기니픽 적출 심장 허혈-재관류 모델에서 Thiopental이 다형핵중성구의 허혈 후 흡착과 심장 기능에 미치는 영향

고려대학교 의과대학 마취통증의학교실, *건국대학교 의과대학 마취통증의학교실

최성욱 · 조 현 · 임춘학 · 이혜원 · 임혜자
윤석민 · 장성호 · 강포순*

= Abstract =

Effects of Thiopental on the Adhesion of Polymorphonuclear Neutrophils and Myocardial Function in an Ischemia/Reperfusion Isolated Guinea Pig Heart Model

Sung Uk Choi, M.D., Hun Cho, M.D., Choon Hak Lim, M.D., Hye Won Lee, M.D., Hae Ja Lim, M.D., Suk Min Yoon, M.D., Seong Ho Chang, M.D., and Po Soon Kang, M.D.*

Department of Anesthesia and Pain Medicine, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

*Department of Anesthesiology, College of Medicine, Kon-Kuk University, Choong Ju, Korea

Background: The adhesion of polymorphonuclear neutrophils (PMNs) to the coronary endothelium is an crucial step in PMN-mediated reperfusion injury. The purpose of this study was to investigate whether thiopental inhibits the postischemic coronary vascular adhesion of PMNs, and results in reduced postischemic myocardial dysfunction in isolated guinea pig hearts.

Methods: Hearts (n = 6-8/group) were isolated from male-guinea pigs and perfused with modified Krebs-Henseleit solution. After isolation, hearts were stabilized for 10 minutes, perfused for 15 minutes, allowed an ischemic period for 30 minutes, and a reperfusion period of 60 minutes (C group). In the P group, a bolus of 1×10^6 PMNs was infused 2 minutes after reperfusion, and in the T group additional thiopental was infused 5 minutes after the start of reperfusion, and PMNs were infused on 2 minutes after reperfusion. PMN adhesion (%), LVDP, LVEDP, $\pm$ dP/dt, HR, and CF were measured pre- and postischemia.

Results: The addition of thiopental (25 μ M) to the perfusate reduced the postischemic coronary vascular adhesion of PMNs ($72.5 \pm 4.5\%$ vs $40.0 \pm 7.4\%$, $P < 0.05$) and prevented postischemic myocardial dysfunction compared with group P ($73.5 \pm 6.9\%$ vs $48.4 \pm 3.0\%$, $P < 0.05$).

Conclusions: Postischemic myocardial dysfunction is significantly more pronounced after PMN infusion. Thiopental reduced the postischemic coronary vascular adhesion of PMNs and attenuated the myocardial dysfunction, which was responsible at least in part, for the cardioprotective effect. (Korean J Anesthesiol 2003; 44: 709~716)

Key Words: Ischemia; polymorphonuclear neutrophils (PMN); reperfusion, thiopental.

논문접수일 : 2003년 2월 20일

책임저자 : 조 현, 서울시 성북구 안암동 5가 126-1, 고려대학교 의과대학 마취통증의학교실, 우편번호: 136-705

Tel: 02-920-5632, Fax: 02-928-2275, E-mail: painfree365@unitel.co.kr

석사학위 논문임.

서 론

심근허혈 후 발생하는 심근의 기능장애는 허혈손상(ischemic injury) 뿐 아니라 허혈 후 발생하는 재관류손상(reperfusion injury)에 의해서도 일어나는데¹⁾ 산소자유기(oxygen free radicals), 혈소판 및 다형핵중성구 등에 의한 세포손상이 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.^{2,4)} 다형핵중성구(polymorphonuclear neutrophil)가 활성화되면 산소자유기와 단백질을 분해하는 효소들이 배출되어 세포 독성을 일으키며, 관상동맥 내피세포에 흡착하여 심근 손상을 유발한다. 따라서, 다형핵중성구가 관상동맥 내막에 흡착하는 것을 방지함으로써 심근 손상을 막을 수 있다고 하였다.^{5,6)}

흡입 마취제인 halothane, isoflurane, sevoflurane은 K^+_{ATP} channel을 활성화시켜 재관류 후 심근을 보호한다고 알려져 있으며,^{7,8)} 심허혈 후 다형핵중성구의 관상동맥 흡착을 억제함으로써 심근 기능의 향상을 가져온다는 보고도 있다.^{9,10)}

정맥 마취제인 thiopental, midazolam, ketamine 등도 심허혈 후 다형핵중성구의 관상동맥 흡착을 감소시킨다는 보고가 있으나¹¹⁾ 관상동맥 흡착억제가 허혈 후 재관류시 심기능장애에 어떠한 영향을 미치는 지에 대해서는 잘 알려지지 않았다.

마취유도시 사용되는 thiopental sodium은 항산화(antioxidant) 기능을 가지고 있어¹²⁾ 직접적인 산소 유리기의 청소효과(scavenging effect)와 지질 과산화(lipid peroxidation)를 방해하는 기능을 가지고 있으며, 용량에 비례하여 다형핵중성구의 부착과 탐식작용(phagocytosis)을 감소시킨다고 한다.¹³⁾

따라서 thiopental이 허혈-재관류 모델에서 다형핵중성구에 의한 추가적인 손상을 예방할 수 있으리라 가정하여 본 연구를 계획하게 되었고, thiopental sodium이 다형핵중성구의 관상동맥 흡착과 심허혈 후 재관류시 심근기능 장애에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 본 연구를 착수하였다.

대상 및 방법

실험 동물은 몸무게 250 g에서 300 g 사이의 웅성 기니피크(Guinea pig)를 사용하였으며, 안정된 상태를 유지하기 위하여 고려대학교 의료원 안암병원 동물

실험실 관리지침을 준수하였고, 실험전까지 동일한 환경에서 자유롭게 먹이에 접근할 수 있도록 하였다.

심장 적출을 위하여 복강 내로 체중 100 g 당 ketamine 10 mg을 주사한 후 heparin 1000 IU을 주사하였다. 실험동물이 완전히 마취된 후 흉벽의 좌우연을 절개하여 흉곽을 노출시킨 후 대동맥에 Langendorff 관류 장치(Hugo-Sachs Elektronik D-79232, Germany)의 관류액 출구 캐놀라를 대동맥판막 상부에 카테터의 끝이 위치하도록 삽입하여 관류액이 관상동맥에 역행성으로 관류하도록 한 후 하행, 상행 대정맥, 홀정맥(azygos vein)을 묶고 기타 조직을 제거하고 심장을 적출하여 Langendorff 관류 장치에 현수하였다.

관류액은 변형 Krebs-용액(Modified Krebs-Henseleit buffer)으로 그 조성은 NaCl 118 mM, KCl 4.7 mM, $MgSO_4$ 1.64 mM, KH_2PO_4 1.18 mM, $NaHCO_3$ 24.88 mM, glucose 5.55 mM, $CaCl_2$ 2.52 mM Na-EDTA 0.5 mM이 되도록 하였다. 관류액과 수조 온도는 자동적으로 온도가 조절되는 항온순환기(Jeio Tech, Model WBC 1520A)를 이용하여 $37 \pm 0.2^\circ C$ 로 유지하였으며, 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합가스를 분당 3 L로 Langendorff 관류 장치의 산화기에 통과시켜 관류액에 포화되도록 하였으며 관류액의 pH가 7.4 ± 0.02 로 유지되도록 하였다. 관류액 순환 펌프를 이용하여 관류액 저장 수조로부터 Langendorff 관류 장치로 관류액을 순환시킨 후 산화기를 통과한 물기 등의 높이를 75 cm로 설치하여 심장으로 유입하는 관류액의 관류압이 50 mmHg가 되도록 유지하였다. 따뜻한 증류수로 채운 외경이 3 mm인 latex 풍선을 좌심방에서 승모판을 통해 좌심실로 삽입하고, 이를 압력센서(transducer)를 통해 생리기록기(Grass Model No. 79)에 연결하여 좌심실압(LVP)을 등용성으로 측정하였고 좌심실압 순간변화율(dp/dt)과 심박수도 전기적으로 얻어져 컴퓨터의 인식 프로그램(Acknowledge program, MP 100 manager version 3.5.2, Biopac system Inc., USA)을 이용하여 지속적으로 기록하였다. 이때 좌심실의 확장기말압(end-diastolic pressure, LVEDP)이 5-10 mmHg를 유지하도록 풍선의 크기를 조절하였다. 폐동맥에 캐놀라를 삽입하여 관상정맥동 유출액(coronary sinus effluent)을 모아 그 유출량을 측정하여 관류량(coronary flow)으로 하였다.

다형핵중성구를 얻기 위하여 건강한 자원자로부터

신선한 정맥혈 10 cc를 채취하였다. 채취한 혈액에 0.1% EDTA를 투여하여 응고를 예방하고 10분 동안 380 g에서 원심분리를 시행한 후 혈장은 버리고 부유액(buffy coat)을 조심스럽게 모아 CD 15에 대한 iron-tagged monoclonal antibody (CD 15 MicroBeads, Miltenyi Biotec, Germany)와 함께 4°C에서 15분 동안 배양(incubation)시켰다. 그 후 magnetized column (Separation Unit, Mini MACS, Miltenyi Biotec, Germany)에 통과시켜 column내에 다형핵중성구와 결합된 iron-tagged monoclonal antibody가 붙도록 하였다. Phosphate-buffered saline (pH 7.4)으로 씻어 column에 붙지 않는 세포들을 씻어낸 후 자기장으로부터 column을 분리하였다. 이후 phosphate-buffered saline로부터 다형핵중성구를 추출하여 그 추출액을 10분 동안 380 g에서 원심분리를 시켜서 cell pellet을 10 ml Tyrode's solution에 넣고, 이때 다형핵중성구의 숫자는 Tyrode's solution 1 ml당 1×10^6 개 정도가 되었다.

모든 준비를 마치고 10분 동안 일정한 압력으로 관류를 시켜 심장을 안정화시켰으며 15분 동안 관류액을 역행성으로 대동맥 캐놀라를 통해 주입한 후 30분 동안 심장에 관류액을 차단하여 허혈을 유발시켰다.

실험대상은 세 개의 군으로 나누어 허혈 후 아무런 처치를 시행하지 않은 군을 대조군(C군), 허혈 후 다형핵중성구를 1분 동안 주입시킨 PMN군(P군), 허혈 후 다형핵중성구를 주입하기 1분 전부터 thiopental을 5분 동안 주입한 Thiopental군(T군)으로 하였다.

안정기에 측정한 각군의 기본 측정치와 실험동물의 몸무게는 각 군간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1).

다형핵중성구를 주입한 시점부터 2분 동안 폐동맥 캐놀라를 통해 배출되는 관상정맥동 유출액을 모아 다형핵중성구가 관상 혈관의 내막에 침착되는 정도

를 계산하였다. 재관류 1분 후에 1분 동안 주입되는 다형핵중성구의 정확한 수를 알기위해 1분 동안 대동맥 캐놀라를 통해 주입하는 주사기에서 1 ml의 Tyrode's solution를 뽑아 그때의 다형핵중성구의 수치를 주입수(PMN input)으로 하고, 관상 정맥동 유출액에 나오는 다형핵중성구의 숫자를 배출수(PMN output)로 하여 관상혈관계 내막에 침착된 다형핵중성구의 분율을 다음과 같은 공식에 의해 계산하였다.

$$\text{PMN Adhesion (\%)} = \{1 - (\text{PMN output}/\text{PMN input})\} \times 100$$

다형핵중성구의 흡착이 심장기능에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 허혈 전과 재관류 후 60동안 LVDP의 회복율, 좌심실확장기말 압력(LVEDP), 순간변화율의 회복정도, 관상동맥 혈류량, 그리고 심박수 등을 측정하였다.

측정된 모든 값들은 평균 $\pm$ SEM으로 표시하였고, 통계분석은 SAS program (version 6.12)을 사용하여 PMN 흡착 차이는 Wilcoxon rank sum test를 이용하였으며, 군간의 비교는 Kurskal-Wallis test를 이용하였고, 차이가 있을 경우 median test와 Wilcoxon test를 시행하였다. P값은 0.05 미만일 때 의미있는 것으로 간주하였다.

결 과

허혈 후 재관류 2분에 PMN을 주입한 P군의 경우에는 다형핵중성구의 흡착률이 $72.5 \pm 4.5\%$ 였고, thiopental을 재관류 시작후 5분 동안 주입한 T군의 경우에는 $40.0 \pm 7.4\%$ 의 흡착률을 보여 P군에 비해 유의하게 흡착률의 감소를 보였다($P < 0.05$, Fig. 1).

Table 1. Subject Characteristics

Group	Weight (g)	LVP (mmHg)	dP/dt (mmHg/sec)	CF (ml)	HR (/min)
C	279 $\pm$ 27.3	78.2 $\pm$ 7.7	1129 $\pm$ 196.3	9.6 $\pm$ 1.3	200.0 $\pm$ 12.3
P	270 $\pm$ 20.9	70.8 $\pm$ 8.8	909 $\pm$ 213.7	9.1 $\pm$ 1.9	195.6 $\pm$ 13.3
T	275 $\pm$ 25.3	77.8 $\pm$ 5.9	1207 $\pm$ 248.8	10.0 $\pm$ 1.4	199.2 $\pm$ 19.4

Values are mean $\pm$ SD. LVP: left ventricular development pressure, dP/dt: rate of ventricular pressure generation, CF: coronary flow, HR: heart rate. There were no significant differences among the three groups.

Fig. 1. Adhesion of PMNs to the isolated guinea pig coronary system on early reperfusion periods. Thiopental at 25 μ M significantly reduced postischemic adhesion of PMN. Values are mean $\pm$ SEM. P group: PMNs were infused for 1 min in the second minutes of reperfusion. T group: Thiopental at 25 μ M was infused from the start of reperfusion to 5 min after the start of reperfusion and PMNs were infused for 1 min in the second minutes of reperfusion. *P < 0.05 versus the P group.

Fig. 2. Heart rate in isolated hearts before ischemia and during 60-min reperfusion. All groups were decreased in heart rate. In P group, heart rate was significantly decreased in comparison with preischemic value. Values are mean $\pm$ SEM. P group: PMNs were infused for 1 min in the second minutes of reperfusion. T group: Thiopental at 25 μ M was infused from the start of reperfusion to 5 min after the start of reperfusion and PMNs were infused for 1 min in the second minutes of reperfusion. *P < 0.05 versus the preischemic value. †P < 0.05 versus the P group.

Fig. 3. Percent changes in left ventricular development pressure (LVDP) in isolated hearts before ischemia and during 60-min reperfusion after 30-min global ischemia. All groups were subjected to 30-min of global ischemia, which caused loss of recovery. After application of 1×10^6 PMNs in the second min of reperfusion, in PMN group (P), maximal recovery of LVDP was significantly decreased in comparison with ischemia-control group (C), but not when infusion of PMNs occurred in the presence of thiopental (T). The abbreviations are the same as Fig. 1 and 2. *P < 0.05 versus the preischemic value, †P < 0.05 versus the P group.

Fig. 4. Left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP) in isolated hearts before ischemia and during 60-min reperfusion after 30-min global ischemia. All groups were subjected to 30 min of global ischemia, which caused increase in end-diastolic pressure during first few minutes. After 60 min reperfusion, the pressure of T group was significantly lowered in comparison with P group, but not different from control group (C). The abbreviations are the same as Fig. 1 and 2. *P < 0.05 versus the preischemic value, †P < 0.05 versus the P group.

심박수의 경우에는 세군 모두에서 허혈전 기준값에 비해 감소하는 경향을 보였으나 P군을 제외하고는 허혈전 기준값과 차이가 없었고, 재관류 60분에 비교한 심박수의 경우에는 C군과 T군 모두 P군과 통계적인 차이를 보였다($P < 0.05$, Fig. 2).

좌심실 생성압 회복율(recovery of left ventricular developed pressure)은 모든 군에서 재관류 5분에 허혈전 기준값에 비해 유의한 감소를 보였으며($P < 0.05$), 재관류 동안 점차 회복되는 양상을 보였으나 허혈전 기준값에 비해 유의한 감소를 보였다($P < 0.05$, Fig. 3).

30분 동안의 관류액 차단 후 다시 60분 간의 재관류 후에 얻은 좌심실 생성압 회복율은 허혈전에 비해 C군에서는 $63.3 \pm 7.9\%$, 다형핵중성구만을 투여한 P군에서는 $48.4 \pm 3.0\%$, thiopental을 다형핵중성구와 병용투여한 T군에서는 $73.5 \pm 6.9\%$ 의 회복율을 보여 P군에 비해 T군에서 통계적으로 유의한 결과를 얻었다($P < 0.05$, Fig. 3).

좌심실 확장기말압(LVEDP)은 60분 간의 재관류 후 모든 군에서 허혈 전 기준값에 비해 통계적으로 유의하게($P < 0.05$) 증가하였고, P군에서 25.6 ± 7.5 , T군에서 16.4 ± 7.1 로 두 군 사이에 통계적으로 유의한 결과를 얻었다($P < 0.05$) (Fig. 4).

Fig. 5. Positive left ventricular pressure change over time during a cardiac cycle (dP/dt in mmHg/s) as a percentage of preischemic +dP/dt during K-H buffer reperfusion after ischemia. All values during K-H buffer reperfusion were statistically different from their respective preischemic values in all groups. In the P group, the +dP/dt was lowest during reperfusion. The abbreviations are the same as Fig. 1 and 2. * $P < 0.05$ versus the preischemic value, $^{\dagger}P < 0.05$ versus the P group.

좌심실압의 순간 변화율(Recovery of +dP/dt, -dP/dt)은 모든 군에서 재관류 초기 5분에 허혈전 기준값에 비해 유의한 감소를 보였고($P < 0.05$), 재관류 동안 점차 회복되었으나 허혈전 기준값에 비해서 통계적으로 유의한 감소를 보였다($P < 0.05$).

+dP/dt 회복율은 C군에서 $76.8 \pm 6.3\%$, P군에서

Fig. 6. Negative left ventricular pressure change over time during a cardiac cycle (dP/dt in mmHg/s) as a percentage of preischemic -dP/dt during K-H buffer reperfusion after ischemia. All values during K-H buffer reperfusion were statistically different from their respective preischemic values in all groups. In the P group, the -dP/dt was lowest during reperfusion. The abbreviations are the same as Fig. 1 and 2. * $P < 0.05$ versus the preischemic value, $^{\dagger}P < 0.05$ versus the P group.

Fig. 7. Coronary flow in isolated hearts before ischemia and during 60-min reperfusion. All groups were significantly reduced in coronary flow, but not different from each group. The abbreviations are the same as Fig. 1 and 2. * $P < 0.05$ versus the preischemic value.

60.2 ± 7.4%, T군에서 84.0 ± 9.2%이 회복을 보여 P군에 비해 T군에서 통계적으로 유의한 결과를 얻었으나(P < 0.05), C군과 T군 사이에는 통계적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 5).

-dP/dt 회복율은 C군에서 73.8 ± 7.1%, P군에서 52.8 ± 9.2%, T군에서 74.8 ± 6.5%의 회복율을 보였고, 역시 P군과 T군 사이에는 통계적으로 유의한 차를 보였으나(P < 0.05), C군과 T군 사이에는 통계적으로 차이가 없었다(Fig. 6).

관상동맥 혈류량은 모든 군에서 허혈 전 기준값에 비해 통계적으로 유의하게(P < 0.05) 감소하였으나 각 군간에는 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 7).

고 찰

본 연구는 기니픽의 Langendorff 모델에서 30분간 허혈 후 재관류시 thiopental이 PMN의 흡착과 심기능 장애에 미치는 영향을 조사한 것으로 thiopental은 PMN의 흡착을 억제하며, 또한 심기능 장애를 개선시키는 것으로 관찰되었다.

결과에서 보듯 허혈-재관류 손상은 심근의 기능을 감소시키고, 재관류 초기에 투여한 다형핵중성구에 의해 더욱 악화되었다. 이것은 이미 Heindl 등과¹⁰⁾ Szekely 등의¹¹⁾ 연구에서 보여준 결과와 유사한 결과이며 좌심실생성압회복율은 통상적인 허혈-재관류 모델에서는 허혈 전 기준 값들에 비해 63.3 ± 7.9% 회복되는데 비해 다형핵중성구가 주입된 P군에서는 48.4 ± 3.0%로 회복율이 급격히 감소되어 다형핵중성구에 의한 심근기능저하를 관찰할 수 있었다. 하지만, thiopental이 다형핵중성구와 동시에 투여된 T군에서는 73.5 ± 6.9%로 회복율이 향상됨을 관찰할 수 있었는데, 이것은 thiopental이 작용기전은 불명확하지만 다형핵중성구에 의해 일어나는 추가적인 손상으로부터 심근을 보호하는 것을 보여주는 소견이라 할 수 있다.

좌심실생성압회복율이 허혈 후 5분에 가장 낮은 회복율을 보이며 좌심실 확장기말 압력(LVEDP)은 증가하기 시작하여 대개 허혈 후 10분 정도에 최고로 증가하다가 LVDP가 회복되는 것에 비례하여 확장기말 압력 역시 감소하였다. 이것은 아마도 다형핵중성구가 재관류 손상의 초기 몇 분에 가장 많은 손상을 유발한다는 것을 보여주는 것이라 하겠다.¹⁴⁾

좌심실압 순간 변화률에서도 심근의 수축력을 나타내는 +dP/dt에서는 대조군이나 thiopental을 처치한 군에서 각각 76.8 ± 6.3, 84.0 ± 9.2% 정도의 회복율을 보였으나 다형핵중성구를 투여한 군에서는 60.2 ± 7.4%의 회복율 밖에 보이지 않음을 알 수 있고, 심근의 이완정도를 나타내는 지표인 -dP/dt 역시 비슷한 양상을 보였다. 두 결과 모두 앞서 설명한 LVDP의 결과와 시간대별로 나타난 회복율에 있어 유사한 양상을 보여주었다.

관류량은 재관류 동안 허혈 전 기준값들에 비해 유의하게 감소하는데 이것은 허혈 후 재관류 손상시 심장기능을 감소시키는데 부분적인 영향력을 행사했을 것으로 생각되며 그 기전은 아마도 혈관내피-의존이완(endothelium-dependent relaxation)이 감소하여 생긴 것이라 생각되었다.¹⁵⁾

세포의 내부 구조가 보존되어 심근 세포의 괴사가 오지 않는 가역적인 경우에도 재관류시에 심기능의 손상이 일어날 수 있다.¹⁶⁾ 짧은 기간의 심근 허혈 후 발생하는 심근 기절(myocardial stunning)은 허혈 직후의 재관류 손상 때문이며^{17,18)} 그 기전은 산소 유리기, 칼슘이온의 과부하, 심근의 흥분-수축과정의 비정상적인 반응 혹은 혈소판, 다형핵중성구가 관여한다는 것 등인데,^{2,19,20)} 허혈 손상을 받은 심근세포에서 분비되는 화학유인물질(chemotactic factor)에 의하여 다형핵중성구가 모이면 수용성 염증전구 물질(soluble proinflammatory cytokine: N-formyl peptide, C5a, platelet activating factor)에 의해 다형핵중성구가 활성화되고 활성화된 다형핵중성구로부터 산소유리기(superoxide anions, hydrogen peroxide) 등이 생성되어 일련의 연쇄반응이 일어나게 되고, 산소유리기에 민감한 관상동맥이 손상을 받는다.²⁰⁾ 손상받은 관상동맥 내피세포는 다형핵중성구가 부착될 수 있도록 부착분자(adhesion molecule, ICAM-1)를 발현시켜 다형핵중성구의 CD11/CD18과 상호작용으로 다형핵중성구가 내피세포에 부착되어 내피세포 사이로 이동하여 허혈-재관류 손상은 증폭되게 된다.¹⁴⁾ 이러한 이론적 배경하에 다양한 항-중성구 치료(anti-neutrophil therapy) 방법이 시도되고 있는데 그 종류로는 antiserum을 이용하여 다형핵중성구를 제거하여 심근 경색의 정도를 줄이거나(neutrophil depletion),²¹⁾ 다형핵중성구와 내피세포의 흡착을 방해하여 재관류 손상을 감소시키거나(anti-adhesion molecule therapy),^{22,23)}

항-다형핵중성구 성질을 갖는 물질인 산화질소(NO)나 adenosine 등을 투여하여 재판류 손상을 막는 방법 등이 있다.^{24,25)}

본 실험에서 thiopental이 다형핵중성구 흡착에 미치는 영향과 허혈 후 그에 따른 심장기능 개선 정도를 평가하기 위하여 사람의 다형핵중성구를 사용하였는데 이것은 사람의 다형핵중성구를 사용함으로써 실험에 사용되는 실험 동물의 수를 줄일 수 있으며, 항원 항체 반응을 이용하여 짧은 시간에 다형핵중성구를 분리할 수 있고, 기존의 percoll 방법에 의한 추출보다 다형핵중성구의 활성도가 적다는 장점이 있다.²⁶⁾ 또한, 기니픽의 적출 심장 모델에서 허혈전과 허혈후 상태에서도 다형핵중성구의 침착 정도가 사람의 다형핵중성구에서와 양적으로 비슷하다고 하였다.²⁷⁾

Thiopental은 심근을 억제하고 혈관을 확장시키며,²⁸⁾ 뇌에서 뇌혈류와 뇌대사량을 감소시켜 저산소증과 뇌허혈의 여러 모델에서 뇌를 보호하는 것으로 알려져 있다.^{29,30)} 특히, thiopental은 뛰어난 뇌 보호효과가 있어³¹⁾ 뇌동맥류 환자에서 수술 중 뇌보호를 위하여 흔히 투여되고 있으며, 이러한 기능들로 인해 뇌에서의 허혈-재관류 손상을 막는 기전에 대한 연구가 활발하다. 그 외에도 직접적으로 항산화작용이 있고,¹²⁾ 과산화음이온(superoxide anion)과 과산화수소의 생성억제,³²⁾ 다형핵중성구의 편광(polarization) 억제³³⁾ 등이 알려져 있다. 또한 Szekely 등은¹¹⁾ propofol, midazolam, thiopental 등이 허혈-재관류 모델에서 다형핵중성구가 관상동맥 내피세포에 부착되는 것을 감소시킨다고 하였다.

본 연구가 갖고 있는 한계점으로는 다음과 같은 것들이 있다. 우선, 실제 임상상황과는 다른 동물 실험이 갖는 제한점, 예를 들면 사람의 심장은 전해질로만 구성된 용액(crystalloid buffer)으로 순환되지 않고, 심장 기능에 직접적인 영향을 미치는 전혈(whole blood)로 순환되며, 다형핵중성구의 활성을 조절할 수 있는 혈액내 다른 구성성분(혈소판, 보체 등)이 제거된 상태로 순수한 다형핵중성구의 영향만을 살펴본 것 또한 본 실험의 한계로 생각되며, 마지막으로 이중간의 실험으로 인해 실제 동종간의 다형핵중성구가 일으키는 관상동맥 내피세포와의 상호작용과는 차이가 있을 것이다.

Thiopental의 혈장치료농도는 대략 28-57 μ M로³⁴⁾ 알려져 있으나 지방용해도가 높고 비이온화율이 60%에 이르는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서는 thiopental을

25 μ M인 한가지 농도만을 사용하였으므로 앞으로 다양한 농도에서의 실험이 병행되어 농도-효과 관계를 나타내는 지를 살펴보아야 할 것이다. 그 외에도 앞으로 심근의 조직학적인 자료를 추가하여 다형핵중성구의 흡착을 보다 명확하게 설명할 수 있어야 할 것이고, 실제 동종간의 다형핵중성구를 이용한 실험으로 본 실험결과를 설명하는 단계가 필요하리라 생각된다.

결론적으로 기니픽 Langendorff model에서 30분간의 허혈 후 재판류 시 thiopental의 투여는 다형핵중성구의 흡착을 억제하였고, 재판류 손상에 의한 심기능 장애를 개선시켰다.

참 고 문 헌

1. Braunwald E, Kloner RA: Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J Clin Invest* 1985; 76: 1713-9.
2. Garlick PB, Davies MJ, Hearse DJ, Slater TF: Direct detection of free radicals in the reperfused rat heart using electron spin resonance spectroscopy. *Circ Res* 1987; 75: 282-91.
3. Heindl B, Zahler S, Welsch U, Becker BF: Opposite effects of adhesion and degranulation of platelets on myocardial and coronary function in postischemic hearts. *Cardiovasc Res* 1998; 38: 383-94.
4. Kupatt C, Habazettl H, Zahler S, Weber C, Becker BF, Messmer K, et al: ACE-inhibition prevents postischemic coronary leukocyte adhesion and leukocyte-dependent reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 1997; 36: 386-95.
5. Szekely A, Heindl B, Zahler S, Conzen PF, Becker BF: S(+)-ketamine, but not R(-)-ketamine, reduces postischemic adherence of neutrophils in the coronary system of isolated guinea pig hearts. *Anesth Analg* 1999; 88: 1017-24.
6. Kupatt C, Zahler S, Seligmann C, Massoudy P, Becker BF, Gerlach E: Nitric oxide mitigates leucocyte adhesion and vascular leak after myocardial ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 643-54.
7. Kersten JR, Schmeling TJ, Hettrick DA, Pagel PS, Groos GJ, Warltier DC: Mechanism of myocardial protection by isoflurane: role of adenosine triphosphate-refluated potassium (K_{ATP}) channels. *Anesthesiology* 1996; 85: 794-807.
8. Nakayama M, Fujita S, Kanaya N, Tsuchida H, Maniki A: Blockade of ATP-sensitive K^+ channel abolishes the anti-ischemic effects of isoflurane in dog heart. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41: 513-5.

9. Kowalski C, Zahler S, Becker BF, Flaucher A, Conzen PF, Gerlach E, et al: Halothane, isoflurane, and sevoflurane reduce postischemic adhesion of neutrophils in the coronary system. *Anesthesiology* 1997; 86: 188-95.
10. Heindl B, Reichle FM, Zahler S, Conzen PF, Becker BF: Sevoflurane and isoflurane protect the reperfused guinea pig heart by reducing postischemic adhesion of polymorphonuclear neutrophils. *Anesthesiology* 1999; 91: 521-30.
11. Szekely A, Heindl H, Zahler S, Conzen PF, Becker BF: Nonuniform behavior of intravenous anesthetics on postischemic adhesion of neutrophils in the guinea pig heart. *Anesth Analg* 2000; 90: 1293-300.
12. Davidson JA, Boom SJ, Pearsall FJ, Zhang P, Ramsay G: Comparison of the effects of four i.v. anaesthetic agents on polymorphonuclear leucocyte function. *Br J Anaesth* 1995; 74: 315-8.
13. Krumholz W, Demel C, Jung S, Meuthen G, Hempelmann G: The influence of intravenous anaesthetics on polymorphonuclear leukocyte function. *Can J Anaesth* 1993; 40: 770-4.
14. Hansen PR: Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1995; 91: 1872-85.
15. Lipton BP, Bautista AP, Delcarpio JB, McDonough KH: Effects of endotoxin on neutrophil-mediated I/R injury in isolated perfused rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H802-11.
16. Jennings RB, Schaper J, Hill ML: Effect of reperfusion late in the phase of reversible ischemic injury. Change in cell volume, electrolytes, metabolites, and ultrastructure. *Cir Res* 1985; 56: 262-78.
17. Braunwald E, Kloner RA: The stunned myocardium: Prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982; 66: 1146-9.
18. Reimer KA, Tanaka M, Murry CE, Richard VJ, Jennings RB: Evaluation of free radical injury in myocardium. *Toxicol Pathol* 1990; 18: 470-80.
19. Bolli R: Mechanism of myocardial "stunning". *Circulation* 1990; 82: 723-38.
20. Jordan JE, Zhao Z-Q, Vinten-Johansen J: The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 860-78.
21. Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA, Lucchesi BR: Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983; 67: 1016-23.
22. Lefer DJ, Shandelya SM, Serrano Jr. CV, Becker LC, Kuppusamy P, Zweier JL: Cardioprotective actions of a monoclonal antibody against CD18 in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Circulation* 1993; 88: 1779-87.
23. Arai M, Lefer DJ, So T, DiPaula A, Aversano T, Becker LC: An anti-CD18 antibody limits infarct size and preserves left ventricular function in dogs with ischemia and 48-hour reperfusion in dogs. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 1278-85.
24. Sato H, Zhao Z-Q, Vinten-Johansen J: L-Arginine inhibits neutrophil adherence and coronary artery dysfunction. *Cardiovasc Res* 1996; 31: 63-72.
25. Firestein GS, Bullough DA, Erion MD, Jimenez R, Ramirez-Weinhouse M, Barankiewicz J, et al: Inhibition of neutrophil adhesion by adenosine and an adenosine kinase inhibitor. The role of selectins. *J Immunol* 1995; 154: 326-334.
26. Zahler S, Kowalski C, Brosig A, Kupatt C, Becker BF, Gerlach E: The function of neutrophils isolated by a magnetic antibody cell separation technique is not altered in comparison to a density gradient centrifugation method. *J Immunol Methods* 1997; 200: 173-9.
27. Zahler S, Kupatt C, Seligmann C, Kowalski C, Becker BF, Gerlach E: Retention of leukocytes in reperfused isolated hearts does not cause hemodynamically relevant permanent capillary plugging. *Eur J Physiol* 1997; 433: 713-20.
28. Todd MM, Drummond JC, Hoi Sang U: The hemodynamic consequences of high dose thiopental anesthesia. *Anesth Analg* 1985; 64: 681-7.
29. Smith AL: Barbiturate protection in cerebral hypoxia. *Anesthesiology* 1977; 47: 285-93.
30. Shapiro HM: Barbiturate in brain ischemia. *Br J Anaesth* 1985; 57: 82-5.
31. Guo J, White JA, Batjer HH: The protective effect of thiopental on brain stem ischemia. *Neurosurgery* 1995; 37: 490-5.
32. Krumholz W, Demel C, Jung S, Menthen C, Knecht J, Hempelmann G: The effects of thiopentone, etomidate, ketamine and midazolam on several bactericidal functions of polymorphonuclear leucocytes in vitro. *Eur J Anaesth* 1995; 12: 141-6.
33. O'Donnell NG, McSharry CP, Wilkinson PC, Asbury AJ: Comparison of the inhibitor effects of propofol, thiopentone and midazolam on neutrophil polarization in vitro in the presence and absence of human serum albumin. *Br J Anaesth* 1992; 69: 70-4.
34. Doenicke A: General pharmacology of barbiturates, duration of action, metabolism, physicochemical factors. *Acta Anesthesiol Scand (Suppl)* 1965; 17: 11-6.