

허혈후 재관류 심근손상시 free radicals의 역할

영남대학교 의과대학 내과학교실

김영조 · 이현우

서 론

재관류 손상은 심근경색증환자에서 경피적 경혈관 관상동맥 성형술, 관상동맥 우회술등을 시행했을시뿐만 아니라, 이형협심증에서 관동맥 경련이 소실되어 재관류되거나 관동맥내 혈전이 자연개통되는 경우에서도 나타난다. 이 재관류 손상(reperfusion injury)의 중요한 기전 중 하나는 활성산소 라디칼에 의한 것으로 사료된다. 또한 이형협심증시 관찰되는 중중부정맥의 발생도 활성산소 라디칼과 밀접한 연관이 있다.

유리 라디칼은 생체내의 화학반응계에서 최외곽 전자궤도상에 비쌍전자를 갖는 중간 생성물로 반응성이 강하여 타 라디칼 혹은 정상적인 분자와 반응하여 안정된 물질로 되거나 다른 라디칼을 형성하게 된다. 대표적인 유리 라디칼은 과산화 음이온으로 산소가 1전자 환원되어 일어난다. 그의 활성산소로는 과산화수소, 수산화기와 1O_2 가 있다. 전 3자는 생체세포내외에서 발생되나, 1O_2 는 지질의 산화반응의 과정인 색소의 광중감반응에서 발생한다.

활성산소는 수명이 짧아 즉시 소실되나 반응

성이 매우 강하여 핵산, 효소, 단백질, 다당류와 지질에 손상을 준다. 특히 잘 알려진 사실은 세포막의 지질층에 작용하여 지질과산화 반응을 일으키며, 각종 이온 펌프의 단백질 합성체에 손상을 준다. 하지만 정상적인 세포호흡에서 소모되는 산소는 대부분 4가(tetravalent)로 환원되어 물(water)로 된다. 정상적으로 사립체에서 O_2 의 98-99%는 환원되어 물로 되지만 나머지 1-2%의 O_2 는 활성산소 라디칼을 생성하게 된다. 그러나 생체에는 라디칼을 제거하는 방어기구가 있다. 과산화 분자 변위 효소, 카탈라제, 글루타티온 과산화 효소등의 유리 라디칼의 소거계가 존재하여 조직내에서 소량 생산되는 유리 라디칼을 제거한다. 따라서 유리 라디칼의 생성계(generating system)가 활성화되어 소거계(scavenger system)의 능력을 넘어 유리 라디칼이 급증하면 중대한 세포손상을 초래한다. 이 유리 라디칼은 방사선조사, 염증, 암, 노화, 약물중독, 허혈후 재관류 손상 등의 병리기전과 연관되어 있다.

최근 심질환에서 흥미있는 허혈후 재관류 손상에서 유리 라디칼의 중요성을 유리 라디칼의 특성과 함께 논하고자 한다.

본 론

1. 유리 라디칼의 특성

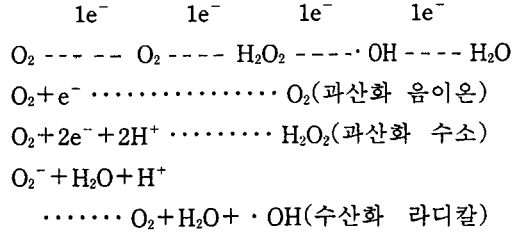
유리 라디칼의 물리성 특성 : 1789년 Lavoisier¹⁾에 의해 라디칼이 명명된 이래 그 의미가 점점 발전되어 최근에는 최외곽전자계에서 비쌍전자를 갖는 원자나 분자를 유리 라디칼로 정의하고 있다. 즉 유리 라디칼은 1전자 환원 혹은 산화에 의해 비쌍전자를 갖는 원자나 분자를 말한다. 유리 라디칼은 1920년경에는 기체상 작용시 중요한 중간산물로, 1930년경에는 각종 유기체 반응의 중간산물임에 알려졌다²⁾. 1940년경에는 전자기 공명 기술의 발전으로 유리 라디칼의 직접 측정이 가능하게 되었고 그 특성을 구분할 수 있게 되었다³⁾. 그 후 최근 20년간 유리 라디칼은 생물체내의 각종 생리적 혹은 병리적 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀지고 있다. 예를 들면 백혈구의 세균살균기전에 관여, 종양 형성, 암의 진행, 염증성질환, 성인형 호흡부전증후군시 폐손상, 급성 요관 괴사의 신손상, 이식거부반응, 약물성 간손상등의 중요한 중간 매개체로 밝혀졌다. 특히, 허혈시와 허혈후 재관류시 야기되는 세포손상의 중요한 중간매개체로 알려지고 있다^{4,5)}.

비쌍전자의 결과로 유리 라디칼은 불안정하여 반응성이 강하다. 안정성은 종류에 따라 차이가 있어 반감기가 긴것은 디페닐 피크릴히드라질로 수년이나 되지만 짧은 것은 산소 유리 라디칼(과산화물, 수산기 라디칼)로 반감기는 수 nsec 혹은 msec로 짧다.

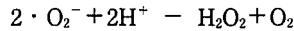
정상적인 산화성 인산화(normal oxidative phosphorylation)과정에서 산소(O₂)는 4개의 전자가 환원되어 물(H₂O)을 형성한다. 산소(O₂) 환원으로 인하여 발생된 에너지는 세포에 공급하게 된다. 하지만 이 과정에서 산소 유리 라디칼을 생성할 수가 있다.

불완전한 산소환원으로 인하여 과산화 음이온

(O₂⁻), 과산화 수소(H₂O₂), 그리고 수산화 라디칼(·OH)을 생성하게 된다.

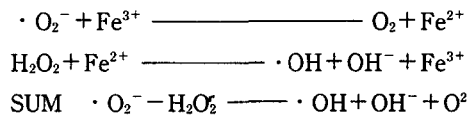


·O₂⁻와 ·OH는 수용액중에서 반응성이 강하여 생물체의 고분자와 반응할 수 있는 능력을 갖고 있어 조직손상을 유발할 수 있다. 과산화 수소(H₂O₂) 역시 강력한 산화제로써 작용시간은 느리나, 변환금속이온(transition metal ions)존재하에 O₂⁻와 ·OH를 발생한다. O₂⁻는 불안정하고, 수명의 중성 pH에서 msec이다. 용액내에서 스스로 반응하여 과산화 수소(H₂O₂)와 산소(O₂)를 발생한다.



(·O₂⁻ dismutation rate constant at pH 7.4 = 2 × 10⁶ M/S)

·O₂⁻의 생성은 스스로 변환속도가 빨라 생체계에서는 과산화수소 생성과 동반되어 나타나며 이 2가지 라디칼은 수산기(·OH)를 생성하게 된다. 이 수산기는 생체계에서 가장 반응성이 강한 유리 라디칼로 알려져 있으며 수명은 대단히 짧다⁶⁾. ·O₂와 H₂O₂에 의해 ·OH 생성시는 변환금속이온 즉, 철 이온(Fe³⁺)와 구리 이온(Cu²⁺)이 필요하다. 그 반응식은 다음과 같다.



이러한 반응은 과산화 유도 펜턴 반응 혹은 철 촉매 하버-바이스 반응으로 일어나며 (Fig. 1), 간단히 철산화 순환을 표시하면 Fig. 2와 같다⁷⁾.

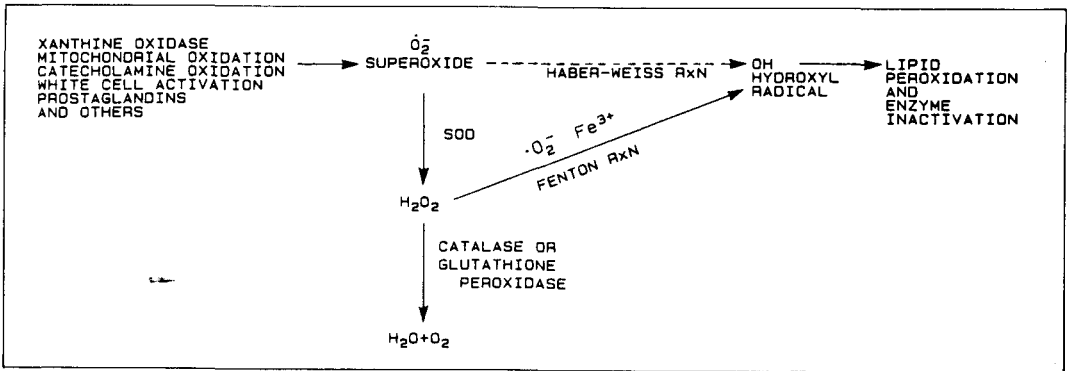


Fig. 1. Summary of superoxide and hydroxyl radical production and elimination by superoxide dismutase and catalase. Failure to eliminate these radicals results in cell injury.

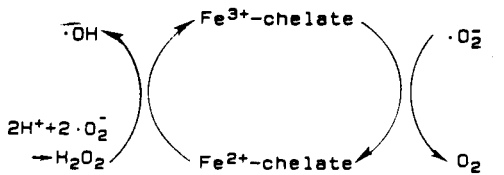


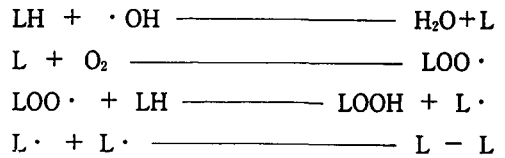
Fig. 2. Illustration of superoxide-drive Fenton reaction as an iron redox cycle.

2. 유리 라디칼에 의한 분자손상의 기전

산소의 유리 라디칼은 생물체의 거대 분자 (macromolecule)와 반응하여 산화손상을 유발한다. 특히 반응성이 강한 수산기 라디칼은 세포막의 지질과산화반응 (lipid peroxidation)을 일으키며, 효소 파괴와 DNA 분리를 일으킨다.

불포화지방산은 산화손상에 민감하여, 지방산의 탄소 사슬에서 수소이온을 뺏어 지방산으로부터 carbon-centered 알킬 라디칼(R· 혹은 L·)을 생성할 수 있다. 그후 분자의 재배열로 포함 디엔 분자를 형성한다. 즉, 산소분자는 이중양에 흡수되어 지질 과산화 라디칼(LOO·)을 형성한다. 이 과산화 라디칼은 다른 지방산에서 수소 이온을 뺏어 라디칼을 형성할 수 있어, 지질 과산화 반응은 끝없이 일어난다. 이러한 연속적인 반응은 기질(LH)의 당진이나 라디칼 사이의 반응으로 반응성이 없는 종으로 되는 것이다.

다음과 같은 반응식으로 표시된다.



LH : polyunsaturated lipid

L· : lipid alkyl radical

LOO· : lipid peroxy radical

LOOH : lipid hydroperoxide

일단 형성된 지질과산화물(LOOH)은 철이온과 상호작용하여 aldehydes(malondialdehyde, other fragmentation products)를 만든다. 지질에서 수소 원자(H·)를 뺏어낼 수 있는 라디칼은 ·OH, LOO·, LO·로 지질과산화 반응이 가능하다. 지질에서 H·를 뺏어낼 수 없는 라디칼은 ·O₂⁻, H₂O₂이다⁸⁾. 그러나 ·O₂⁻와 H₂O₂는 앞서 언급한 펜톤 반응을 통해 이를 생성하여 지질과산화 반응을 유발할 수 있다.

수산화 라디칼은 전자 친화성으로 어떤 유기 복합체와도 반응이 가능하여 방향족 복합물(예, 방향족 아미노산)과 반응하여 수산화 유도체를 생성한다. 또한 ·OH는 아미노산의 sulfhydryl (SH) groups에 작용, 단백질의 변성을 초래하고, 효소의 촉매 위치에 작용하여 효소를 불활성화시킨다. 또한 DNA에 작용하여 DNA의 당 성분에 작용하여 여러가지 분해산물을 만들고 결국에는 DNA골격을 파괴한다.

3. 유리 라디칼의 생성장소 및 생성기전

1) 크산틴 옥시다제 - 허혈후 재관류시 발생하는 과산화물의 생성기전은 크산틴 옥시다제계로 알려져 있다. 이 효소는 각종조직에 광범위하게 분포되어 있고 특히 장, 폐와 간장에 풍부하다. 정상적인 상태에서는 크산틴 탈수소효소(Type D)로 존재하지만 심근허혈시 칼슘이온(Ca^{++})과 단백질효소에 의하여 크산틴 옥시다제(Type O)로 전환되는 것으로 알려져 있다. 일단 형성된 크산틴 옥시다제는 히포크산틴, 크산틴 및 전자전달체로서 산소와 반응하여 크산틴, 요산염, 과산화물과 과산화수소를 생성한다(Fig. 3).

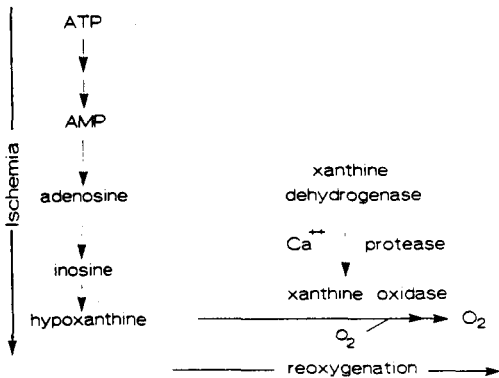


Fig. 3. Xanthine oxidase mechanism of radical generation. During ischemia ATP breaks down to hypoxanthine, the substrate of xanthine oxidase. Also during ischemia xanthine dehydrogenase is converted to xanthine oxidase. At reoxygenation the availability of oxygen allows oxidation with superoxide formation to occur.

허혈시, ATP의 뉴클레오시드의 산물인 히포크산틴이 축적되고, 크산틴 탈수소효소가 크산틴 옥시다제로 전환되나 그 반응은 산소부족으로 서서히 진행된다. 하지만 재관류가 일어나면 산소가 풍부하므로 그 반응은 급속히 진행된다.⁹⁾

심근에서는 허혈시, 크산틴 옥시다제의 전환은 관동맥폐쇄후 8분경 심근내 크산틴 탈수소효소의 10-20%에서 일어나고 이 반응은 calcium-activated protease에 의해 일어난다¹⁰⁾. 또한 심근허혈시는 세포질내에 유리 칼슘이 급속히 증가한다¹¹⁾. 하지만 심근에서 크산틴 옥시다제가 유리 라디칼에 의한 손상의 중요한 기전이라는데 의문이 있다. 첫째, 인간과 토끼의 심근에는 크산틴 탈수소효소가 풍부하지 않다는 점이다. 그러나 토끼실험에서 유리 라디칼 식세포가 유리 라디칼 생성을 감소시키는 것을 볼때 다른 부위에서 생성장소가 있는 것으로 사료되는데 이곳이 바로 혈관내피세포로 생각된다¹²⁾. 화학적 조직염색상 심근에는 크산틴 탈수소효소는 거의 없으나 혈관내피세포에는 다량 존재한다. 또한, 이 세포는 조직손상의 최초의 장소이며 세포손상의 여타 기전과 연관되어 있다¹³⁾. 둘째, 크산틴 옥시다제의 억제제인 알로푸리놀은 허혈손상을 감소시킨다는데는 상반된 의견이 있다는 점이다¹⁴⁻¹⁹⁾. 이는 종에 따른 효소존재의 차이, 약물 투여 시기등으로 해석할 수 있으나 그 근본적인 원인은 확실하지 않다. 또한 알로푸리놀은 크산틴 옥시다제억제와 무관한 기전으로 심근손상을 감소시킨다는 보고도 있으며 과산화물 부자변위보호소의 유도제라는 보고도 있다. 예를 들면 알로푸리놀 자체가 수산화 라디칼 혹은 차아염소산 라디칼 식세포로 작용할 수 있고 허혈시 퓨린 핵산염의 파괴를 억제하고 허혈이 끝나면 신속히 ATP를 재합성한다고 한다.

결론적으로 내피세포가 유리 라디칼의 생성과 세포손상에 중요한 역할을 한다고 생각된다. 내피세포는 크산틴 옥시다제계와는 또다른 유리 라디칼의 생성기전을 갖고 있으며, 그 라디칼을 소거시키는 소거제도 함께 갖고 있다.

2) Mitochondrial respiratory chain - 심근세포에서 분리한 미토콘드리아는 각종 반응의 부

산물로 과산화물을 생성한다²⁰⁻²³. 생체내에서 산소 라디칼 생성기전에 대한 자료는 드무나, 고압 산소 노출이나 허혈후 재관류에서 다량의 산소 라디칼을 생성할 수 있을 것으로 생각된다.

3) 중성구와 대식세포 - 중성구는 세균을 죽이는데 있어 고농도의 과산화 라디칼을 생성한다²⁴⁻²⁷. 화학적 매개체, 즉 leukotrienes B₄, chemotactic factors 와 phorbol ester는 중성구를 활성화 시켜 라디칼을 생성한다. 세포막에 있는 NADPH oxidase의 활성화로 세포막의 기질(substrate)을 산화시켜 과산화물과 수소과산화물을 생성 세포외로 유출시킨다. 이렇게 생성된 과산화물은 다른 과립구를 자극하여 연쇄적인 반응을 일으켜 계속적인 라디칼 생성-세포막 손상-타과립구 자극의 연계가 일어난다. 심장 질환상태에서 염증세포를 관찰할 수 있는데 특히 허혈후 주위와 재관류받은 심근조직에서 중성구가 모여든다. 보체인자와 leukotrienes가 허혈시 그 역할을 하며, 아라키돈산 대사의 리포옥시제나제 경로의 억제제를 투여하면 허혈 및 재관류 심근에서의 중성구의 감소와 심근괴사 감소를 보인다고 한다^{28,29}.

개를 이용한 실험^{30,31}에서 60-90분 허혈시 중성구는 혈관내에 국한되어 혈관내피세포와 상호작용한다. 이때 재관류시키면 중성구는 혈관내 외에서 활성화되어 유리 라디칼을 생성한다.

4) 불포화지방산 대사의 부산물 - 아라키돈산은 각종 자극으로부터 프로스타글란딘과 류코트리엔으로 합성된다³¹⁻³³. 수과산화효소에 의해 프로스타글란딘 G₂가 프로스타글란딘 H₂로 될때 유리 라디칼이 생성된다. 기전은 확실하지 않지만 유리 라디칼 생성의 독립적 인자로 고려되고 있다.

5) 카테콜라민 산화 - 카테콜라민 유도 심근손상과 재관류시 심근손상의 조직소견은 유사한 점이 많다. 갈색세포종에서도 유사한 소

견이 발견된다. 전형적 조직소견은 구축괴사(contraction band formation)이다. Dhalla등³⁴은 카테콜라민 유도 심근증은 카테콜라민 산화물 즉 라디칼에 의해 일어난다고 추론했다. 또한 재관류시 허혈부에서 다량의 노르에피네프린이 정맥으로 유리되는 것은 세포의 라디칼에 의한 허혈부의 손상으로 생각할 수 있다.

6) 외부에서 유입인자 - 유리 라디칼에 의한 조직손상을 유발하는 물질로서는 paraquat, ethanol, doxorubicin, radiation등을 들수 있다. Doxorubicin은 NADPH cytochrome p-450 reductase에 의하여 semiquinone free radical로 활성화된다. 따라서, NADPH의존 산화반응으로 superoxide 와 hydroxyl radicals이 생성된다. Doxorubicin에 의한 심근손상은 유리 라디칼의 소거제로 감소됨을 관찰한 여러 보고³⁵⁻³⁷가 있다.

4. 허혈심에서 유리 라디칼

재관류가 없는 허혈심근에서는 유리 라디칼의 역할은 확실하지는 않지만 몇몇 보고가 있다.

Yamazaki등³⁸은 개를 이용한 급성허혈실험에서 관상동정맥의 혈장중 유리 라디칼을 측정 비교하여 관상정맥의 유리 라디칼치가 관상동맥의 유리 라디칼치보다 높은 것을 관찰하고 허혈심근에서 유리 라디칼이 유리된다고 보고한 이래 다수의 보고³⁹가 있었다. 또한 허혈성 심 질환이 있는 환자에서 Master 운동부하검사를 시행하여 운동전보다 운동후가 정맥혈장 유리 라디칼이 증가한다고 하였다^{40,41}. Suzuki등⁴²은 고양이심근세포의 미토콘드리아를 표본으로 전자 스핀 공명법 검사법으로 실험한 결과 호기성조건하에서는 전자 스핀 공명법 신호가 빨리 쇠퇴하나 혐기성조건과 전자전달계의 저해제를 투여하면 유리 라디칼의 전자 스핀 공명법 신호의 쇠퇴가 지연되는 것을 보고 급성허혈심근에서 유리 라디칼의 증가기전은 허혈로 인한

심근내 전자전달계의 손상에 의해 생성된 유리 라디칼의 처리 장애로 해석했다. Julicher 등⁴³⁾도 글루타티온 페록시다제와 SOD의 활성이 저하됨을 보고 유리 라디칼의 처리기능의 저하로 생각했다. 따라서 허혈심근에서 유리 라디칼의 증가되는 기전은 다음과 같다. 1) 미토콘드리아의 전자전달계로부터 전자의 leak-off, 2) 저산소증에 의한 유리 라디칼의 처리 기능의 저하, 3) 호중구등 대식세포 활성화에 의해 동반된 유리 라디칼의 생성증가, 4) 카테콜라민에 의한 유리 라디칼의 생성증가등이다.

5. 재관류장애와 유리 라디칼

실험적 혹은 임상적으로 심근허혈 발생후 4시간 이내에 재관류가 일어나면 심근괴사가 감소되고 사망율도 감소된다고 한다. 하지만 허혈상태에 있는 심근에 재관류가 일어나면 오히려 손상이 심해진다. 이러한 현상을 재관류손상으로 정의할 수가 있다. 병리조직학적 소견을 보면 심근내출혈, 조직내와 간질의 부종, 모세혈관의 변화, 심근세포의 구축괴사(contraction band formation)등이다. 재관류손상의 발생기전은 현재 정설은 확립되지 못했지만 최근 허혈손상을 받은 심근세포의 미토콘드리아에서 재관류시 일어나는 산소독성에 대한 방어기전의 손상으로 생각된다. 즉 재관류시 산소와 기질에 의한 유리 라디칼의 생성이 중요한 하나의 기전으로 생각된다.

Jolly 등⁴⁴⁾은 토끼를 이용한 관류시 허혈후 재관류 30-60초에 산소 유리 라디칼이 많이 발생하는 것을 관찰하고 SOD와 카탈라제를 투여하여 심근경색 부위가 유의하게 감소됨을 보고 하였다. 그의 SOD투여로 경색부위감소⁴⁵⁾, 좌심실기능 호전⁴⁶⁾, 허혈부의 심근내 인크레아틴과 아데노신 삼인산염의 회복 호전⁴⁷⁾등을 보고하고 있다. 알로푸리놀에 의한 보호 효과에 대한 보고도 있었다. Ambrosio 등⁴⁸⁾은 h-SOD를 투

여하여 심근경색 부위가 36% 정도로 감소되고 병리소견상 관찰에서 SOD 투여군은 SOD를 투여하지 않는 군에 비해 사이사이에 정상조직을 동반하는 적은 범위의 심근경색부위를 보였다. 이는 허혈로 인한 가역적인 심근손상을 재관류로 비가역적인 손상으로 만드는 것을 SOD투여로 방지할 수 있다는 가능성을 제시하고 있다. 하지만 SOD투여로 심근경색부위의 감소효과가 없다는 보고^{49,50)}도 있다. 이러한 결과의 원인은 확실하지 않지만 장시간의 허혈시간, 다수의 부행혈류의 존재, SOD투여시기, SOD투여량등이 한 원인이 될수 있을 것으로 생각된다.

6. 허혈 및 재관류부정맥과 유리 라디칼

심근허혈후 재관류시에 악성부정맥이 발생하는 것은 익히 알려져 있다. 이러한 부정맥에 연관된 기전은 대개 3가지로 요약되고 있다. 첫째, 허혈후 재관류를 받은 심근에서 국소적 카테콜라민 유리로 생각된다. 따라서 알파수용체의 차단제인 프라조신과 펜톨라민 투여로 부정맥 빈도가 감소된다. 둘째, 허혈심근에서 칼륨 이온, 수소 이온과 리조포스파티드의 유리로 세포내의 이온의 변화로 생각된다. 셋째로, 재관류시에 발생한 유리 라디칼에 의한 세포막의 손상으로 생각된다.

1985년 Manning 등⁵¹⁾은 쥐를 이용하여 허혈 및 재관류부정맥에 대하여 알로푸리놀(실험 24시간전, 20mg/kg 경구, 실험 15분전 20mg/kg 정주)을 투여, 효과를 판정한 실험에서 허혈시 부정맥중 심실빈맥과 심실성 기외수축의 발현 빈도는 현저히 감소했으나 심실세동의 발현 빈도와 사망의 빈도의 변화는 없었고 허혈 5분후 재관류시, 재관류 부정맥은 알로푸리놀 투여로 심실세동 및 사망율이 현저히 감소됨을 관찰하고 크산틴 옥시다제에 의한 유리 라디칼의 생성을 심근조직의 이손성에 영향을 주는 새로운 인자로 고려하였다. 1987년 Bernier 등⁵²⁾은 재관

류부정맥에 대한 유리 라디칼의 소거제 약물을 투여 효과를 판정한 결과 SOD, catalase, mannitol, Methionine, glutathione, desferrioxamine 등을 투여시 재관류후 심실세동의 감소가 있었다고 보고하고 있고, Hearse 등⁵³⁾은 토끼의 관류심을 이용하여 전자 스핀공명법(ESR)에서 유리 라디칼을 안정한 물질로 만들기 위하여 사용하는 PBN(N-tert-butyl-alpha-phenylnitron)을 재관류전에 투여하여 재관류시 심실세동의 감소를 관찰하였다.

이와같이 각종 유리 라디칼의 소거제를 투여함으로써 간접적으로 추론했지만 유리 라디칼을 직접 측정함으로써 전자스핀 공명법에 의하여 liposomal SOD를 투여하여 재관류 부정맥의 현저한 발생빈도의 감소 및 유리 라디칼의 생산의 감소를 관찰하였고, Garlick 등⁵⁴⁾은 재관류시 순간적으로 유리 라디칼의 증가를 보고 관류액으로 무산소용액을 사용했던 바 유리 라디칼의 증가는 없고 다시 10분후 충분한 산소가 있는 용액을 사용하여 유리 라디칼의 현저한 증가를 관찰하였다. 또한 calcium-paradox에 의한 심근손상에 SOD와 카탈라제 투여로 보호 효과가 있다는 보고⁵⁵⁾도 있다. 따라서 유리 라디칼에 의한 심근손상으로 인한 재관류부정맥의 발생에 활성산소 유리 라디칼이 중요한 역할을 하고 있음을 알 수 있다.

7. 그의 다른 기전에 의한 심근손상과 유리 라디칼에 의한 손상과의 관계.

1) 염증 - 중성구가 소실된 동물에서는 심근경색 크기가 감소된다는 보고^{55,56)}를 보면 염증반응으로 인한 중성구가 재관류장애의 독립적인 인자로 작용한다고 생각된다. 심근내 국소적 허혈이 조장되면 손상받은 세포에서 chemottractants가 유리되어 허혈부에 백혈구가 모여 혈관내피세포에 부착되고 일부는 세포간질로 빠져나간다. 혈관내피세포나 응집된 백혈

구에서 생성된 과산화물은 중성구의 응집을 더욱 조장하고 이런 과정이 증폭된다. 이런 염증반응이 진행되어 혈관투과성의 증가로 세포 및 세포간질의 부종을 유발하고 미세혈관의 허탈(collapse)이 되어 2번째의 허혈성 손상이 초래된다. 따라서 허혈손상을 받은 혈관내피세포에 중성구가 부착됨으로써 중성구에 의한 손상과는 다른 기전에 의한 재관류 손상을 더욱 증폭시키는 역할을 한다.

2) Amphiphiles - Amphiphiles은 유리지방산과 에스테르형 지방산(acyl CoA, acyl carnitine, lysophospholipid 등)으로 세포막의 지질층에 삽입되어 세포막의 물리적 성상을 변화시킨다. 또한 이 물질들이 고농도로 존재시 미셀을 형성하여 지질층에 들어가 청정작용으로 막 본래의 성상이 파괴되며 막 단백질도 변화되어 각종 수용체와 이온 통로에 변화를 초래한다⁵⁷⁾. 재관류손상이 있을시 유리 라디칼에 의한 과산화지질의 생성으로 인지질이 가수분해되어 그 생성물(lysophospholipid)이 축적된다. 따라서 amphiphiles이 고농도 있을 시 세포막의 기능이 상과 전기생리학적 손상을 유발하므로 활성산소 라디칼과 함께 그 작용이 증폭된다.

3) 칼슘 과부하 - 허혈심근을 재관류시킴에 따라 세포질과 미토콘드리아내에 칼슘이 현저히 증가한다^{58,59)}. 칼슘 유입은 sodium-mediated calcium entry를 통해서 일어난다. 이때 유리 라디칼은 세포막에 손상을 주어 증가된 세포내의 칼슘을 제거할 능력을 감소시키게 되고 칼슘 과부하는 수축띠 형성, 칼슘 인산염의 침착, 리파제의 활성화등을 일으킨다. 또한 이 리파제에 의한 인지질의 파괴로 인하여 생성된 amphiphile은 막 투과성, 이온 통로와 운반 단백질에 손상을 주게 된다⁶⁰⁾. 따라서 칼슘은 활성산소 라디칼에 의한 세포막과 미토콘드리아의 손상을 더욱 증폭시킨다.

4) 산증 - 유리 라디칼은 산증에 영향을 받

는다. 산증은 Ca^{++} - ATPase 활성화에 영향을 미쳐 sarcoplasmic reticular calcium transport와 ATP 가수분해 연계를 분리한다^{61, 62)}. 예를 들면 pH 7.0에서 유리 라디칼의 sarcoplasmic reticulum기능 억제에 대한 SOD가 길항작용을 갖지만 pH 5.5에서는 수소이온 식세포인 mannitol이 필요하다. 따라서 산증시는 ·OH 라디칼 생성을 촉진하게 된다. 결론적으로 유리 라디칼에 의한 심근손상에는 neutrophils, amphiphiles, calcium과 acidosis가 복합적으로 작용하며, 이런 각종 기전은 직접 혹은 간접적으로 유리 라디칼에 의한 심근손상을 증폭시킨다고 생각된다.

8. 심근 보호를 위한 소거제

생체에는 활성산소 라디칼의 세포손상에 대한 방어기전이 있다. 이것은 2종류로 나눌 수가 있어 내적으로 생성된 소거효소와 유기질 항산화제로 구분할 수 있다. 대표적인 소거효소는 과산화물 분자변위효소, 카탈라제와 글루타티온 페록시다제이며 유기질 항산화제는 방어의 2차선으로 vitamine C, E, alpha-tocopherol, carotenoid(beta-carotene)과 sulfahydril, thioether-합성체등이다. 또한 크산틴 옥시다제 억제제와 심근손상 초기에 ·OH에 생성될 때 소량의 철이온이 필요하므로 이 철이온을 chelating agent가 유용하리라 생각된다.

SOD는 2가지 형태로 존재하여 세포질내의 copper zinc-containing enzyme과 mitochondria내에 존재하는 manganese-containing enzyme으로 구분된다. 이 효소는 ·O₂를 이화시켜 H₂O₂와 O₂로 만든다. 카탈라제는 거의 모든 조직에 존재하며 SOD와 연계되어 작용하여 O₂와 H₂O로 변한다. 글루타티온 페록시다제는 모든 조직의 세포질 미토콘드리아에 존재하며 H₂O₂와 유기 과산화물(LOOH)을 이화시켜 물과 유기 알콜로 만든다.(2GSH+LOOH ... GSSG+LOH-H₂O).

그의 심근보호 목적으로 이용 가능한 물질을 요약하면 다음과 같다.

- 1)SOD, polyethylene-glycol-SOD, liposomal SOD, stylenemaleimide-SOD
- 2)Xanthine Oxidase 억제제
..... allopurinol NBMPR, EHNA
- 3)백혈구 O₂-생성저해제
..... Ibuprofen, Iloprost, Nafazatrom
- 4)합성물 소거제 BHT(butylated hydroxytoluene), tinoridine, vipocetine
- 5)천연물 소거제 vitamine C, E, glutathione, carotenoids, urate
- 6)철이온 chelation agent
..... desferrioxamine

결 론

생체내에는 산소 유리 라디칼을 생성할 수 있는 라디칼 생성계와 이것을 제거하는 라디칼 소거계가 있다. 산소 라디칼은 지질과산화반응, 효소불활성화 및 단백질변성등을 일으킨다. 또한 이때 라디칼 제거 능력도 감소되어 더욱 세포손상이 악화된다. 이 소거계의 효소와 항산화제의 투여로 조직손상을 감소시킬 수 있는 것도 확인되었다.

허혈수 재관류시의 심근손상 기전의 일부가 유리 라디칼에 의해 일어난다는 것은 다수의 동물실험에서 밝혀졌다. 이 산소 라디칼은 재관류가 일어날때 곧 생성되며 이 라디칼은 여타 기전(칼슘 과부하, amphiphile, white cell entry-adhesion, 산증, tissue edema 등)과 복잡하게 연계되어 일어난다고 할 수 있다.

참고 문헌

1. Lavoisier AL : Traite Elementaire de Chimie, vol. 1. Paris, Cuchet, 1789, Translation by Kerr R, reprinted by Dover Press, New York, 1965, p 293.
2. Steacie EWR : Atomic and free radical reactions. the kinetics of gas-phase reactions involving atoms and organic radicals. 1st ed, Reinhold Publ Corp, New York, 1946, p331-340.
3. Cummerow RW, Halliday D : Paramagnetic losses in two manganous salts. Phys Rev 70 : 433-440, 1946.
4. Zweier J : Reduction of O₂ by iron-adriamycin. J Biol Chem 259 : 12759-12768, 1983.
5. Gianni L, Zweier JL, Myers CE : Characterization of the cycle of iron-mediated electron transfer from adriamycin to molecular oxygen. J Biol Chem 260 : 6820-6830, 1985.
6. Zweier JL : Iron-mediated formation of an oxidized Adriamycin-free radical. Biochem Biophys Acta 839 : 209-218, 1985.
7. Floyd RA, Lewis CA : Hydroxyl free radical formation from hydrogen peroxide by ferrous iron-nucleotide complexes. Biochemistry 22 : 2645-2654, 1983.
8. Gutteridge JMC, Westermarck T, Halliwell B : Oxygen radical damage in biological systems. In free radicals, aging, and degenerative diseases. Alan R. Liss Inc, New York, 1985. p99-139.
9. Granger DN, Rutili G, McCord JM : Superoxide radical in feline intestinal ischemia. Gastroenterology 81 : 22-29, 1981.
10. McCord JM : Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N Engl J Med 312 : 159-164, 1985.
11. Steenbergen C, Murphy E, Levy L, London RE : Elevation in cytosolic free calcium concentration early in myocardial ischemia in perfused rat heart. Circ Res 60 : 700-706, 1987.
12. Manfredi JP, Holmes EW : Purine salvage pathways in myocardium. Ann Rev Physiol 47 : 691-698, 1985.
13. Rosen GM, Freeman BA : Detection of superoxide generated by endothelial cells. Proc Natl Acad Sci USA 81 : 7269-7275, 1984.
14. Chambers DE, Parks DA, Patterson G, Roy R, McCord JM, Yoshida S, Parmley LF, Downey JM : Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia. J Mol Cell Cardiol 17 : 145-151, 1985.
15. Arnold WL, DeWall RA, Kezdi P, Zwart HH : The effect of allopurinol on the degree of early myocardial ischemia. Am Heart J 99 : 614-620, 1980.
16. DeWall RA, Vasko KA, Stanley EL, Kezdi P : Responses of the ischemic myocardium to allopurinol. Am Heart J 82 : 362-369, 1971.
17. Peterson DA, Asinger RW, Elspenger KJ, Homans DC, Eaton JW : Reactive oxygen species may cause myocardial reperfusion injury. Biochem Biophys Res Comm 127 : 87-95, 1985.
18. Reimer KA, Jennings RB : Failure of the xanthine oxidase inhibitor allopurinol to limit infarct size after ischemia and reperfusion in dogs. Circulation 71 : 1069-1075,

- 1985.
19. Wexler BD, McMurtry JP : Allopurinol melioration of the pathophysiology of acute myocardial infarction in rats. *Atherosclerosis* 39 : 71-79, 1981.
 20. Boveris A : Mitochondrial production of superoxide radical and hydrogen peroxide. *Adv Exp Med Biol* 78 : 67-75, 1977.
 21. Nohl H, Breuninger V, Hegner D : Influence of mitochondrial radical formation on energy-linked respiration. *Eur J Biochem* 90 : 385-391, 1978.
 22. Otani H, Tanaka H, Inoue T, Umemoto M, Omoto K, Tanaka K, Sato T, Osako T, Masuda A, Nonoyama A, Kagawa T : In vitro study on contribution of oxidative metabolism of isolated rabbit heart mitochondria to myocardial reperfusion injury. *Circ Res* 55 : 168-175, 1984.
 23. Turrens JF, Freeman BA, Crapo JD : Enhancement of O_2 and H_2O_2 production by lung mitochondria and microsomes during hyperoxia. In : Greenwald RA, Cohen G (eds.) : *Oxy radicals and their scavenger systems*. vol II. cellular and medical aspects. Elsevier Science Publishing Co Inc, New York, 1983, p 365-370.
 24. Hohnston RB, Jr, Keele BB, Jr, Misra HP, Lohmeyer JE, Weiss LS, Baehner RL, Rajacophlan KW : The role of superoxide anion generation in phagocytic bactericidal activity. *J Clin Invest* 55 : 1357-1363, 1975.
 25. Root RK, Metcalf JA : H_2O_2 release from human granulocytes during phagocytosis : Relationship to superoxide anion formation and cellular catabolism of H_2O_2 : Studies with normal and cytochalasin B-treated cells. *J Clin Invest* 60 : 1266-1272, 1977.
 26. Rowe TG, Manson NH, Caplan M, Hess ML : Hydrogen peroxide and hydroxyl radical mediation of activated leukocyte depression of cardiac sarcoplasmic reticulum. *Circ Res* 53 : 584-591, 1983.
 27. Hess ML, Rowe GT, Caplan M, Romsor JL, Lucchesi B : Identification of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals as mediators of leukocyte-induced myocardial dysfunction. Limitation of infarct size with neutrophil inhibition and depletion. *Adv Myocardiol* : 159-165, 1985.
 28. Mullane KM, Moncada S : The salvage of ischemic myocardium by BW755C in anesthetized dogs. *Prostaglandins* 24 : 255-260, 1982.
 29. Jolly RS, Luccesi BR : Effect of BW755C in an occlusion-reperfusion model of ischemic myocardial injury. *Am Heart J* 106 : 8-15, 1983.
 30. Mullane KM, Salmon JA, Kraemer R : Leukocyte-derived metabolites of arachidonic acid in ischemia induced myocardial injury. *Fed proc* 46 : 2422-2430, 1987.
 31. McCord JM : Oxygen-derived radicals : A link between reperfusion injury and inflammation. *Fed Proc* 46 : 2402-2410, 1987.
 32. Kontos HA, Wei EP, Povlishock JT, Rowe GT, Hess ML : Cerebral arteriolar damage by arachidonic acid and prostaglandin G_2 . *Science* 209 : 1242-1249, 1980.
 33. Okabe E, Kato Y, Kontos H, Hess ML, Ito H : Inhibition by free radical scavenger and by cyclooxygenase inhibitors of the effect of acidosis on calcium transport by mesenter muscle sarcoplasmic reticulum. *Biochem*

- chem Pharmacol 34 : 961-970, 1985.
34. Yates JC, Taam GM, Singal PK, Beamish RE, Dhalla NS : Protection against adreno-chrome-induced myocardial damage by various pharmacological interventions. *Br J Exp Pathol* 61 : 242-250, 1980.
 35. Doroshow JH : Effect of anthracycline antibiotics on oxygen free radical formation in rat heart. *Cancer Res* 43 : 460-467, 1983.
 36. Myers CE, McGuire WP, Liss RH, Ifrim I, Grotzinger K, Young RC : Adriamycin : the role of lipid peroxidation in cardiac toxicity and tumor response. *Science* 197 : 165-169, 1977.
 37. Doroshow JH, Locker GY, Ifrim I, Myers CE : Prevention of doxorubicin cardiac toxicity in the mouse by N-acetylcysteine. *J Clin Invest* 68 : 1053-1061, 1981.
 38. Yamazaki N, Watanabe T, Aoyama S : Studies on indicator of myocardial hypoxia : electron spin resonance studies on myocardial ischemia. *Proceeding of the Vth European Congress of Cardiol VI* : 555, 1968.
 39. 秋山一磨 : 虚血心筋の心筋代謝に関する研究. 11. 電子スピソ共鳴法による研究. *Jpn Circ J* 3 : 165-171, 1969.
 40. 山本英樹 : 電子スピソ共鳴(ESR)法の臨床的應用に関する研究 : 虚血性心疾患診断への應用. *Jpn Circ J* 35 : 1299-1306, 1971.
 41. 山崎昇 : 電子スピソ共鳴(ESR)法による心筋代謝の研究. *心臓* 3 : 692-701, 1972.
 42. Suzuki Y : Studies on free radicals in myocardial mitochondria by electron spin resonance (ESR) spectrometry (studies on experimentally infarction dogs). *Jpn Circ J* 39 : 6, 1975.
 43. Julicher RHM, Lilian BM, Tjiburg L, Sterenberg A, Bast J, Koomen M, Noordoek J : *Life Sci* 35 : 1281-1289, 1984.
 44. Jolly SR, Kane WJ, Bailie MB : Canine myocardial reperfusion injury : Its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Circ Res* 54 : 2-9, 1984.
 45. Uraize A, Reimer KA, Murry CE, Jennings RB : Failure of superoxide dismutase to limit size of myocardial infarction after 40 minutes of ischemia and 4 days of reperfusion in dogs. *Circulation* 75 : 1237-1245, 1987.
 46. Stewart JR, Crute S, Loughlin V : Prevention of free radical-induced myocardial reperfusion injury with allopurinol. *J Thorac Cardiovasc Surg* 90 : 68-75, 1985.
 47. Ambrosio G, Weisfeldt ML, Jacobus WE, Flaherty JT : Evidence for a reversible oxygen radical mediated component of reperfusion injury : Reduction by recombinant human superoxide dismutase administered at the time of reflow. *Circulation* 75 : 282-291, 1987.
 48. Ambrosio G, Becker LC, Hutchins GM, Weisman HF, Weisfeldt ML : Reduction in experimental infarct size by recombinant human superoxide dismutase : insights into the pathophysiology of reperfusion injury. *Circulation* 74 : 1424-1431, 1986.
 49. Gallagher KP, Buda AJ, Pace D, Gerren RA, Schlafer M : Failure of superoxide dismutase and catalase to alter size of infarction in conscious dogs after 3 hours of occlusion followed by reperfusion. *Circulation* 73 : 1065-1072, 1986.
 50. Uraizee A, Reimer KA, Murry CE, Jennings RB : Failure of superoxide dismutase

- to limit size of myocardial infarction after 40 minutes of ischemia and 4 days of reperfusion in dogs. *Circulation* 75 : 1237-1245, 1987.
51. Manning AS, Cortart DJ : ischemic and reperfusion induced arrhythmias in the rat heart : Effects of xanthine oxidase inhibition with allopurinol. *Circ Res* 55 : 545-551, 1985.
 52. Bernier M, Hearse DJ, Manning AS : Reperfusion-induced arrhythmias and oxygen-derived free radicals studies with "anti-free radical" interventions and a free radical generation system in the isolated perfused rat heart. *Circ Res* 58 : 331-340, 1986.
 53. Hearse DJ, Tosak A : Free radicals and reperfusion-induced arrhythmias : protection by spin trap agent PBN in the rat heart. *Circ Res* 60 : 375-381, 1987.
 54. Garlick PB, Davies MJ, Hearse DJ, Slater TF : Direct detection of free radicals in the perfused rat heart using electron spin resonance spectroscopy. *Circ Res* 61 : 757-764, 1987.
 55. Ashoi Muhammad : Oxygen derived radicals related injury in the heart during calcium paradox. *Virchows Arch* 54 : 27-34, 1987.
 56. Engler R, Schmid-Schoenbein G, Dahlgren M, Morris D : leukocyte depletion prevents edema formation during one hour of myocardial ischemia. *Fec Proc* 44 : 281, 1985(abstract).
 57. Corr PB, Gross RW, Sobel BE : Amphipathic metabolites and membrane dysfunctions in ischemic myocardium. *Circ Res* 55 : 135-141, 1984.
 58. Shen AC, Jennings RB : Myocardial calcium and magnesium in acute ischemic injury. *Am J Pathol* 67 : 417-425, 1972.
 59. Henry PD, Schuchleib R, Davis J, Weiss ES, Sobel BE : Myocardial contracture and accumulation of mitochondrial calcium in ischemic rabbit heart. *Am J Physiol* 233 : H 677-685, 1977.
 60. Chien KR, Abrams J, Serroni A, Martin JT, Farber JL : Accelerated phospholipid degradation and associated membrane dysfunction in irreversible, ischemic liver cell injury. *J. Biol Chem* 253 : 4809-4815, 1978.
 61. Shatzmamm HJ : Active calcium transport and Ca^{2+} activated ATPase in human red cells. *Cutt. Top Membr Trans* 6 : 125-132, 1975.
 62. Lehninger AL : Mitochondria and calcium ion transport. *Biochem J* 119 : 129-135, 1970.