내독소(Endotoxin)의 뇌혈류 자동조절에 대한 초기 효과

가톨릭대학교 의과대학 마취과학교실

송호경 · 김의숙 · 송병훈 · 이철우 · 김태관

Early Effect of Endotoxin on Cerebral Autoregulation

Ho Kyung Song, M.D., Yee Suk Kim, M.D., Byung Hoon Song, M.D., Chul Woo Lee, M.D., and Tae Kwan Kim, M.D.

Department of Anesthesiology, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Background: Under normal conditions, cerebral blood flow is regulated as cerebral perfusion pressure changes (autoregulation). Inflammatory conditions like bacterial meningitis result in a loss of cerebral autoregulation several hours after exposure to bacterial endotoxin. Endotoxin appears to produce effects via the production of reactive oxygen species, such as the superoxide anion.

Methods: Cerebral blood flow (CBF) was measured by hydrogen clearance in anesthetized rats 30 minutes after intravenous endotoxin 5 mg/kg or normal saline (control). Mean arterial pressure was reduced from 100 mmHg to 80 mmHg and 60 mmHg by hemorrhagic hypotension, and cerebral blood flow was measured at each pressure.

Results: In the control group, CBF did not change when arterial pressure was reduced to 80 mmHg (113.9 ml vs 111.9 ml), but declined significantly at 60 mmHg (113.9 ml vs 88.4 ml). In the group treated with endotoxin, both a reduction of mean arterial pressure to 80 mmHg (129.8 ml vs 101.8 ml) and 60 mmHg (129.8 ml vs 78.4 ml) caused a significant reduction in CBF, indicating that autoregulation had been abolished.

Conclusions: The results of this study indicate that within minutes of endotoxin exposure, CBF markedly increased, and that the autoregulation of CBF was inhibited. (Korean J Anesthesiol 2003; 45: 774~778)

Key Words: autoregulation, cerebral blood flow (CBF), endotoxin, meningitis.

서론

임상적으로 중추신경계의 감염이 생기면 뇌관류압의 감소,¹⁾ 뇌압의 증가,²⁾ 대사 이상,³⁾ 또는 뇌부종^{1,2)} 등의 여러 가지 중추장애를 나타내는 것으로 알려져 있다. 그리고 실험적으로 패혈증 상태를 만들기 위해 내독소를 전신적으로 주입하면 대식세포,⁴⁾ 혈관평활근세포,⁵⁾ 성상세포(astrocyte),⁶⁾ 소교세포(microglia)와 신경원(neuron)에서 inducible nitric oxide synthetase (iNOS)와^{7,8)} type 2 cyclooxygenase (COX-2)을⁹⁾ 유도, 발현시키어 전신혈관 확장작용을 나타내며 뇌 혈관계는 지속적인 과혈류 효과(hyperemic effect)를 나타내어^{7,9)} 뇌혈류의 자동조절을 손상시키며 뇌관류압에도 영향을 미친다.¹⁾

정상적으로는 뇌관류압이 감소된 경우, 뇌혈류를 일정하게 유지하게 위해 뇌혈관 확장이 오게된다. 또한 생리적으로 평균동맥압이 감소하게 되면 체내 혈관확장제인 calcitonin-gene related peptide,¹⁰⁾ adenosine수용체의 활성화,¹¹⁾ ATP-sensitive potassium channels의 활성화¹²⁾ 및 NO 등을¹³⁾ 통해 뇌혈관의 확장이 일어난다. 그러나 내독소는 혈관에서 상당량의 superoxide anion을 생성, 증가시키고,¹⁴⁾ 이 물질은 NO와 같은 생체 내에서 분비되는 혈관확장제(endogenous vasodilator)에 대한 혈관의 반응성을 감소시킨다.¹⁴⁾ 한편 체내 혈관확장제가 기능을 하기 위해서는 혈관 내피세포가 필요한데 만약 혈관 내피세포의 손상이 있는 경우는 이러한 autoregulatory vasodilation이 일어나지 못하게 된다.¹⁵⁾

현재 내독소의 뇌혈류에 관한 연구에서 내독소 주입 후 뇌관류압 저하, 뇌부종 또는 뇌혈류 자동조절 손상 등의 지연 효과에 관한 연구들은 많이 있으나¹⁶⁻¹⁸⁾ 주입 후 단시간 이내 일어나는 초기효과, 특히 뇌혈류 자동 조절능력에 대한 연구는 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 전신적으로 내독소를 주입하는 경우 단시간 이내에 일어나는 뇌혈류의 자동조절능 약화 여부를 평가하였다.

논문접수일 : 2003년 4월 10일

책임저자 : 김태관, 경기도 부천시 원미구 소사동 2

가톨릭대학교 의과대학 성가병원 마취통증의학과

우편번호: 420-717

Tel: 032-340-2158, Fax: 032-340-2664

E-mail: 3tkkim@hfh.cuk.ac.kr

대상 및 방법

몸무게 332 ± 36 gm의 수컷 Sprague-Dawley 32마리를 대상으로 하였다. 플라스틱 박스 안에서 4-5% halothane과 100% 산소로 마취유도를 한 후 자극에 무반응 상태가 되었을 때 플라스틱 박스로부터 꺼내어 1% lidocaine으로 피하침윤을 하여 기관지 절개술을 시행하고, 1.0% halothane과 40%의 아산화질소와 산소 혼합가스로 동물 마취기계를 이용하여 호기말 이산화탄소 분압이 정상범위를 유지하도록 기계 호흡을 하였다. 서혜부를 1% lidocaine으로 침윤시킨 후 양측 서혜부 동맥과 편측 서혜부 정맥에 카테터를 삽입하여 동맥압을 지속적으로 측정하였고, 동맥혈을 간헐적으로 채취하여 동맥혈 가스분석을 시행하였다. 혈색소치는 microcapillary tube centrifugation을 이용하여 측정하였고, 직장(rectum) 체온을 가온패드(heating pad) 이용하여 $37-38^{\circ}\text{C}$ 로 유지시켰다.

Hydrogen clearance를 이용한 뇌혈류의 측정

실험 동물을 복위(prone)로 하여 stereotaxic frame에 고정하였고, 두정골(parietal bone)의 두피, 근육과 골막(periosteum)을 절개하여 좌측 두정부에 air-cooled drill을 이용하여 작은 사이즈(약 직경 5 mm) 개두술(craniotomy)을 시행하였다. 수술부위 출혈은 ferric chloride 용액으로 지혈하였고, craniotomy 절개 부위의 출혈은 bone-wax로 지혈하였다. 현미경 하에서 27 gauge 바늘을 이용하여 경막과 연막 세동맥(pial arterioles)의 출혈을 피하면서 조심스럽게 경막을 절개하였고, micromanipulator를 이용하여 $25\mu\text{m}$ 직경의 wire electrode를 1.5 mm 깊이로 삽입하였다. 이 electrode는 90% 백금과 10% iridium wire (Medwire^R Mediwire, Mt. Vernon, USA)로 되어 있고, 끝은 유리로 절연되어 있으며 wire의 tip은 1.5 mm 정도 밖으로 노출되어 있다. Reference electrode는 목의 피하 조직에 위치 시켰으며, 백금전극은 Ag/AgCl의 reference electrode에 대하여 + 250 mV로 전위(polarization) 되게 하였다. 뇌혈류량을 측정하기 위해 H_2 가스를 마취흡입 가스에 혼합하여 투여하였고, 전위증폭기(polarization amplifier)의 전류를 기록하였다. Electrode output이 평형에 도달하였을 때 즉 10-20분이 경과한 후 H_2 가스의 주입을 중지하고 washout curve를 기록하였다. 뇌혈류는 $T_{1/2}$ 방법을 이용하여 H_2 clearance curve에서 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{CBF (ml/100 gm/min)} = 0693 \cdot 60 \text{ sec} \cdot 100 \text{ gm/l} \cdot T^{1/2}$$

λ 는 H_2 에 대한 partition coefficient이며 1로 간주하였다.

실험동물의 처치

실험동물을 무작위로 대조군($n = 16$)과 내독소 처리군($n = 16$)으로 나누었다. 내독소 처리군은 내독소(E. coli 055; B5, Sigma, MO, USA) 5 mg/kg를 3 ml 생리 식염수에 녹여서 정맥 내로 5분에 걸쳐 서서히 주입하였고, 대조군은 동량의 생리식염수를 주입하였다. 내독소나 생리식염수를 주입 후 저혈압을 막기 위해 methoxamine (Sigma, USA) 2 mg/ml을 서혜부 정맥을 통해 지속 점적을 하여 대조군과 내독소 처리군에서 모두 평균동맥압 100 mmHg을 유지하였다. 내독소 또는 생리식염수 처리 후 30분 경과하여 평균동맥압 100 mmHg에서 hydrogen clearance를 이용하여 뇌혈류량을 측정하였다. 이 측정에는 약 15분 정도의 시간이 소요되었다. 다음 heparinized reservoir를 이용하여 평균 1 mmHg/sec의 속도로 출혈시키는 방법으로 평균 동맥압 80 mmHg으로 감소시켰다. 그리고 80 mmHg로 저하시킨 혈압에서 지속적으로 5분 동안 안정과 평형을 유지시킨 후 hydrogen clearance 방법을 이용하여 같은 방법으로 뇌혈류량을 측정하였다. 평균 동맥압 60 mmHg에서도 동일한 방법으로 하여 혈압을 유지시킨 후 뇌혈류량을 측정하였다. 각각의 두군에서 평균 동맥압을 100 mmHg에서 80 mmHg과 60 mmHg로 유지시키고, hydrogen clearance를 이용하여 뇌혈류 측정에 소요된 총 시간의 평균은 대조군은 135분, 내독소 처리군에서는 171분이었다.

결과 분석

실험성적은 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였고, 통계처리는 Sigma-Stat (Version 2.03, SPSS, USA)을 사용하였다. 생리적 변수와 투입된 methoxamine양과 평균동맥압 100 mmHg에서의 뇌혈류는 unpaired T test로 검정하였고, 평균 동맥압 80 mmHg와 60 mmHg에서의 뇌혈류 비교는 반복 측정 분산분석을 사용하여 실시하였고 $P < 0.05$ 일 때 유의한 차이로 판정했다.

결 과

Methoxamine 투여량은 평균 동맥압 100 mmHg에서 대조군은 0.36 ± 0.34 mg/hr, 내독소 처리군에서는 0.32 ± 0.32 mg/hr으로 두 군에서 차이가 없었다. 내독소 처리군에서는 내독소 투여 후 뇌혈류량이 투여하기 전 84.2 ± 26.2 ml/100 gm/min에 비하여 내독소 투여 후 135.4 ± 28.2 ml/100 gm/min으로 유의하게 증가하였다($P < 0.01$). 평균 동맥압, 동맥혈 산소분압(PaO_2), 동맥혈 이산화탄소 분압(PaCO_2), 혈색소치는 평균동맥압 100 mmHg, 80 mmHg, 60 mmHg에서 차이가 없었다(Table 1). 그러나 내독소 처리군에서는 동맥혈 pH가 평균 동맥압 80 mmHg과 60 mmHg에서 유의하게 낮았다($P < 0.05$).

Table 1. Physiologic Variables

	MAP 100		MAP 80		MAP 60	
	Control	Endotoxin	Control	Endotoxin	Control	Endotoxin
pH	7.33 ± 0.04	7.34 ± 0.03	7.35 ± 0.02	7.33 ± 0.03*	7.36 ± 0.03	7.31 ± 0.05*
PaO ₂ (mmHg)	196 ± 51	201 ± 35	197 ± 24	205 ± 31	201 ± 34	202 ± 57
PaCO ₂ (mmHg)	42 ± 3	40 ± 3	42 ± 3	42 ± 3	39 ± 3	40 ± 3
MAP (mmHg)	103 ± 6	105 ± 6	78 ± 5	78 ± 6	58 ± 4	58 ± 3
Hct (%)	36 ± 3	36 ± 3	36 ± 5	37 ± 3	35 ± 3	35 ± 3

Values are mean ± SD. MAP 100: period of mean arterial pressure 100 mmHg, MAP 80: period of mean arterial pressure 80 mmHg, and MAP 60: period of mean arterial pressure 60 mmHg. There were no significant difference between two groups except pH in endotoxin-treated group at MAP 80 mmHg. *P < 0.05 compared to the control value at the same MAP.

Fig. 1. Mean arterial pressure vs. cerebral blood flow in the control (■) and endotoxin (●) groups. The cerebral blood flow of endotoxin-treated group showed a changes in response to mean arterial pressure changes. *P < 0.05 compared to cerebral blood flow within each group at 100 mmHg.

평균동맥압 100 mmHg에서의 뇌혈류는 양 군 간에 차이가 없었다. 그러나 평균동맥압이 80 mmHg로 감소되었을 때 뇌혈류는 내독소 처리군에서 유의하게 감소하였다. 그리고 평균 동맥압 60 mmHg에서 뇌혈류는 양군에서 평균 동맥압 100 mmHg일 때의 뇌혈류 보다 유의한 감소를 보였다 (P < 0.05)(Fig. 1).

고 찰

본 연구에서는 실험 쥐를 내독소에 노출시킨 후 단시간 이내의 초기 뇌혈류 변화를 관찰한 것으로서, 내독소에 의해 뇌혈류는 161%로 과도하게 증가되었고, 평균동맥압이 감소에 따라 뇌혈류의 자동조절 기능이 손상되는 것을 알 수 있었다. 이는 group B streptococci를 뇌 피질 표면에 직

접 노출시켜 수막염을 유발한 실험에서¹⁷⁾ 농도와 시간에 비례하여 뇌 표면의 연막 세동맥이 과도하게 확장되었으며, 연쇄 구균성 폐렴균(*Streptococcus pneumoniae*)을 수조 내 (intracistern)로 주입한 토끼 실험에서는 뇌 혈관이 뇌 관류 압 변화에 대해 적절히 반응하지 못하고 평균 동맥압 변화에 의존적으로 뇌혈류가 변한다고¹⁸⁾ 보고한 실험 결과들과 일치하였다.

뇌혈류의 자동조절은 광범위한 평균 동맥압 변화에 대해 일정한 뇌관류압을 유지하는 것으로 이 자동조절이 손상되는 원인으로는 뇌허혈, 저산소증, 외상, 대사 이상이나 수막염(meningitis) 또는 뇌염(encephalitis)과 같은 염증의 경우가 있다. 뇌의 자동조절 기능은 뇌관류압의 변화에 대해 저항 혈관의 수축과 확장을 통해 일어나는데, 뇌의 대사적 요구에 따라 관류되는 혈류의 자동조절이 손상되면 심각한 저관류(hypoperfusion) 또는 과관류(hyperperfusion)가 생기고 이는 뇌허혈과 뇌부종을 심화시켜 심각한 뇌손상을 초래한다.¹⁹⁾

세균성 수막염(bacterial meningitis)과 같이 내독소에 장기간 노출 시, 뇌혈류는 평균 동맥압의 감소 변화에 대해 적절히 반응하지 못하고, 뇌혈류의 자동조절 능력을 상실한다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 중추신경계의 감염 시 이러한 자동조절 기능이 상실되는 것에 대한 기전은 잘 알려져 있지 않으나 지금까지의 연구에 따르면, 세균(bacteria)에 노출 시 뇌혈류 조절에 중요한 저항혈관인 연막 세동맥이 최대 용량까지 확장된다고 한다.⁷⁻⁹⁾ 그리하여 시간이 경과하면서, 혈관이 지속적인 확장을 보이며, 이로 인하여 혈관 평활근이 손상되어¹⁷⁾ 생리적으로는 뇌혈관의 수축 또는 확장에 가장 강력한 자극인 동맥혈 이산화탄소 분압(PaCO₂)에 대한 반응성까지 상실되는 즉, 저항 뇌혈관의 기능부전(dysfunction)을 초래한다.¹⁷⁾

전신적으로 내독소를 주입한 경우 뇌혈관이 확장되는 기전은 혈관평활근세포,⁵⁾ 성상세포(astrocyte),⁶⁾ 소교세포(microglia) 등에서 iNOS와 COX-2의 발현이 유도되어, 용량과 시간에 비례하여 뇌 세동맥을 과도하게 확장시켜 뇌혈류를 증가시

킨다고 한다.⁷⁻⁹⁾ 전에는 뇌막염 초기에 나타나게 되는 뇌혈류의 변화, 뇌부종 및 뇌압의 증가와 같은 병태 생리적인 변화에 prostanoid,¹⁶⁾ oxygen-derived radicals,^{16,17)} cytokine과 같은 매개체(mediator)가 관여한다고 생각하였으나, 최근 연구에 의하면 염증 반응초기에 활성화된 대식세포, 중성구 또는 혈관에 의해 NO가 생성되고, 이 NO는 혈관 확장작용과 미소혈관계 투과성(microvascular permeability)을 변화시키므로 뇌막염 초기 과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 특히 iNOS를 통한 과량의 NO생성은 내독소성 속(enotoxin shock)과 같은 염증 반응에서 혈액학적 변화(hemodynamic changes)와 세포독성(cytotoxicity)작용에 관여한다.²⁰⁾ 전신적으로 내독소를 투여하였을 때 주입 후 30분 이내에 심장에서 iNOS mRNA가 유도된다는 Bateson 등의²¹⁾ 실험 결과는 염증 반응 초기에 iNOS가 극도로 빨리 유도 발현될 수 있고 과량의 NO를 생성할 수 있음을 뒷받침한다.

한편 염증반응에서 다량의 NO외에도 superoxide radical 이 생성되는데 이 물질은 NO와 결합하여 peroxynitrite를 만든다. 이 물질은 염증 이외의 뇌부종과 뇌허혈/재관류 손상과 같은 여러 병적인 상태에 관여하며 세포독성 작용을 나타내는 것으로 폐렴구균(Pneumococcus)으로 뇌막염을 유발시킨 쥐에서 superoxide anion 유리기(scavenger)인 superoxide dismutase로 처리하였을 때 뇌막염 초기에 나타나는 뇌압의 증가, 뇌수분 함량(brain water content)의 증가를 억제시키는 것으로 보아 superoxide radical 역시 NO와 마찬가지로 뇌막염 초기의 병태 생리 과정에 관여하는 것으로 알려져 있다.²²⁾

본 실험에서 내독소 주입 후 초기 30분 후부터 나타난 과도한 뇌혈류의 증가와 자동조절능력의 소실은 내독소의 유전자 발현과 관련되어 나타난 효과보다는 뇌혈관에 대한 내독소의 직접적인 작용으로써 전신적 저혈압이 발생하기 전에 이미 뇌 혈류의 자동조절 능력은 소실된 것으로 추측된다. 또한 동맥혈 가스의 pH는 평균 동맥압 80 mmHg와 60 mmHg에서 약간 감소하였는데, 이는 내독소의 초기 전신적인 효과에 의한 것으로 볼 수 있으며 동맥혈 이산화탄소 분압의 변화 없이 일어난 약간의 pH 변화는 뇌혈류에는 영향을 주지 않은 것으로 생각된다.

결론적으로 본 실험에서는 내독소를 전신적으로 주입한 쥐에서 혈압의 변화를 유도하여 내독소에 의해 뇌혈류 자가조절 기능이 손상되는 것을 보았다. 그러므로 저자들의 연구 결과는 폐혈증에서 혈압 변동에 따른 뇌허혈, 뇌부종의 발생 위험성이 초기부터 증가할 수 있음을 시사한다.

참 고 문 헌

- Paulson OB, Brodersen P, Hansen EL, Kristensen HS: Regional cerebral blood flow, cerebral metabolic rate of oxygen, and cerebrospinal fluid acid-base variables in patients with acute meningitis and with acute encephalitis. *Acta Med Scand* 1974; 196: 191-8.
- Tauber MG, Khayam-Bashi H, Sande MA: Effects of ampicillin and corticosteroids on brain water content, cerebrospinal fluid pressure, and cerebrospinal fluid lactate levels in experimental pneumococcal meningitis. *J Infect Dis* 1985; 151: 528-34.
- Brook I, Bricknell KS, Overtuf GD, Feingold SM: Measurement of lactic acid in cerebrospinal fluid of patients with infections of the central nervous system. *J Infect Dis* 1978; 137: 384-90.
- Lorsbach RB, Murphy WJ, Lowenstein CJ, Snyder SH, Russel SW: Expression of the nitric oxide synthase gene in mouse macrophages activated for tumor cell killing. *J Biol Chem* 1993; 268: 1908-13.
- Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-6.
- Galea E, Reis DJ, Feinstein DL: Cloning and expression of inducible nitric oxide synthase from rat astrocyte. *J Neurosci Res* 1994; 37: 406-14.
- Brian JE Jr, Heistad DD, Faraci FM: Mechanisms of endotoxin induced dilatation of cerebral arterioles. *Am J Physiol* 1995; 269: H783-8.
- Brian JE Jr, Moore SA, Faraci FA: Expression and vascular effects of cyclooxygenase-2 in brain. *Stroke* 1998; 29: 2600-6.
- Okamoto H, Ito O, Roman RJ, Hudetz AG: Role of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in endotoxin-induced cerebral hyperemia. *Stroke* 1998; 29: 1209-18.
- Hong KW, Pyo KM, Lee WS, Yu SS, Rhim BY: Pharmacological evidence that calcitonin gene-related peptide is implicated in cerebral autoregulation. *Am J Physiol* 1994; 266: H11-6.
- Shin HK, Shin YW, Hong KW: Role of adenosine A (2B) receptors in vasodilation of rat pial artery and cerebral blood flow autoregulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 278: H339-44.
- Toyoda K, Fujii K, Ibayashi S, Kitazono T, Nagao T, Fujishima M: Role of ATP-sensitive potassium channels in brain stem circulation during hypotension. *Am J Physiol* 1997; 273: H1342-6.
- Toyoda K, Fujii K, Ibayashi S, Nagao T, Kitazono T, Fujishima M: Role of nitric oxide in regulation of brain stem circulation during hypotension. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17: 1089-96.
- Gunnnett CA, Heistad DD, Berg DJ, Faraci FM: IL-10 deficiency increases superoxide and endothelial dysfunction during inflammation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: H1555-62.
- Eidson TH, Edrington JL, Albuquerque MLC, Zuckerman SL, Leffler CW: Light/dye microvascular injury eliminates pial arteriolar dilation in hypotensive piglets. *Pediatr Res* 1995; 37: 10-4.
- Pfister HW, Koedel U, Harberl RL, Dirnagl U, Feiden W, Ruckdeschel G, et al: Microvascular changes during the early phase of experimental bacterial meningitis. *J Cereb Blood Flow* 1990; 10: 914-22.
- McKnight AA, Keyes WG, Hudak ML, Jones MD Jr: Oxygen free radicals and the cerebral arteriolar response to group B streptococci. *Pediatr Res* 1992; 31: 640-4.

- Paulson OB, Brodersen P, Hansen EL, Kristensen HS: Regional cerebral blood flow, cerebral metabolic rate of oxygen, and cere-

18. Tureen JH, Dworkin RJ, Kennedy SL, Sachdeva M, Sande MA: Loss of cerebrovascular autoregulation in experimental meningitis in rabbits. *J Clin Invest* 1990; 85: 577-81.
 19. Goitein KJ, Tamir I: Cerebral perfusion pressure in central nervous system infections of infancy and childhood. *J Pediatr* 1983; 103: 40-3.
 20. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-42.
 21. Bateson AN, Jakiwczuk OM, Schulz R: Rapid increase in inducible nitric oxide synthase gene expression in the heart during endotoxemia. *Eur J Pharmacol* 1996; 303: 141-4.
 22. Koedel U, Bernatowicz A, Paul R, Frei K, Fontana A, Pfister HW: Experimental pneumococcal meningitis: cerebrovascular alterations, brain edema, and meningeal inflammation are linked to the production of nitric oxide. *Ann Neurol* 1995; 37: 313-23.
-