혈관들을 절단한 후, 박동중인 심장을 적출하여 즉시 4°C의 K-H완충액에 넣어 냉각시켜서 심박동을 정지시키고 wet heart 무게를 측정(E-300J, Ohau, USA)한 후, Langendorff 관류장치의 대동맥관에 가토심장의 상행 대동맥을 연결하고 전사로 완충액이 새지 않게 결찰한 후 37°C의 K-H완충액을 관류시켜 심박동이 회복되도록 하였다.

심장에 부착된 절체 조직을 제거하고 끝에 latex balloon이 달린 가는 도관을 좌심방을 통하여 좌심실에 삽입하여 이완기 말기압이 10 mmHg가 되도록 팽창시키고, 압력변환기 (pressure transducer, P23XL, Viggo Spectramed Inc., USA)에 연결하여 physiograph(WindoGraf, Gould Inc., USA)를 통해 좌심실 압력을 측정하고 압력 미분치(dp/dt)는 differentiator(model 13-4615-71, Gould Inc., USA)를 이용하여 기록하였다.

실험 protocol : 적출된 가토의 심장을 Langendorff 관류장치에 연결시켜 20분간 평형상태를 유지한 후, 곧 이어 관류액을 차단하고 4°C의 심정지액(Green cardiosol<sup>®</sup> : 1000 ml당 NaCl 6.43 gm, KCl 1.193 gm, CaCl<sub>2</sub> 0.176 gm, MgCl<sub>2</sub> 3.253 gm)을 10 ml씩 양압으로 주입하여 심정지를 유도하였다. 20분간의 허혈시간이 지난 후 심근의 온도를 37°C까지 점차 가온하면서 30분간 재관류시켰다.

심근의 상태와 손상의 지침으로서, 평형상태와 재관류 시기에 좌심실압(left ventricular developed pressure, 이하 LVDP), 관 관류량(coronary flow), 관 관류액내의 LDH, α-HBD 효소치를 각각 측정하여 비교 관찰하였으며, 실험이 끝난 심장을 Langendorff 관류장치에서 분리하고 심실을 절제하여 심근 조직을 -196°C의 액화 질소 통에 냉동 보관한 후 심근내의 LDH, α-HBD, CK-MB, ADA 등의 효소치를 비교 분석하였다.

혈 역학적 측정 : 좌심실압 및 관 관류량을 평형상태에서는 10분에, 재관류 시기에는 20분에 측정하여 평균치를 표시하여 각 군의 혈 역학적 변화를 비교 분석하였고, 관 관류량은 개방된 관상정맥동에서 유출되는 관류액의 분당 유출량

Table 2. Body weight and wet heart weight in each group

Group	Body weight(kg)	Wet heart weight(gm)
I	1.58 ± 0.19	4.4 ± 0.4
II	1.58 ± 0.07	5.3 ± 0.3
III	1.54 ± 0.11	5.4 ± 0.2
IV	1.87 ± 0.05	5.5 ± 0.3
Total	1.62 ± 0.30	5.2 ± 0.9

\* p>0.05 vs each group(mean ± S.E)

(ml/min)을 수집하여 측정하였다. 관 관류액내의 Lactate dehydrogenase, α-Hydroxybutyric dehydrogenase 효소치의 측정 : 실험 전 과정을 통해 수집한 LDH, α-HBD 효소의 정량 분석은 유출되는 관 관류액을 평형상태에서는 10분에, 재관류 시기에는 20분에 각각 채취하여 검사하였으며, LDH 효소치는 LDH R-1A(NADH), LDH R-1(Tris완충액)과 LDH R-2(pyruvic acid, 기질용액)로 구성된 검사 kit를 사용하여 자외선 비색법으로, α-HBD 효소치는 일제日立사의 736형 자동 분석 장치를 사용하여 자외선 흡광법으로 하였다.

심근내의 lactic dehydrogenase, creatine kinase, adenosine deaminase, α-hydroxybutylic dehydrogenase 효소치의 측정 : 냉동 액화 질소에 보관된 심근을 타 시료의 효소정량 분석과 같은 방법으로 시료를 만든 후, CK-MB 효소치는 CK-MB multiple-point rate kit (Ektachem, Germany)를 사용하여 면역억제법의 원리를 이용한 건조 화학법으로 정량 검사하였고, ADA 효소치는 유산이나 CK-MB의 정량 분석과 동일한 과정을 거쳐 채취한 시료를 Spectronics사의 3000Auto-Analyzer (Westbury, USA)를 사용하여 Galanti 및 Giusti의 비색법으로 정량 분석하였다.

### 3. 통계학적 처리

각 군에 사용된 자료는 평균±표준오차로 표시하였고, 통계학적 분석을 위하여 통계분석체계(statistical analysis system, SAS)를 이용하여 반복 ANOVA법과 Student t-검정을 적용하였고 대조군과 비교하기 위해 Mann-Whitney test를 이용하였으며, p값이 0.05 미만인 경우를 유의성 있는 것으로 처리하였다.

## 결 과

### 1. 가토의 체중 및 심장의 무게

실험에 사용한 가토의 체중은 제 I군이 1.58±0.19 kg, 제 II군은 1.58±0.07 kg, 제 III군은 1.54±0.11 kg, 제 IV군은 1.87

Table 3. Comparison of left ventricular developed pressure in each group

Group	Number of cases	LV <sup>a</sup> developed pressure(mmHg)		
		Equilibrium 10 min	Reperfusion 20 min	R20/E10 <sup>b</sup> (%)
I	6	40.8 ± 4.7	44.2 ± 4.6	108.3
II	5	60.0 ± 7.9	74.0 ± 5.3 <sup>#</sup>	123.3
III	10	72.1 ± 5.3 <sup>*</sup>	72.0 ± 5.6	99.8
IV	5	87.0 ± 10.9 <sup>**</sup>	58.0 ± 7.2 <sup>##</sup>	66.6

\* ; p<0.01 vs group I, \*\*;p<0.025 vs group I, # ;p<0.01 vs group I, ## ; P<0.025 vs group I  
a ; left ventricular, b ; Reperfusion 20 min/Equilibrium 10 min(mean ± S.E).

Table 4. Comparison of coronary flow in each group

Group	Number of cases	Coronary flow (ml/min)		
		Equilibrium 10 min [Each/I <sup>a</sup> (%)]	Reperfusion 20 min [Each/I (%)]	R20/E10 <sup>b</sup> (%)
I	6	22.7 ± 2.3 [100]	18.3 ± 3.3 [100]	80.6
II	5	71.3 ± 6.2 [310] <sup>†</sup>	58.8 ± 2.5 [270] <sup>‡</sup>	82.5
III	10	52.1 ± 2.6 [230] <sup>†</sup>	53.2 ± 3.4 [290] <sup>‡</sup>	102.2
IV	5	69.1 ± 2.8 [310] <sup>†</sup>	51.4 ± 3.8 [280] <sup>‡</sup>	74.4

\* ; p<0.005 vs group I, # ; p<0.005 vs group I, a ; Each group / group I,  
b ; Reperfusion 20 min / Equilibrium 10 min (mean ± S.E)

±0.05 kg이었으며, 전체 평균 체중은 1.62±0.3 kg으로 각 군간의 유의한 차이는 없었고, 적출한 심장의 무게는 제 I군이 4.4±0.4 gm, 제 II군은 5.3±0.3 gm, 제 III군은 5.4±0.2 gm, 제 IV군은 5.5±0.3 gm이었으며, 전체 평균 심장무게는 5.2±0.9 gm으로 역시 각 군간의 유의한 차이는 없었다(P>0.05) (Table 2).

## 2. 좌심실 압력(LVDP)의 변화

제 I군에서 평형상태 10분에 40.8±4.7 mmHg이었다가 허혈 후 재관류 20분에서 44.2±4.6 mmHg로 좌심실 압력이 다른 군에 비해 가장 낮았고, 재관류 20분의 압력이 평형상태 10분의 압력의 108%로 조금 회복되었지만 압력을 계속 유지하지는 못했다. 제 II, III, IV군에서 평형상태 10분의 좌심실 압력이 60±7.9 mmHg, 72.1±5.3 mmHg(P<0.01), 87±11.0 mmHg (P<0.025)로 제 I군의 40.8±4.7 mmHg에 비해 유의하게 높았으며, 허혈 후 재관류 20분의 좌심실 압력은 74±5.3 mmHg(P<0.01), 72±5.6 mmHg(P<0.025), 58±7.2 mmHg로 제

II, III군이 제 I군의 44.2±4.6 mmHg에 비해 유의하게 높은 압력을 나타내었으나, 제 IV군은 제 I군에 비해 높은 압력을 유지하였지만 통계적 유의성은 없었다. 그리고 재관류 20분의 압력이 제 II군에서는 평형상태의 압력의 123%로 회복되었으며 제 III군은 99%로 평형상태의 압력을 유지하였으나 제 III군은 평형상태의 압력의 67% 밖에 회복되지 않았다 (Table 3).

## 3. 관 관류량의 변화

평형 상태보다 재관류시 관 관류량이 감소하였으며, 제 I군에서 평형상태 10분에 22.7±2.3 ml 이었다가 재관류 20분에 18.3±3.3 ml/min로 평형상태 10분의 관 관류량의 80.6% 회복되었고, 제 II군은 평형상태 10분에 71.3±6.2 ml/min에서 재관류 20분에 58.8±2.5 ml/min로 82.5%, 제 III군은 평형상태 10분에 52.1±2.6 ml/min에서 재관류 20분에 53.2±3.4 ml/min로 102.2% 회복되어 다른 군에 비해 평형상태의 관 관류량을 유지할 수 있었으나 유의한 차이는 없었다. 그리고

Table 5. Comparison of lactate dehydrogenase level at the coronary flow in each group

Group	Number of cases	lactate dehydrogenase level (IU/L)		
		Equilibrium 10 min	Reperfusion 20 min	R20/E10 <sup>a</sup> (%)
I	6	1.8 ± 0.25	2.5 ± 0.3	138.8
II	5	1.8 ± 0.38	3.4 ± 0.18	188.9
III	10	2.2 ± 0.1	1.9 ± 0.19	86.3
IV	5	4.6 ± 0.34	3.4 ± 0.36	73.9

\* ; no significance in statistical analysis, a; Reperfusion 20 min / Equilibrium 10 min (mean ± S.E).

Table 6. Comparison of α-hydroxybutyric dehydrogenase level at the coronary flow in each group

Group	Number of cases	α-hydroxybutyric dehydrogenase level (IU/L)		
		Equilibrium 10 min	Reperfusion 20 min	R20/E10 <sup>a</sup> (%)
I	6	34.0 ± 0.42	34.8 ± 0.28	102.3
II	5	34.2 ± 0.46	33.4 ± 0.22	97.7
III	10	34.1 ± 0.13	33.1 ± 0.24	37.1
IV	5	33.2 ± 0.98	31.2 ± 0.36	94.0

\* ; no significance in statistical analysis, a ; Reperfusion 20 min / Equilibrium 1-min (mean ± S.E).

제 IV군은 평형상태 10분에 69.1±2.8 ml/min에서 재관류 20분에 51.4±3.8 ml/min로 74.4% 회복되어 제 I군에 비해 낮은 회복율을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

제 II, III, IV군에서 평형상태 10분의 관 관류량이 제 I군에 비해 각각 310%, 230%, 310%로, 재관류 20분의 관 관류량도 제 I군에 비해 각각 270%, 290%, 280%로 통계적으로 유의한 증가가 있었다(P<0.005)(Table 4).

#### 4. 관 관류액내의 lactate dehydrogenase 효소치의 변화

평형상태 10분에서의 관 관류액내의 LDH 효소치는 제 I군이 1.8±1.5 IU/L, 제 II군이 1.8±1.9 IU/L, 제 III군이 2.2±1.0 IU/L, 제 IV군이 4.6±1.7 IU/L로 제 4군이 가장 높게 측정되었고 제 I군에 비해 LDH 효소치가 크게 증가하였으나 통계적으로 유의성은 없었다. 재관류 20분에서의 관 관류액내의 LDH 효소치는 제 I군이 2.5±1.8 IU/L, 제 II군이 3.4±0.9 IU/L로 평형상태에 비해 증가하였고 제 III군이 1.9±2.8 IU/L, 제 IV군이 3.4±1.8 IU/L로 낮게 측정되었으나 통계적으로 유의성은 없었다(Table 5).

#### 5. 관 관류액내의 α-Hydroxybutyric dehydrogenase 효소치의 변화

관 관류액내의 α-HBD 효소치는 각 군간의 차이가 없을

뿐만 아니라 평형상태와 재관류간의 효소치의 증감에도 유의한 차이가 없었다(Table 6).

#### 6. 심근내의 lactic dehydrogenase, creatine kinase, adenosine deaminase, α-hydroxybutyric dehydrogenase 효소치의 비교 분석

재관류를 마친 후 채취한 심근에서 처리한 조직액내의 4 종류의 효소들을 정량 검사한 결과, LDH 효소치는 제 II군이 64780±4728 IU/gm, 제 III군이 57495±1158 IU/gm으로 제 I군에 비해 높게 측정되었으나 통계적인 유의성은 없었으며, 제 IV군은 33495±1802 IU/gm (p<0.04)로 제 I군의 48767±1421 IU/gm에 비하여 유의하게 낮게 측정되었다.

CK-MB 효소치는 제 II군이 74820±7054 IU/gm(p<0.01)으로 제 I군의 45450±1737 IU/gm에 비하여 유의하게 높게 측정되었으며, 제 III군은 49355±1154 IU/gm으로 제 I군과 유사한 측정치를 보인 반면 IV군은 75507±27.507 IU/gm으로 차이는 있었으나 통계적으로 유의성은 없었다.

ADA 효소치는 제 I, II, III 군에서는 125±15 IU/gm, 131±19 IU/gm, 120±3 IU/gm으로 서로 비슷하게 측정되었으나, 제 IV군에서는 1215±8 IU/gm(p<0.005)으로 제 I군에 비해 약 10 배의 ADA 효소치가 유의하게 많이 측정되었다.

**Table 7.** Comparison of lactic dehydrogenase, creatine kinase-MB, adenosine deaminase,  $\alpha$ -hydroxybutylic dehydrogenase levels at the myocardial tissue in each group

Group	No. of cases	LDH	CK-MB	ADA	$\alpha$ -HBD
I	6	48767 $\pm$ 1421	45450 + 1737	125 $\pm$ 15	24292 $\pm$ 629
II	5	64780 $\pm$ 4728	74820 + 7054	131 $\pm$ 19	31465 $\pm$ 2064
III	10	57495 $\pm$ 1158	49355 $\pm$ 1154	120 $\pm$ 3	27275 $\pm$ 512
IV	5	33495 $\pm$ 1802	75507 $\pm$ 5501	1215 $\pm$ 8***	33495 + 1802

\*; p<0.04 vs group I, \*\*; p<0.01 vs group I, \*\*\*; p<0.005 vs group I, (mean  $\pm$  S.E),  
LDH; Lactate dehydrogenase, CK-MB; Creatine Kinase MB, ADA; Adenosine deaminase,  $\alpha$ -HBD;  $\alpha$ -hydroxybutylic dehydrogenase.

$\alpha$ -HBD 효소치는 제 I군이 24292 $\pm$ 629 IU/gm, 제 II군은 31465 $\pm$ 2064 IU/gm, 제 III군은 27275 $\pm$ 512 IU/gm, 제 IV군이 33495 $\pm$ 1802 IU/gm으로, 제 II,IV군이 제 I군에 비해 약간 높게 측정되었으나 통계적으로 유의성은 없었다(Table 7).

## 고 찰

심근 손상으로부터 빠른 회복과 심근 보호 작용이 잘 되기 위해서는 심근세포의 수축 활동이 원활하여야하고 관 류량을 증가시키면서 심근 세포에 존재하는 기질들의 대사 작용을 촉진시키는 효소가 필요하다. 저자는 강력한 강심 작용을 가진 bipyridin 유도체인 cyclic AMP PDSI와 NTI의 일종인 NBT를 선정하여 본 연구에 임하게 되었다.

C-AMP는 secondary messenger로서 4개의 subunit로 구성되어 있는 phosphoprotein phosphatase를 활성화시키며 이의 증가 감소로 세포내의 당질대사, 지질대사 및 단백질 대사에 중요하게 관여한다. NBT는 nucleoside 전이 억제제로서 adenosine을 inosine, xanthine으로 전환시키는 과정에 작용하는 효소이며, salvage pathway를 차단하여 adenosine의 분해 작용을 억제함으로써 심근 수축에 필요한 AMP, ADP와 ATP의 양을 보존하여 결과적으로 허혈심근의 수축력을 보존하며 구조적으로나 기능적으로 심근의 보호여부를 관찰기 위함이다.

NTI에는 몇 종류의 약제가 있으나 저자는 S-(P-nitrobenzyl)-6-thio-inosine으로 선정하여 허혈전후와 재관류의 전과정을 통하여 주입시킴으로서 소기의 목적을 얻으려고 시도하였고, 최근 강력한 adenosine deaminase inhibitor인 Erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl) adenine<sup>9)</sup>과 pentostatin(2-deoxycoformycin, Nipent<sup>®</sup> Parke-Davis USA)이 개발되었는데 이는 2'-deoxyinosine 유사물질이다. 구조적으로는 Pentostatin은 2'-deoxyinosine의 6환 구조가 7환 구조로 되어 있고 2번기의 keto기가 제2차 알콜로 대체된 화합물로서 이런 구조변화에

의해 adenosine deaminase와의 결합능력이 adenosine에 비해 1,000만 배 강력해져서 일반 nucleoside의 deamination을 저지케 된다. 이러한 이유로 C-AMP와 NBT는 개별적으로는 심근 보호 효과가 있으나 함께 사용할 경우 상승 효과가 없을 수도 있다. 저자의 경우에서도 C-AMP PDSI와 NBT를 함께 투여한 제 IV군에서 제 II,III군에 비해 좌심실 압력이나 관 류량의 상승 증가 효과는 없었다. 그러나 임상에서는 현재 개발된 강심제 단독사용만으로는 미흡한 경우가 허다한 실정이므로 2개의 혹은 그 이상의 약제투여를 필요로 한다.

C-AMP PDSI는 인체에서 강력한 강심 효과보다는 오히려 관동맥을 확장시켜 허혈 심근을 조속히 회복시키는 작용인 반면 강심 효과는 이차적으로 일어나며 또한 장기적으로 사용시 약제자체의 부작용이 우려되고 있다.

본 연구에 사용한 실험동물로 가토를 사용하게 되었는데 이는 토끼의 심장이 부형 혈로가 적으므로 항경색 약제의 검색에 좋기 때문이다<sup>10)</sup>.

Schrader와 West<sup>11)</sup>는 토끼를 대상으로 한 실험에서 ADA와 ADA complexing 단백질의 조직내 분포를 면역 조직 화학 염색법으로 조사하여 본 결과 ADA는 내피세포와 이웃한 pericytes 내에서 검출이 되고 세동맥에서는 강하게 염색이 된다는 사실을 발견하였으나 정맥에는 염색은 되나 매우 약하게 염색되었다. 이러한 사실은 혈장과 간질내의 ADA의 자유교환을 방해하는 대사장벽으로 작용하는 효소들이 있다는 것을 의미한다. 반면에 심내막이나 심외막의 세포들과 단핵구 염증세포나 결체 조직의 섬유모세포에는 ADA효소가 전무하다는 사실을 지적하였다.

정상 심근은 다른 장기에서 보다 5배 이상의 에너지를 필요로 하기 때문에 많은 양의 ATP를 보유하고 있어 심장기능을 유지하는데 적절히 쓰이고 있다. 실험에서는 병이 없는 가토이므로 충분한 양의 ATP가 이미 잘 보존된 상태라는 것을 인정해야 하며 허혈 시간을 짧게 계획한 것이 실험 결과 중에 LVDP의 성적에 영향을 준 것으로 생각된다. ATP량과

심기능 간에는 직접 관련이 있으며 즉 ATP량이 많으면 심기능이 좋다는 뜻이다. 허혈동안 ATP가 소실되고 심하면 고갈상태로 되는데 이때 NTI를 처치하면 ATP 고갈을 완화시킨다고 Abd-Elfattah등<sup>12)</sup> 이 보고하였다.

본 실험에 채택한 LDH는 생체 내에서 해당계(glycolysis system)의 최종단계에서 작용하는 효소로 L-lactate를 pyruvate로 전환하는 가역반응을 촉매하며 분자량이 약 14,000으로 2개의 subunit M과 H가 결합으로 구성되는 4배체로 5개의 분획으로 구성되어있다. 관류내에서 측정 시는 대부분 심장에서 누출이 되는 LD1으로 구성되어 있다고 생각된다.

$\alpha$ -HBD 효소치는 급성 심근경색에서는 특히 증가하는데 그 변화양상은 발병 1일에 90%환자에서 정상 상한선을 넘어 평균 2배의 증가를 보이고 발병 3~5일에 가장 많이 증가하며 이상 활성치 출현율은 94~98%에 달하고 허혈 후 감소한다는 보고<sup>13-15)</sup>가 있으나, 저자들의 경우 허혈 전후의  $\alpha$ -HBD 효소치의 변화는 각 군에서 유의한 차이가 없었다.

관 관류량의 변화는 cyclic AMP의 강심 작용을 증가시킬 수 있는 C-AMP PDSI와 NBT를 투여하지 않은 제 1군에서는 81%의 회복율을 보였으나 실험 II, III, IV 군에서는 약3배 전후의 증가를 보인 것은 C-AMP PDSI와 NBT가 관 관류량의 증가에는 탁월한 효과가 있다는 것을 확인하였다.

최심실 수축기 압력은 허혈 후 감소하는 것이 일반적이거나 본 실험에서는 20분으로 허혈 시간이 짧았기 때문에 대조군의 평형상태에 비해 거의 같은 압력을 얻은 것으로 보인다. 다른 약제로 실험한 박성달 등<sup>15)</sup>, 조형곤 등<sup>3)</sup>, 박승규<sup>16)</sup> 등의 결과에 비하면 본 실험의 결과는 확실히 효과가 높았다.

심근내의 구조적 효소의 종류가 대단히 많으며 세포자체의 복잡한 기능을 유지하기 위해 세포질 내에는 중요한 효소가 있으나 그 중에서도 저자는 임상에서 이미 인정된 4가지 효소들 LDH,  $\alpha$ -HBD, CK-MB와 ADA 효소치들을 검정하였다. 박성달 등<sup>15)</sup>은 심조직의 간질 조직내 투석법으로 CK-MB 효소치를 검정해 본 바, 허혈로 인하여 일시적으로 증가하였다가 감소하는 현상이 있음을 보고한 바 있다. 저자의 경우에는 NTI를 투여하지 않은 제 I군과 NTI 투여군에서는 거의 동일한 효소치였으나 C-AMP PDSI에 의해서는 CK-MB 효소치가 가장 적은 누출을 보였고 심근 내에서 증가되어 있었다. 조형곤 등<sup>3)</sup>은 심근 조직내의 CK-MB, ADA 효소치와 유산을 정량한 결과는 유산축적은 심근에 해로운 것으로 판단하였으나 CK-MB와 ADA 효소치의 증감에는 의문점이 있음을 제의한 바 있었다.

본 실험에서 ADA 효소치는 각 군에서 차이점이 거의 없었고, 심근 조직 내 LDH 효소치의 감소는 관관류내 LDH의 누출과 관련 있을 것으로 생각되며 LDH 효소치는 누출에 대한 보고가 없으므로 비교가 안되었으나 이러한 작용은

NBT 보다는 C-AMP PDSI 의 작용인 것으로 추측된다. CK-MB 효소치와  $\alpha$ -HBD 효소치의 변화가 비슷한 양상을 보였는데 제 II군과 제 IV군이 높은 효소치를 보였으며 제 III군에서는 약간 증가하는 수준이었다. LDH, CK-MB,  $\alpha$ -HBD 효소치들의 보존 혹은 증가시키는 효과는 C-AMP PDSI가 우수했다는 사실을 입증할 수 있었으나, 심근 조직내의 효소치 변화가 심근 허혈과의 직접적인 효과는 증명되지 않았으며 LDH,  $\alpha$ -HBD 효소치에 대해서는 통계적으로 유의성이 없어 추후 더욱 정밀한 실험을 통한 평가가 필요할 것으로 생각된다.

### 결 론

C-AMP PDSI 와 NBT는 심근 수축력 및 관 관류량의 증가 작용이 있었고 C-AMP PDSI가 허혈 후 심근 회복에 더 유용하다고 생각되나 C-AMP PDSI 와 NBT의 동시 투여로 인한 상승 효과는 기대할 수 없었다. 또한 C-AMP PDSI는 심근 조직 내에 CK-MB 효소치를 높게 유지시키고 C-AMP PDSI + NBT는 LDH 효소치를 낮게, ADA 효소치를 높게 유지시킨다는 것을 알 수 있었다.

### 참 고 문 헌

1. Salamino F, Tullio RD, Michetti M, et al. *Modulation of calpastatin specificity in rat tissue by reversible phosphorylation and dephosphorylation.* Biochemical & biophysical research communication. 1994;199:1326-32.
2. Van Wylan DGL, Willis J, Sodhi J, et al. *Cardiac microdialysis to estimate interstitial adenosine and coronary blood flow.* Am J Physiol 1990;258:H1642-9.
3. 조형곤, 김수현, 김송명. 이식을 위한 가토심장의 장기 보존방법에 관한 비교연구. 대흉외지. 1997;30:1-10.
4. Mair J, Morandell D, Genser N, et al. *Equivalent early sensitivities of myoglobin, creatinine kinase MB mass, creatine kinase isoform ratios, and cardiac troponin I and T for acute myocardial infarction.* Clin Chem 1995; 41(9):1266-72.
5. Zhu Q, Chen S, Eou C. *Protective effects of an adenosine inhibitor on ischemia-reperfusion injury in isolated perfused rat heart.* Am J Physiol 1990;259(H.C.P.28): H835-8.
6. Gulzar SS, Burrier AC, Janero DR. *Adenosine deaminase inhibitors attenuate Ischemic injury and preserve energy balance in isolated guinea pig heart.* Am J Physiol 1993; 265:H129-1256.
7. Koke JR, Fu LM, Sun D, et al. *Inhibitors of adenosine catabolism improve recovery of dog myocardium after ischemia.* Mol Cell Biochem 1989;86:107-13.
8. Schrader WP, West CA. *Localization of adenosine*

- deaminase and adenosine deaminase complexing protein in rabbit heart implications for adenosine metabolism. Circulation research 1990;66:754-62.*
9. Kirsch U, Rodewald G, Kalmar P. *Induced ischemic arrest. J Thorac Cardiovasc Surg 1972;63:121-30.*
  10. Downey JM, Miura T, Eddy LJ, et al. *Xanthine oxidase in not a source of free radicals in the ischemic rabbit heart. J Mol Cell Cardiol 1987;19:1053-60.*
  11. Schrader WP, West CA. *Localization of adenosine and adenosine deaminase complexing protein in rabbit heart. Circ Res 1990;66:754-62.*
  12. Abd-Elfattah AS, Wechsler AS. *Separation between ischemic and reperfusion injury by site specific entrapment of endogenous adenosine and inosine NBMPR and EHNA. J Card Surg 1994;9[Suppl]:387-96.*
  13. 정인섭, 김송명. Langendorff 분리 쥐 심모형에 L-carnitine 이 허혈성 심근에 미치는 효과. *대흉외지 1991;24:429-37.*
  14. 이재성, 김송명, 김규태. 적출 쥐 심장의 장시간 보존에 University of Wisconsin 수정용액의 우수성. *대흉외지 1993;26:427-40.*
  15. 박성달, 김송명. 미세투석기를 이용한 실험적 급성 허혈 심근에 관한 연구. *대흉외지 1993;26:441-51.*
  16. 박승규, 박병륜, 성시찬, 정황규. 흰쥐의 허혈심장에서의 Adenosine의 심근보호효과에 관한 연구. *대흉외지 1990; 23:1090-106.*

**=국문초록=**

**배경:** Nucleoside transport inhibitor(NTI)는 adenosine의 분해 작용을 억제함으로써 AMP, ADP와 ATP의 량을 보존하여 허혈 심근의 수축력을 보존한다. 본 연구에서는 cyclic AMP phosphodiesterase inhibitor (C-AMP PDSI)와 NTI의 일종인 S-P-nitrobenzyl-6- thioinosine(NBT)를 투여하여 심근 보호 효과 및 구성효소의 변화를 알아보고자 하였다. **대상 및 방법:** 적출된 가토 심장을 정압형 Langendorff 실험모형에 장치한 후 대조군(제I군: 6마리), C-AMP PDSI 군(제II군: 5마리), NBT 군(제III군: 10마리), C-AMP PDSI + NBT 군(제IV군: 5마리)으로 나누어 평형상태와 20분 허혈후 재관류 하였을 때, 각 군의 혈 역학적 변화, 관 관류액 내의 lactate dehydrogenase(LDH),  $\alpha$ -hydroxybutyric acid( $\alpha$ -HBD) 효소치의 변화 및 심근내의 LDH, creatine kinase-MB (CK-MB), adenosine deaminase(ADA),  $\alpha$ -HBD 효소치를 비교 분석하였다. **결과:** 좌심실 압력의 변화는 평형상태 10분에서 제 III군이  $72.1 \pm 5.3$  mmHg( $p < 0.01$ ), 제 IV군이  $87 \pm 11.0$  mmHg( $p < 0.025$ )로 제 I군의  $40.8 \pm 4.7$  mmHg에 비하여, 재관류 20분에서 제 II군이  $74 \pm 5.3$  mmHg( $p < 0.01$ ), 제 III군이  $72 \pm 5.6$  mmHg( $p < 0.025$ )로 제 I군의  $44.2 \pm 4.6$  mmHg에 비하여 유의하게 압력이 높았으며 제 II군에서 재관류시 평형상태에 대한 좌심실 압력의 회복율이 123.3%로 가장 높았다. 평형상태 및 재관류시에 관 관류량의 회복율은 제 I군과 비교했을 때 제 II군이 310%, 270%, 제 III군이 230%, 290%, 제 IV군이 310%, 280%로 모두 유의하게 높았다. 관 관류액 내의 LDH 효소치와  $\alpha$ -HBD 효소치의 변화는 각 군간의 유의한 차이가 없었으나, 심근 조직내 LDH 효소치는 제 IV군이  $33495 \pm 1802$  IU/gm( $p < 0.04$ )로 제 I군의  $48767 \pm 1421$  IU/gm에 비하여 유의하게 낮게 측정되었으며, CK-MB 효소치는 제 II군이  $74820 \pm 7054$  IU/gm( $p < 0.01$ )으로 제 I군의  $45450 \pm 1737$  IU/gm에 비하여, ADA 효소치는 제 IV군이  $1215 \pm 8$  IU/gm( $p < 0.005$ )으로 제 I군의  $125 \pm 15$  IU/gm에 비하여 유의하게 높게 측정되었다. **결론:** C-AMP PDSI는 단독 사용시 NBT보다 허혈 후 심근 보호 효과가 더 우수하고 생각되나 NBT와의 동시 투여로 인한 상승 효과는 없었으며, C-AMP PDSI가 심근조직 내의 CK-MB 효소치를 높게 유지시키는 것으로 생각된다.

- 중심단어:**
1. 심근허혈
  2. 심근보호
  3. 효소