Propofol 및 Sevoflurane이 백서의 전뇌허혈 시 세포자멸사와 Bcl-2 계열 단백질 발현에 미치는 효과

부산대학교 의과대학 마취통증의학교실

안 병 규 · 김 운 성 · 권 재 영

The Effects of Propofol and Sevoflurane on Neuronal Apoptosis and Bcl-2 Family Protein Expression after Transient Forebrain Ischemia in the Rat

Byoung Gyu Ahn, M.D., Won Sung Kim, M.D., and Jae Young Kwon, M.D.

Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Pusan National University College of Medicine, Busan, Korea

Background: Anesthetic preconditioning and anesthetics itself have been known to prevent ischemic injury in brain and heart. The purpose of this study was to evaluate the effects of anesthetics and anesthetic preconditioning on neuronal apoptosis and Bcl-2 family protein expression in transient forebrain ischemia.

Methods: Rats were divided into 3 groups and anesthetized with intraperitoneal propofol (P group) or sevoflurane (S and SP groups). In SP group, rats were anesthetized with sevoflurane during 30 minutes and then anesthesia was maintained with intraperitoneal propofol. Forebrain ischemia was produced by both induced hypotension and 10 minutes of common carotid artery clamping.

Results: At 2 days after ischemia, the numbers of necrotic cells in hippocampal CA1 area in S group were less than P and SP groups, and the number of apoptotic cells in S and SP groups were less than P group. The expressions of Bcl-x1 in P and SP groups were less than S group. The expression of Bax in P group was less than S and SP groups. At 2 weeks after ischemia, the numbers of necrotic cells in hippocampal CA1 area in S and SP groups were less than P group, and the numbers of apoptotic cells in S group were less than P and SP groups. The expressions of Bcl-x1 in S group were more than P and SP groups.

Conclusions: Sevoflurane could reduce ischemic injury during transient forebrain ischemia. However the anesthetic preconditioning with sevoflurane could not help to prevent delayed neuronal apoptosis after forebrain ischemia. (Korean J Anesthesiol 2006; 51: 614~21)

Key Words: apoptosis, Bcl-2, brain ischemia, propofol, rat, sevoflurane.

서 론

중추신경계는 허혈에 대단히 민감하여 아주 짧은 시간의 허혈에도 비가역적인 신경손상이 발생할 수 있다. 뇌허혈은 뇌경색의 경우와 같은 국소뇌허혈(local cerebral ischemia)과 심정지와 같은 전반적인 뇌혈류의 차단 후에 발생하는 완전뇌허혈(global cerebral ischemia)로 나눌 수 있다. 그 중 완전뇌허혈의 경우는 마취중의 심정지, 심한저혈압, 외상성

뇌손상 및 심장수술 후에 발생할 가능성이 있으며 한 번 발생하면 치명적이거나 영구적인 신경장애가 발생할 수 있다. 특히 심장수술의 경우는 수술 환자의 약 6%가 어느 정도의 허혈성 뇌손상을 받는다는 연구도 있다.¹⁾ 뇌허혈로 인해 일단 신경손상이 발생하면 그 치료는 거의 불가능하기 때문에 허혈이 발생할 경우에 신경손상을 예방하거나 신경손상의 정도를 줄이는 것이 매우 중요하다.

허혈 후 신경손상이 발생하는 기전은 일차적으로 세포의 산소공급 차단으로 인한 ATP 고갈과 혐기성 대사로 인한 유산의 증가로 세포내 산증이 발생하는 등의 변화가 일어나고, 재관류 후에는 흥분성 신경전달물질의 증가와 세포내 칼슘유입으로 인한 세포 독성, 그 외 여러 인자들을 이차적 신경손상의 기전으로 생각하고 있다. 이런 원인들 외에 허혈 후 재관류시 세포자멸사(apoptosis)를 촉진하는 것이 허혈 후 신경손상, 특히 지연성 신경손상의 원인으로 생각

논문접수일 : 2006년 5월 18일

책임저자 : 권재영, 부산시 서구 아미동 1가 10

부산대학교병원 마취통증의학과, 우편번호: 602-739

Tel: 051-240-7399, Fax: 051-242-7466

E-mail: jykwon@pusan.ac.kr

박사학위 논문임.

하고 있다.²⁾

1990년 Kitagawa 등이³⁾ 신경손상을 유발하지 않을 정도의 짧은 기간의 허혈을 유발시키면 후에 발생하는 장기간의 허혈 시 신경손상을 감소시키는 효과를 나타낸다고 보고하였으며, 이런 현상을 ischemic preconditioning (IPC)이라고 한다. 허혈에 대한 이런 적응은 허혈전의 짧은 허혈에 의한 것뿐만 아니라 여러 종류의 생리적 스트레스 및 마취제에 의한 preconditioning도 IPC와 비슷한 효과를 나타낸다고 하며 이것을 anesthetic preconditioning (APC)이라고 한다.⁴⁾ 허혈 시 preconditioning의 기전은 아직 확실히 밝혀지지 않았으며 여러 유전자와 이온통로의 변화가 기전으로 제시되고 있으며 최근 생쥐의 전뇌허혈 모델에서 세포자멸사를 억제하는 Bcl-2 계열의 단백질이 중요한 역할을 한다는 보고가 있었다.⁵⁾

흡입마취제인 sevoflurane은 뇌대사율을 낮추고 뇌혈류는 증가시키며 확실한 기전은 밝혀지지 않았지만 뇌허혈 시 뇌손상을 방지하는 효과가 있다고 한다.⁶⁾ 정맥마취제인 propofol도 허혈이 있을 때 신경의 전기적 흥분을 억제하여 신경의 대사율을 줄여 허혈성 신경손상을 방지하는 효과가 있다고 알려져 있으나,⁷⁾ 동물실험을 할 때는 propofol 단독으로 투여하는 경우는 잘 없고 흡입마취제로 마취 후 기관내삽관이나 기관절개술을 시행하고 정맥로를 확보한 후 투여하는 경우가 대부분이므로 임상에서 투여하는 것과 차이가 있다. 심근의 허혈 시에는 흡입마취제인 sevoflurane에 비해 허혈성 심근손상의 방지효과가 적다는 보고도 있다.⁸⁾

저자는 propofol과 sevoflurane이 전뇌허혈 후 신경손상에 미치는 영향을 알아보고자 백서에서 전뇌허혈시 허혈 전에 sevoflurane 마취군, propofol 마취군 및 sevoflurane으로 30분간 preconditioning 후 propofol로 마취한 군으로 나누어 허혈 후 세포조직 검사와 세포자멸사에 관계하는 Bcl-2 계열 단백질의 발현검사를 시행하였다.

대상 및 방법

체중 250~300 g의 Sprague-Dawley계 백서를 사용하였다. 모든 실험용 백서들은 12시간 간격으로 명암이 조절되는 사육실에서 물과 먹이를 자유로이 먹게 하였다.

44마리의 백서를 각각 12마리씩 무작위로 선택하여 propofol 투여군(P군), sevoflurane 투여군(S군) 및 sevoflurane 투여 후 propofol 투여군(SP군)의 3군으로 나누었다. 8마리의 백서는 결보기(sham) 수술 군으로, 4마리는 propofol 복강내 투여 후, 4마리는 sevoflurane으로 마취 후 수술조작은 다른 군들과 같이 하였으나 허혈은 유발시키지 않았다.

P군은 백서를 왼손으로 움직이지 못하게 고정된 후 propofol 100 mg/kg와 fentanyl 20µg/kg를 복강 내로 주사하였

다. S군 및 SP군은 백서를 직경 15 cm, 길이 30 cm의 플라스틱 원통에 넣고 5 vol%의 sevoflurane을 유입하여 마취유도 후, 백서의 입과 코가 들어갈 수 있게 고안된 마스크를 통해 sevoflurane 3 vol%를 지속적으로 투여하여 마취를 유지하였다.

마취 후 백서를 양와위로 고정시키고 우측 대퇴 동맥, 정맥을 박리하여 여기에 PE-50 카테터를 삽입하여 지속적으로 혈압측정을 하고 동맥혈가스분석용 혈액채취 및 수액투여로 이용하였다. 동맥 카테터는 일회용 동맥압 감시용 키트(Pressure monitor kit, Model DTX plus, Ohmeda, Singapore)를 이용하여 압력감시기(MacLab, AD instrument, Stone, Australia)에 연결하여 지속적으로 혈압측정을 하였다. 체온은 온도측정 프로브(MacLab, AD instrument, Stone, Australia)를 직장 내에 삽입하여 지속적으로 측정하였다.

P군의 백서는 propofol 10 mg/kg를 정맥 내 투여하고, S 및 SP군의 백서는 마취제 농도를 5 vol%로 증가시켜 마취를 깊게 한 후 16 G의 polyethylene 카테터를 사용하여 기관내삽관을 실시하였다. 기관내삽관 후 설치류용 인공호흡기(Havard rodent ventilator Model 683, Havard Apparatus, Southnatick, USA)에 연결하여 조절호흡을 실시하였다. 일회 호흡량은 2.5-3.0 ml로 하였으며 호흡수는 동맥혈 이산화탄소 분압이 35-45 mmHg가 되도록 분당 60-70회로 조절하였다.

백서의 체온은 정상체온인 37-38°C로 유지하였다. 백서를 양와위로 취한 후 목에 2% lidocaine으로 침윤마취를 시행하고 목의 피부를 황으로 절개하였다. 지혈 후 정맥 카테터를 통해 헤파린 50 unit를 투여하였다. 총경동맥을 박리한 후 정맥카테터로 헤파린이 묻어있는 주사기를 이용하여 혈액을 뽑아서 평균동맥압을 50 mmHg 이하로 하강시킨 후 동맥류 클립을 양측 총경동맥에 거치시켜 총경동맥 혈류를 중단시켰다. 모든 백서에서 10분간의 혈류 차단 후 클립을 제거하여 재관류하였다. 재관류를 할 때는 미리 뽑아두었던 혈액을 다시 주입하여 혈압을 증가시켰다. 혈액 주입 후에도 혈압이 증가하지 않으면 phenylephrine 5µg을 투여하였다. SP군의 백서는 먼저 sevoflurane으로 30분간 마취하고 propofol 100 mg/kg와 fentanyl 20µg/kg를 복강 내로 주사 후, sevoflurane 투여를 중단하고 30분 후 허혈을 유도하였다.

실험조작이 완료된 후 백서의 목을 봉합하고 대퇴동정맥 카테터를 빼고 마취에서 회복시켰다.

허혈 2일과 2주 후에 백서를 마취시킨 후 안락사 시키고 목을 절단하여 뇌를 적출하고 뇌를 정중양에서 잘라 우측 뇌는 hematoxylin-eosin 염색(H-E 염색)과 terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP-biotin nick-end labeling (TUNEL) 염색을 위해 10% formalin 용액에 넣어 고정하였다. 좌측 뇌는 해마부위만 적출하여 Bcl-2 계열 단백질의 발

현 검사(Western blot analysis)를 시행하기 위해 액화질소 처리 후 저온 냉동고에 넣었다.

세포자멸사를 보기 위해 ApopTag[®] Fluorescein In Situ Apoptosis Detection Kit S7110 (Chemicon International, Temecula, USA)를 이용하여 TUNEL 염색을 시행하였다. 염색과정은 준비된 파라핀 포매조직을 4 μ m 두께로 잘라 슬라이드에 부착시키고 탈파라핀 및 합수 과정을 거친 다음 조직 내투과를 향상시키기 위하여 proteinase K를 처리하였다. 이후 실온에서 15분간 반응시킨 후 phosphater buffered saline (PBS)로 세척하였다. 조직내 endogenous peroxidase 활성을 막기 위해 2% 과산화수소와 반응시킨 후 equilibration buffer와 10초간 반응시켰다. TdT 효소와 37°C에서 1시간 반응시킨 후 stop/wash buffer로 반응을 중지시켰다. PBS로 세척 후 antidioxigenin peroxidase를 30분 동안 상온에서 반응 후 PBS에 2분씩 4번 세척하였다. 이런 과정으로 조직표본이 완성되면 형광현미경으로 조직을 관찰하여 형광을 띠는 세포자멸사 정도를 관찰하였다.

Bcl-2 계열 단백질 발현을 보기위해 enhanced chemiluminescence (ECL) detection kit (Amersham, Buckinghamshire, UK)와 bicinchoninic acid (BCA) protein assay kit (Pierce, Rockford, USA)를 사용하였다.

Western blot analysis에 사용된 항체 중 Bax와 Bcl-2항체는 BD Transduction Laboratories (San Jose, USA)에서 Bcl-xl항체는 Cell Signaling Technology (Beverly, USA)에서 각각 구입하여 사용하였다.

Western blot 분석과정은 먼저 -70°C에 동결시켜 보관한 조직에 lysis buffer를 1 ml씩 첨가하여 분쇄시킨 뒤 20분간 얼음에 방치한 뒤 단백질을 추출하여 4°C, 12,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 모았다. BCA protein assay

kit (Pierce, Rockford, USA)로 정량하고 동일한 양의 단백질 (50 μ g)을 sodium dodecyl sulfate-polyacryl amide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 분리한 후, nitrocellulose membrane (NC)에 이동시켰다. 이 NC를 5% non-fat dry milk를 함유한 Tris buffered saline-Tween (10 mM Tris-HCl pH 7.4, 0.1 M NaCl, 0.1% Tween 20)으로 30분간 반응시켜 비특이적 단백질에 대한 반응성을 차단한 후 Bax, Bcl-2, Bcl-xl에 대한 항체와 하루 동안 4°C에서 반응시키고, 각 항체들에 대한 2차 항체인 anti-mouse IgG 또는 anti-rabbit IgG 항체로 각각 1 시간씩 반응시켰다. 각 반응사이에 TBS-T로 15분씩 3회 세척하였다. 이어서 각 항체에 대한 대응 단백질 band는 ECL detection 방법으로 확인하였으며, UVL band Windows Application V10.02 프로그램을 이용하여 정량 분석하였다.

모든 수치는 평균과 표준편차로 나타내었다. 각 군 간의 체중 및 체온은 일원분산분석을 사용하였다. 각 군 간에 조직학적 검사 및 유전자 발현 정도의 비교는 비모수 검증법인 Kruskal Wallis법을 사용하였다. 모든 통계처리는 각각의 P값을 구하여 P값이 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 하였다.

결 과

각 군 간 백서의 체중, 허혈 전후의 평균동맥압 및 체온은 유의한 차이가 없었다(Table 1).

허혈 2일째 해마의 CA1 지역에서 괴사를 보이는 세포의 수의 비율은 S 군에서 $9.6 \pm 1.8\%$, P 군에서 $18.8 \pm 3\%$,

Table 1. Physiologic Data of Rats before and after Forebrain Ischemia

Group	P	S	SP
Weight (gm)	310 $\pm$ 10.5	315 $\pm$ 8.1	312 $\pm$ 10.0
Pre-MAP (mmHg)	105 $\pm$ 10.4	110 $\pm$ 9.5	109 $\pm$ 10.7
Post-MAP (mmHg)	95 $\pm$ 10.8	98 $\pm$ 12.4	92 $\pm$ 12.2
Pre-temp (°C)	37.4 $\pm$ 0.2	37.5 $\pm$ 0.2	37.5 $\pm$ 0.1
Post-temp (°C)	37.2 $\pm$ 0.2	37.3 $\pm$ 0.3	37.3 $\pm$ 0.3

Values are mean $\pm$ SD. Pre-MAP: preischemic mean arterial pressure, Post-MAP: postischemic mean arterial pressure, Pre-temp: preischemic rectal temperature, Post-temp: postischemic rectal temperature, P group: anesthesia is maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol, S group: anesthesia is maintained with sevoflurane, SP group: anesthesia is maintained with sevoflurane for 30 minutes, and then maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol.

Fig. 1. The percentages of necrotic cells and apoptotic cells in hippocampal CA1 region at 2 days after forebrain ischemia. Values are mean $\pm$ SD. P group: anesthesia is maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol, S group: anesthesia is maintained with sevoflurane, SP group: anesthesia is maintained with sevoflurane for 30 minutes, and then maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol. *P < 0.05 compared to S group. † P < 0.05 compared to SP group.

SP 군에서 $21.7 \pm 3.8\%$ 이었으며 S 군에서 P 군과 SP 군에 비해 적었다($P < 0.05$, Fig. 1, 3). 허혈 2일째 해마의 CA1 지역에서 세포자멸사를 보이는 비율은 S 군에서 $7.4 \pm 1.8\%$, P 군에서 $33.9 \pm 15.3\%$, SP 군에서 $17.8 \pm 5.4\%$ 이

Fig. 2. The percentages of necrotic cells and apoptotic cells in hippocampal CA1 region at 2 weeks after forebrain ischemia. Values are mean $\pm$ SD. P group: anesthesia is maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol, S group: anesthesia is maintained with sevoflurane, SP group: anesthesia is maintained with sevoflurane for 30 minutes, and then maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol. * $P < 0.05$ compared to S group, $^{\dagger} P < 0.05$ compared to SP group.

였으며 S 군과 SP 군에서 P 군에 비해 적었다($P < 0.05$, Fig. 1, 4).

허혈 2주 후 해마의 CA1 지역에서 괴사를 보이는 세포의 수의 비율은 S 군에서 $10.7 \pm 2.3\%$, P 군에서 $43.5 \pm 14.7\%$, SP 군에서 $20.2 \pm 3\%$ 이었으며 S 군과 SP 군에서 P 군에 비해 적었다($P < 0.05$, Fig. 2, 3). 허혈 2주 후 해마의 CA1 지역에서 세포자멸사를 보이는 비율은 S 군에서 $10.1 \pm 1.7\%$, P 군에서 $42.5 \pm 9.6\%$, SP 군에서 $44.7 \pm 5.9\%$ 이었으며 S 군에서 P 군과 SP 군에 비해 적었다($P < 0.05$, Fig. 2, 4).

Bcl-2 계열 단백질인 Bcl-2, Bcl-xl, Bax 단백질의 발현을 조사한 결과 위수술 군에서 모든 단백질이 발현되었으며, 마취제에 따른 차이는 없었다.

허혈 2일째 Bcl-2 단백질의 발현은 위수술 군에 비해 S 군에서 $90 \pm 5\%$, P 군에서 $90 \pm 3\%$, SP 군에서 $85 \pm 3\%$ 이었으며 각 군 간에 유의한 차이는 없었다. 허혈 2주째 Bcl-2 단백질의 발현은 위수술 군에 비해 S 군에서 $95 \pm 3\%$, P 군에서 $96 \pm 3\%$, SP 군에서 $92 \pm 5\%$ 이었으며 각 군 간에 유의한 차이는 없었다(Fig. 5).

허혈 2일째 Bcl-xl의 발현은 위수술 군에 비해 S 군에서 $198 \pm 13\%$, P 군에서 $140 \pm 17\%$, SP 군에서 $161 \pm 6\%$ 이었으며 세 군에 각각 유의하게 발현의 차이가 있었다($P < 0.05$, Fig. 6). 허혈 2주째 Bcl-xl의 발현은 위수술 군에 비해 S 군에서 $170 \pm 6\%$, P 군에서 $113 \pm 12\%$, SP 군

Fig. 3. H-E stain of hippocampus. CA1 neurons show nuclear pyknosis, cell shrinkage and cytoplasmic integration in all slides (A, B, C, D). Compared to the A and B, C and D show decreased neuronal cellularity. D shows more apoptotic cells than C. (A, B) S group, (C, D) P group.

Fig. 4. TUNEL stain of hippocampus. CA1 neurons show apoptosis (bright yellow color) in all slides (A, B, C, D). Compared to the A and C, B and D show more apoptotic cells. (A) S group 2 weeks, (B) P group 2 weeks, (C) SP group 2 days, (D) SP group 2 weeks.

Fig. 5. The expression of Bcl-2 at 2 days and 2 weeks after forebrain ischemia. Values are mean $\pm$ SD. P group: anesthesia is maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol, S group: anesthesia is maintained with sevoflurane, SP group: anesthesia is maintained with sevoflurane for 30 minutes, and then maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol.

Fig. 6. The expression of Bcl-x1 at 2 days and 2 weeks after forebrain ischemia. Values are mean $\pm$ SD. P group: anesthesia is maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol, S group: anesthesia is maintained with sevoflurane, SP group: anesthesia is maintained with sevoflurane for 30 minutes, and then maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol. *P < 0.05 compared to S group. † P < 0.05 compared to SP group.

에서 $128 \pm 15\%$ 이었으며 S 군에서 P 군 및 SP 군에 비해 유의하게 발현이 많았다(P < 0.05, Fig. 6).

허혈 2일째 Bax의 발현은 위수술 군에 비해 S 군에서 $92 \pm 3\%$, P 군에서 $83 \pm 2\%$, SP 군에서 $95 \pm 5\%$ 이었으며 P 군에서 S 군 및 SP 군에 비해 유의하게 발현이 적었다(P < 0.05, Fig. 7). 허혈 2주째 Bcl-x1의 발현은 위수술 군에 비해 S 군에서 $86 \pm 5\%$, P 군에서 $81 \pm 9\%$, SP 군에서 $83 \pm 2\%$ 이었으며 각 군 간에 유의한 차이는 없었다(Fig. 7).

고 찰

이 연구에서 허혈 전후에 sevoflurane으로 마취한 백서에서 propofol로 마취한 백서에 비해 신경손상의 정도가 적었다. 본 연구와 같이 처음부터 propofol이나 sevoflurane만을 투여하는 경우를 비교한 다른 연구가 없어 직접적인 비교는 어렵다. Sevoflurane으로 마취한 경우 isoflurane으로 마취하다 fentanyl infusion으로 마취방법을 바꾼 경우에 비해 뇌

Fig. 7. The expression of Bax at 2 days and 2 weeks after forebrain ischemia. Values are mean $\pm$ SD. P group: anesthesia is maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol, S group: anesthesia is maintained with sevoflurane, SP group: anesthesia is maintained with sevoflurane for 30 minutes, and then maintained with intraperitoneal and intravenous injection of propofol. * $P < 0.05$ compared to P group.

손상이 덜 일어났다고 보고하였으며,⁶⁾ Matei 등도⁹⁾ 고농도의 sevoflurane을 투여한 결과 쥐 해마의 CA1 세포에서 저산소증에 의한 신경세포 손상을 줄였다고 하였다. Sevoflurane에 의한 신경세포의 허혈 시 손상방지 효과가 확실하게 밝혀진 바는 없지만 일부 흥분성 신경전달물질 분비의 억제에 의한다는 보고가 있다.¹⁰⁾ Wise-Faberowski 등은¹¹⁾ 배양된 신경세포에서 sevoflurane과 desflurane이 세포자멸사와 DNA fragmentation을 억제하였다고 보고하였다. 백서의 전 뇌허혈 모델을 이용한 연구에서 isoflurane과 sevoflurane이 허혈 후 신경손상을 방지하였다고 하였다.¹²⁾ 본 연구에서도 sevoflurane을 투여한 군에서 propofol을 투여한 군에 비해 허혈 2일과 2주 후에 해마의 신경세포의 괴사와 세포자멸사를 억제하여 이상의 연구결과와 비슷하며, 세포자멸사를 억제하는 것이 지연성 신경손상을 줄이는 데 도움이 된다고 생각한다.

다른 연구에서 propofol을 뇌허혈 전후에 투여하여 신경손상의 빈도를 억제한다는 보고들이 많다. 백서의 불완전한 전 뇌 허혈모델에서 propofol에 의한 뇌파의 돌발파 억제 (burst suppression)는 순환 catecholamine 양을 용량에 비례하여 감소하여 뇌손상을 억제한다고 보고하였고,¹³⁾ 국소 뇌허혈 모델인 중대뇌동맥 폐쇄모델에서도 isoflurane 마취 후 propofol을 투여한 경우 뇌경색 부피가 21% 감소하였다는 보고가 있다.⁷⁾ 본 연구에서는 위의 연구결과들과 달리 propofol을 투여 시 처음부터 sevoflurane을 투여한 경우에 비해 뇌허혈 후 해마의 CA1 지역의 괴사나 세포자멸사가 더 많이 나타났다.

다른 연구에서 일반적으로 propofol은 뇌허혈 시 허혈성

뇌손상을 방지한다고 알려져 있으나 본 연구에서는 propofol 투여 군에서 허혈 후 조직의 괴사나 세포자멸사가 sevoflurane 군에 비해 더 많이 나타났다. 이런 차이는 propofol의 투여법의 차이 때문이라고 생각한다. Propofol을 투여한 다른 연구들은 흡입마취제인 halothane이나 isoflurane으로 먼저 마취 후 뇌파의 돌발파 억제가 나타날 정도의 아주 많은 양의 propofol을 투여하거나, propofol 지속투여로 마취방법을 바꾼 반면, 본 연구에서는 임상적으로 투여하는 것과 비슷하게 흡입마취제 없이 처음부터 propofol만을 투여하기 위해 부득이 복강내 투여법을 사용하였다. 복강내 투여법은 정맥내 투여법과 달리 propofol의 혈중농도를 일정하게 유지하기가 어렵고 마취의 지속시간을 조절하기가 어려운 단점이 있다. 따라서 propofol 투여 군에서 sevoflurane에 비해 허혈 후 신경손상이 많이 나타난 것이 복강내 투여로 인한 마취회복의 지연과 연관이 있을 수 있다. 하지만 위수술 군에서 propofol을 투여한 경우에 신경손상이 나타나지 않았고 허혈 전후의 혈압에서 유의한 차이가 없었고, 위수술 군에서 마취회복에 걸리는 시간도 1시간 정도로 많이 연장되지 않아서 복강내 투여 자체가 신경손상을 악화시키는 요인이 되지는 않는다고 생각한다.

임상적으로 흡입마취제와 propofol 모두 뇌대사율을 낮추는 작용을 하지만 propofol은 뇌혈류를 감소시키는 반면 흡입마취제는 뇌혈류를 증가시킨다. Propofol의 뇌혈류 감소효과는 뇌부종을 억제하여 뇌압을 낮추는 효과는 있으나 허혈 시 뇌혈류 감소로 뇌허혈을 심화시킬 가능성이 있다. 뇌수술 환자에서 propofol을 사용한 그룹은 sevoflurane을 사용한 그룹에 비해 내경정맥의 산소포화도가 더욱 감소하였다는 보고도 있다.¹⁴⁾ 이런 연구들에서 보이는 바와 같이 이런 대사와 관류의 불균형도 허혈 시 신경손상의 원인으로 고려되어야 한다.

흡입마취제에 의한 APC는 심장허혈 모델에서 광범위하게 연구되고 있다. APC는 동물실험과 임상에서 일정한 시간의 허혈 시 심근경색의 크기를 줄이고 심기능을 보존하는 효과가 있다고 한다.¹⁵⁾ 심정지 모델에서 isoflurane을 전투여 후 8분간의 심실세동을 일으킨 모델에서 isoflurane의 전처치가 신경손상을 적게 일으킨다고 보고하였고,¹⁸⁾ 중대뇌동맥 폐쇄모델에서도 isoflurane을 0, 12, 및 24시간 전에 투여한 경우도 뇌경색 용적이 대조군에 비해 감소하였다는 보고도 있다.¹⁷⁾ 최근에 sevoflurane을 심정지 15분 전에 일회 30분간 투여하거나, 24시간 전에 30분씩 4일간 투여한 경우 모두에서 어느 정도의 허혈 후 신경손상 예방효과가 있었다는 보고도 있다.¹⁸⁾ 본 연구에서는 허혈 30분 전 30분간 흡입마취제를 투여한 경우에 propofol만을 투여한 경우에 비해 허혈 2주 후 신경의 괴사는 어느 정도 방지하였으나 세포자멸사의 증가는 방지하지 못하였으며 sevoflurane만 투여

한 군에 비해 세포자멸사가 더 많이 발생하였다. 이것은 아마도 S 군에서는 허혈 중과 후에도 일정시간 sevoflurane을 투여한 것이 신경손상 예방효과를 나타낸 것으로 추정한다. Erdem 등은¹⁹⁾ sevoflurane과 desflurane을 허혈 후에 투여하는 것이 세포손상을 방지하는 데 효과가 있다고 하였다.

세포자멸사는 정상적인 세포의 성장과정이나 병리적인 원인 등에 의해 일어나며 형태학적으로는 세포의 크기 축소, 염색질의 응축 및 apoptotic body 등을 특징으로 하는 세포사의 한 형태로서 1972년에 Kerr 등에 의해 소개된 이후 현재 의학계나 생물학계에서 가장 활발히 연구되고 있는 분야들 중의 하나이다.²⁰⁾ 세포자멸사가 나타나는 시기는 저자에 따라 차이가 있다. Sakurai 등은²¹⁾ 토끼의 척수허혈시 허혈 후 7일에 신경세포의 완전한 괴사가 일어나고 2일 후에 DNA fragmentation과 세포자멸사가 나타난다고 보고하였다. Bcl-2 계열의 유전자들은 여러 가지 자극에 의해 세포자멸사를 조절하는 단백질을 만드는데,²²⁾ 이 단백질들 중 Bcl-2와 Bcl-xl은 세포자멸사를 억제하고 Bax는 세포자멸사를 조장하는 것으로 알려져 있다.²³⁾ 따라서 이런 단백질들의 발현여부에 따라 신경세포들이 자멸하거나 살아남게 된다고 한다.

본 연구에서 쥐의 해마에서도 정상상태에서 Bcl-2 계열 단백질들이 발현되는 것을 관찰하였으며 이런 소견은 이전의 다른 연구에서도 일관되게 나타났다.^{5,24,25)} 많은 다른 연구들에서 신경손상을 야기하는 장시간의 허혈에서 Bcl-2 계열의 유전자들의 발현이 6-8시간부터 증가하여 24-48시간에 최고치에 달하였다고 보고하였다.^{26,27)} 본 연구에서는 허혈 후 Bcl-2계열 단백질의 발현은 허혈을 일으키지 않은 조직에 비해 허혈 후 2일과 2주에 발현의 차이가 없었는데, 이는 sevoflurane과 propofol을 비교한 다른 연구에서도 비슷하게 나타났다.²⁸⁾ Bcl-2의 발현 정도는 군 간에 유의한 차이가 없었으며 위수술 군에 비해서도 유의한 차이를 나타내지 않은 반면, Bcl-xl의 발현 정도는 세 군 모두에서 증가하였으며 그 중 S 군에서의 단백질 발현정도가 다른 군에 비해 높아서 세포자멸사의 감소와 연관이 있다고 생각할 수 있다. Bax 단백질의 발현은 위수술 군에 비해 약간 낮았으며 허혈 2일째 P 군에서 다른 군에 비해 발현이 더 적었으나 그 정도는 많지 않았다.

결론적으로 허혈 전후에 sevoflurane으로 마취한 군에서 propofol 단독으로 마취한 군에 비해 허혈 후 허혈성 신경손상이 적게 나타났으며, propofol로 마취 시 sevoflurane의 전처치는 지연성 뇌손상을 방지하지는 못하였다. 따라서 허혈 시 propofol은 투여 방법에 따라 뇌손상에 미치는 효과가 달라질 수 있으며, 임상적으로 뇌허혈의 위험이 있는 상황에서 propofol 단독투여보다는 흡입마취제를 투여하는 것이 더 안전하다고 생각한다.

참 고 문 헌

1. Boeken U, Litmathe J, Feindt P, Gams E: Neurological complications after cardiac surgery: risk factors and correlation to the surgical procedure. *Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 53: 33-6.
2. Zhang F, Yin W, Chen J: Apoptosis in cerebral ischemia: executional and regulatory signaling mechanisms. *Neurol Res* 2004; 26: 835-45.
3. Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, Hata R, Ueda H, Niinobe M, et al: 'Ischemic tolerance' phenomenon found in the brain. *Brain Res* 1990; 528: 21-4.
4. Kirino T: Ischemic tolerance. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002; 22: 1283-96.
5. Wu C, Fujihara H, Yao J, Qi S, Li H, Shimoji K, et al: Different expression patterns of Bcl-2, Bcl-xl, and Bax proteins after sublethal forebrain ischemia in C57Black/Crj6 mouse striatum. *Stroke* 2003; 34: 1803-8.
6. Werner C, Mollenberg O, Kochs E, Schulte J am Esch: Sevoflurane improves neurological outcome after incomplete cerebral ischaemia in rats. *Br J Anaesth* 1995; 75: 756-60.
7. Young Y, Menon DK, Tisavipat N, Matta BF, Jones JG: Propofol neuroprotection in a rat model of ischaemia reperfusion injury. *Eur J Anaesthesiol* 1997; 14: 320-6.
8. Conzen PF, Fischer S, Detter C, Peter K: Sevoflurane provides greater protection of the myocardium than propofol in patients undergoing off-pump coronary artery bypass surgery. *Anesthesiology* 2003; 99: 826-33.
9. Matei G, Pavlik R, McCadden T, Cottrell JE, Kass IS: Sevoflurane improves electrophysiological recovery of rat hippocampal slice CA1 pyramidal neurons after hypoxia. *J Neurosurg Anesthesiol* 2002; 14: 293-8.
10. Toner CC, Connelly K, Whelpton R, Bains S, Michael-Titus AT, McLaughlin DP, et al: Effects of sevoflurane on dopamine, glutamate and aspartate release in an in vitro model of cerebral ischaemia. *Br J Anaesth* 2001; 86: 550-4.
11. Wise-Faberowski L, Raizada MK, Summers C: Desflurane and sevoflurane attenuate oxygen and glucose deprivation-induced neuronal cell death. *J Neurosurg Anesthesiol* 2003; 15: 193-9.
12. Nakajima Y, Moriwaki G, Ikeda K, Fujise Y: The effects of sevoflurane on recovery of brain energy metabolism after cerebral ischemia in the rat: a comparison with isoflurane and halothane. *Anesth Analg* 1997; 85: 593-9.
13. Yamasaki T, Nakakimura K, Matsumoto M, Xiong L, Ishikawa T, Sakabe T: Effects of graded suppression of the EEG with propofol on the neurological outcome following incomplete cerebral ischaemia in rats. *Eur J Anaesthesiol* 1999; 16: 320-9.
14. Kawano Y, Kawaguchi M, Inoue S, Horiuchi T, Sakamoto T, Yoshitani K, et al: Jugular bulb oxygen saturation under propofol or sevoflurane/nitrous oxide anesthesia during deliberate mild hypothermia in neurosurgical patients. *J Neurosurg Anesthesiol* 2004; 16: 6-10.

15. Novalija E, Varadarajan SG, Camara AK, An J, Chen Q, Riess ML, et al: Anesthetic preconditioning: triggering role of reactive oxygen and nitrogen species in isolated hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H44-52.
16. Blanck TJ, Haile M, Xu F, Zhang J, Heerdt P, Veselis RA, et al: Isoflurane pretreatment ameliorates postischemic neurologic dysfunction and preserves hippocampal Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase in a canine cardiac arrest model. *Anesthesiology* 2000; 93: 1285-93.
17. Kapinya KJ, Lowl D, Futterer C, Maurer M, Waschke KF, Isaev NK, et al: Tolerance against ischemic neuronal injury can be induced by volatile anesthetics and is inducible NO synthase dependent. *Stroke* 2002; 33: 1889-98.
18. Payne RS, Akca O, Roewer N, Schurr A, Kehl F: Sevoflurane-induced preconditioning protects against cerebral ischemic neuronal damage in rats. *Brain Res* 2005; 1034: 147-52.
19. Erdem AF, Cesur M, Alici HA, Erdogan F, Dogan N, Kursad H, et al: Effects of sevoflurane and desflurane in CA1 after incomplete cerebral ischemia in rats. *Saudi Med J* 2005; 26: 1424-8.
20. Graham DI: The pathology of brain ischemia and possibilities for therapeutic intervention. *Br J Anaesth* 1985; 57: 3-17.
21. Sakurai M, Hayashi T, Abe K, Sadahiro M, Tabayashi K: Delayed and selective motor neuron death after transient spinal cord ischemia: a role of apoptosis? *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 115: 1310-5.
22. Vaux DL, Cory S, Adams JM: Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature* 1988; 335: 440-2.
23. Oltvai ZN, Millman CL, Korsmeyer SJ: Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 1993; 74: 609-19.
24. Antonawich FJ, Krajewski S, Reed JC, Davis JN: Bcl-x1 Bax interaction after transient global ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18: 882-6.
25. Ferrer I, Lopez E, Blanco R, Rivera R, Ballabriga J, Pozas E, et al: Bcl-2, Bax, and Bcl-x expression in the CA1 area of the hippocampus following transient forebrain ischemia in the adult gerbil. *Exp Brain Res* 1998; 121: 167-73.
26. Krajewski S, Mai JK, Krajewska M, Sikorska M, Mossakowski MJ, Reed JC: Upregulation of bax protein levels in neurons following cerebral ischemia. *J Neurosci* 1995; 15: 6364-76.
27. Chen J, Zhu RL, Nakayama M, Kawaguchi K, Jin K, Stetler RA, et al: Expression of the apoptosis-effector gene, Bax, is up-regulated in vulnerable hippocampal CA1 neurons following global ischemia. *J Neurochem* 1996; 67: 64-71.
28. Engelhard K, Werner C, Eberspacher E, Pape M, Blobner M, Hutzler P, et al: Sevoflurane and propofol influence the expression of apoptosis-regulating proteins after cerebral ischaemia and reperfusion in rats. *Eur J Anaesthesiol* 2004; 21: 530-7.