

Nitric oxide, Isosorbide dinitrate 및 Sodium nitroprusside가 쥐의 허혈성 심근에 미치는 영향

정 종 화* · 김 수 현* · 김 승 명*

=Abstract=

The Effect of Nitric Oxide, Isosorbide Dinitrate and Sodium Nitroprusside on Ischemic Myocardium of Rat

Jong Hwa Jeong, M.D.* , Soo Hyun Kim, M.D.* , Song Myung Kim, M.D.* , Ph. D.

This experiment was undertaken to assess the effect of nitric oxide, isosorbide dinitrate, and sodium nitroprusside, which are known to increase coronary flow by vasodilation and to improve the cardiac function of an ischemic heart.

The experiment was carried out to investigate the effect of nitric oxide on the coronary artery of an ischemic rat myocardium using isolated constant pressure Langendorff system. The experimental parameters were lactate and CK-MB for the frozen myocardium and coronary flow, the quantity of coronary flow, left ventricular developed pressure (LVDP), and dp/dt.

The experimental groups were divided as control group (Group I), nitric oxide group (Group II), isosorbide dinitrate group (Group III) and sodium nitroprusside group (Group IV). Statistical analysis was performed using repeated measured analysis of variance and Student t-test.

The results were as follows:

1. The lactic acid contents of group II and IV were less than other groups for the frozen myocardium at preischemic state ($p < 0.0025$), whereas the determined coronary flows were higher.
2. In the ratio of produced lactic acid between the preischemia and reperfusion for the coronary flow, group II and IV exhibited less value than others ($p < 0.005$).
3. Group II and III were less than others in the coronary flow for the quantity of CK-MB, but for the frozen myocardium, group II and IV were less.
4. Group II and IV showed higher coronary flow compared to others throughout entire experimental period ($p < 0.005$).
5. Group II was highest at the preischemic state for the left ventricular developed pressure.
6. The +maximal dp/dt of group II was highest compared to others.
7. Group I exhibited the highest recovery rate of coronary flow between preischemia and reperfusion.
8. The $(-dp/dt)/(+dp/dt)$ ratio was 116%, 100%, 100%, and 55% for the 4 groups, respectively. And the recovery rate of total dp/dt was 34%, 67%, 51%, and 76% for the four groups, respectively.

* 고신대학교 의과대학 흉부외과학교실

* Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Kosin University, Pusan

† 본 논문은 1994년도 대한흉부외과학회 추계 학술대회에서 구연된 내용임

논문심사일 : 96년 3월 26일 심사통과일 : 96년 6월 7일

책임저자 : 김수현, (602-030) 부산시 서구 압남동 34, Tel. (051) 240-6466

In conclusion, nitric oxide was a significant agent inducing the dilatation of coronary vasculature. The quantities of lactic acid and CK-MB of Group II and IV were less than others. But the effect of increasing the LVDP was not higher than others at the reperfusion state.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1996;29:1055-65)

Key words: 1. Nitric oxide
2. Myocardial ischemia

서 론

심장은 인체의 여러 장기 중 지속성 운동을 유지해야 하는 장기이다. 심근자체의 활동과 기능을 유지하기 위해서는 많은 산소가 필요하고, 이를 위하여 원활한 관상순환이 필연적이다.

심근의 허혈 상태는 심장 수술시에 대동맥 차단을 하였을 경우나, 관상동맥 질환시에 일어날 수 있다. 그 중 외과적인 심장의 허혈은 인위적으로 심장 전체의 전기-기계적인 정지를 야기시킴으로써 그 동안에 안전하게 외과적 수술을 수행하고 수술후 정상적인 심근의 활동으로 되돌리기 위함이다. 내과적인 이유로 생긴 허혈 상태의 치료 목적은 관상혈관 질환으로 생긴 국소적 허혈시에 최대한의 심근 보호와 이미 받은 손상에 대해 회복할 수 있는 여건을 조성해 주는 데 있다. 이와 같은 목적을 이루기 위해 여러 가지 방법들이 강구되고 있으며, 그 중의 하나가 관상혈류의 회복이나 혈류량을 증가시키는 것이다. 또한 허혈에 따른 심근의 가역적인 손상은 조속한 시간내에 회복시켜야 하며, 비가역적인 손상까지 도달하지 않게 심근을 보호해야 하는데, 이는 아직도 해결하지 못한 과제로 남아 있다. 허혈이나 심정지 전후에 관상혈류의 변화가 있거나 증가하는 이유는 허혈후 과관류(postischemic hyperperfusion) 상태가 되는 것과 저산소증 자체가 관상혈류에 직. 간접적으로 혈관의 저항성에 변화를 주기 때문이다. 또한 1988년 저자¹⁾가 개심술 전후의 환자에 대한 혈청 alpha 1- proteinase inhibitor에 대해 조사해 본바에 따르면 수술후 이 alpha 1- proteinase inhibitor의 일시적 결핍현상이 일어났다. 이는 심근의 허혈후 재관류시에 여러 가지 단백질분해효소가 방출됨은 물론 유리산소기가 생성됨으로 인하여 수술후 심근의 회복에 불리한 영향을 미치는 것으로 생각되었다.

1987년 Ignarro 등²⁻⁴⁾과 Palmer 등⁵⁾이 Endothelium derived relaxing factor(EDRF)가 nitric oxide 라고 밝힌 이후 nitric oxide에 대한 생물학적, 병리학적, 병태생리학적 인 역할이 각종 연구에 의해 밝혀지고있다⁶⁻¹⁴⁾. 과거

협심증 환자의 치료제로 개발된 관상동정맥 확장제의 약리작용들이 nitrite나 nitrate의 작용에서 기인되는 것으로 오인되어 왔었으나, 현재 nitric oxide의 발견 후로는 최종 약리작용이 모두 nitric oxide로 귀착되고 있으며, 이에 저자는 많은 연구자들의 관심이 되고 있는 nitric oxide와 nitric oxide를 최종 대사산물로 약리작용을 발현한다고 밝혀진 isosorbide dinitrate와 sodium nitroprusside에 착안하여 이들 3종의 약제들이 허혈심근에 실험적으로 작용하였을 경우 어떠한 효과가 일어나는지 조사하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

실험에 사용한 흰쥐는 Sprague-Dowley(학명: *Rattus norvegicus*)계로 암수 구별없이 사용하였다. 흰쥐의 체중은 250 gm 미만의 것을 주로 사용하였으며, 네 군으로 구분하였다. 각 군은 10마리씩 나누어 모두 40마리를 사용하였으며, I군의 5마리는 허혈심정지 이전까지만 실험한 후 심근을 냉동보관용으로 사용했으며, 나머지는 타군과 동일한 실험과정을 채택하였다. 제I군은 대조군으로 하였으며, 제II군은 nitric oxide 투여군, 제III군은 isosorbide dinitrate 투여군, 제IV군은 sodium nitroprusside 투여군으로 하였다(Table 1).

2. 실험방법

1) 관류장치

관류장치는 Langendorff 분리 비작업성 정압형(Langendorff isolated nonworking constant pressure system)으로 설계, 장치하였으며, 관류액은 Krebs-Henseleit 완충액(buffer solution)을 사용하였다. 관류압은 100 cmH₂O의 정압을 유지하고 완충액내에 기포관을 삽입하여 Carboxan(95% O₂ + 5% CO₂) 가스로 기포화하였으며, 대동맥관에서 채취한 완충액내의 산소분압이 약 500 mmHg 이상, 탄산가스 분압이 35~45mmHg, pH가 7.35~

Table 1. Experimental groups

Group	No. of cases
I Control group	5(5)
II Nitric oxide group	10
III Isosorbide dinitrate group	10
IV Nitroprusside group	10
Total	35(40)

Table 2. Heart weight of each group (Mean ± S.E., gm)

Group	H.W*	F.V.W**
I	0.95 ± 0.14	0.45 ± 0.05
II	0.72 ± 0.26	0.45 ± 0.05
III	0.76 ± 0.17	0.40 ± 0.02
IV	0.58 ± 0.10	0.38 ± 0.04

Table 3. Experimental groups

Group	Lactate* (mmol/gm)	CK-MB ₁ (ng/gm)
I	2.54 ± 0.59	20.4 ± 2.33
II	0.65 ± 0.21	16.7 ± 2.34
III	1.30 ± 0.18	21.7 ± 1.78
IV	0.51 ± 0.61	16.5 ± 5.29

* p < 0.0025, II, III, IV vs I

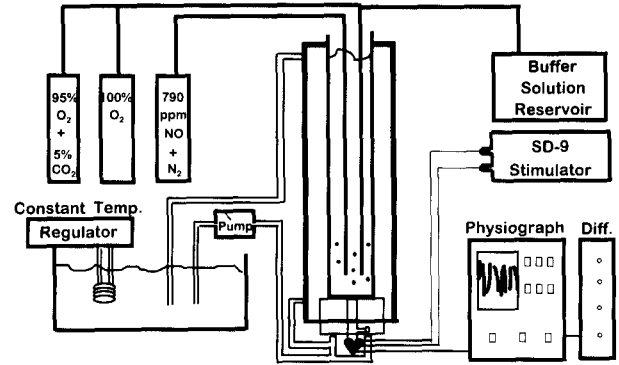


Fig. 1. This figure represents experimental model, which shows nitric oxide, carboxan, and oxygen gases which were supplied into the K-H buffer solution, in column. The circuit is regulated with constant temperature regulator. The pressure is recorded on physiograph and differentiator for dp/dt.

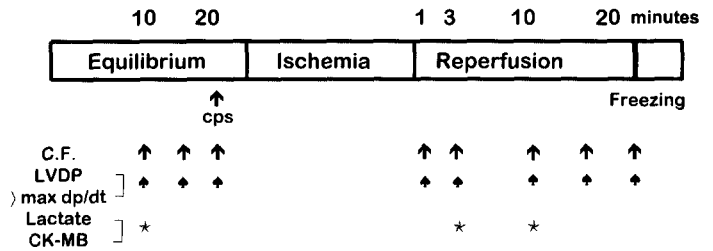


Fig. 2. Experimental protocol. C.F : Coronary flow, LVDP : Left ventricular developed pressure, CK-MB : Creatine kinase -MB

7.45 범위를 유지하게 하였다(Fig. 1).

Krebs-Henseleit 완충액은 3차 증류수에 NaCl 118 mM, KCl 4.7 mM, MgSO₄·7H₂O 1.64 mM, KH₂PO₄ 1.18 mM, Glucose 5.55 mM, NaHCO₃ 24.88 mM, CaCl₂·2H₂O 2.55 mM의 시료를 달아 혼합 진탕하면서 37°C로 가온하여 만들었으며, 이를 다시 여과지(Whatman® membrane filter pore size 0.2µm, diameter 47mm, WCN Type)에 여과하여 관상동맥의 전색요인을 충분히 제거하였다.

2) 심장적출

마취는 thiopental sodium을 쥐의 체중 1 kg 당 40 mg씩 쥐의 복강내로 주입하여 전신마취를 유도하였으며, 운동과 각종 반사운동이 소실된 것을 확인한 후 수술대에 위치하여 사지를 고정하고 검상돌기 하부의 피부에 소절개를 가하여 경부까지 역삼각형으로 개흉하였다. 그리고 검상돌기를 거상하여 심장과 흉골 사이의 간격을 넓히고 흉골연을 따라 늑연골을 양측으로 절단하여 흉골 부분을 두 부 쪽으로 뒤집은 후 심장을 거상하여 폐정맥, 대동맥 부위를 절단하였다. 분리된 심장은 4°C의 Krebs-Henseleit

완충용액에 넣어 심박동을 정지시키고 wet heart의 무게를 측정(E-300J, Ohau Inc., USA)하였다(Table 2).

적출한 심장의 상행대동맥을 Langendorff 장치의 대동맥관에 삽입하고 전사로 충진액이 새지 않게 결찰한 후 충진액 공급을 조절하는 장치를 완전히 열어주었다. 다음으로 우심실 전벽에 심박수를 조절하기 위한 2개의 백금전극선을 삽입한 후 인공 심박동기(SD-9, Grass, USA)에 연결하여 박동수가 300 이하일 경우에 인공적으로 박동이 되게 하였다. 그리고 결체조직을 제거하고 좌심방을 통하여 좌심실내로 latex 풍선을 삽입하여 이완기 말기 압력이 10 mmHg가 되도록 팽창시켰다. 좌심실 압력과 압력 미분치(dp/dt)를 측정하기 위해 압력 변환기(Pressure transducer P23 XL, Viggo Spectramed Inc., USA)에 연결하여 Physiograph(WindoGraf, Gould Inc., USA)를 통해 기록하였다. 압력 미분치는 differentiator(Model 13-4615-71, Gould, USA)를 이용하였다.

3) 실험 protocol

실험에 앞서 Langendorff 장치내에 Krebs-Henseleit 완충액으로 채우고 정온순환기(Constant temperature regulator, VWR scientific 1160, USA)와 물펌프(금성사)를 장치하여 완충 용액과 제일 하단의 심장보온용 정온조를 37°C로 조정하여 전 실험 과정에서 항상 정온을 유지시켰다.

적출한 심장을 Langendorff 장치에 연결하여 20분간의 평형상태 혹은 허혈전(preischemia) 과정을 거친 후에 관류액을 차단하고 4°C의 심정지액(Green cardiosol®: 1000 ml 당 NaCl 6.43 gm, KCl 1.193 gm, CaCl₂ 0.176 gm, MgCl₂ 3.253 gm)을 5 ml씩 대동맥을 통하여 주사기로 양압 주입시켜 심정지를 유도하였다. 20분간의 허혈시간이 지난 후 재관류를 20분간하고 심근을 액화 질소액내에 냉각시킨 집게로 심실을 냉동하였다. 이때 냉동시킨 심실조직은 무게를 측정후 액체 질소용기에 보관하였다.

각 군의 실험 방법은 I군에서는 Krebs-Henseleit 완충액만을 주입하였으며, II군은 790ppm의 nitric oxide와 carboxan과 100% 산소로 완충액의 가스치를 조절후 실험하였고, III군과 IV군은 isosorbide dinitrate와 sodium nitroprusside를 각각 2.5mg/L와 6.25mg/L를 첨가하였으며, 특히 IV군은 빛을 차단하는 장치를 추가하였다(Fig. 2).

4) 혈액학적 검사

실험에서 관상혈류, 좌심실압(left ventricular developed pressure, LVDP), 최대 압력 미분치(max dp/dt)등은 허혈 전 10, 15, 20분에 표본 채취 및 기록 측정을 하였고, 재관류 상태에서는 1, 3, 10, 20분에 각각 표본 채취 및 기록 측정을 하였다. 압력 미분치는 최대 수축기압 미분치(+max dp/dt), 최대 이완기압 미분치/최대 수축기압 미분치의 비율로 구분하여 분석하였다.

5) Creatine-kinase MB (CK-MB) 효소의 정량 분석

관상혈류의 CK-MB치는 허혈 전 10분, 재관류 3, 10분에서 각각 측정하였으며, 심근내의 CK-MB치는 액체 질소통에 보관된 표본들을 효소 미세입자 면역측정법(Enzyme microparticle immune test, EMIT)의 원리를 이용하여 IMX®CK-MB assay(Abbott Labo., USA)를 사용하여 정량 분석하였다.

6) 유산의 정량 분석

동결 심실조직을 조직마쇄기(Ultra Turrax T25, Janke

& Kunkel IKA^R-Labotechnik)를 이용하여 매우 잘게 마쇄시킨 후 원심분리기(Sorvall®)에 4°C로 1시간동안 35,000 rpm으로 원심 분리시켜 상층액을 일정량 채취하였다.

동결 조직에서 채취한 시료나 관류액의 유산검사는 TDx/TDxFLx REA®(Radiative Energy Attenuation, Abbott Lab., USA) lactic acid assay system 원리를 이용하여 정량 분석 하였다.

7) 통계학적 처리

각 군에 사용된 자료는 평균 표준오차로 표시하였고, 통계학적 분석을 위하여 통계분석체계(Statistical analysis system, SAS)를 이용하여 repeated measures analysis of variance와 Student t-test를 적용하였으며, p값이 0.05 미만인 경우를 유의성이 있는 것으로 처리하였다.

결 과

적출한 쥐의 심장을 네 군으로 나누어 Krebs-Henseleit 완충액 만으로 관류한 것을 대조군으로 하고 Krebs-Henseleit 완충액내에 790ppm의 nitric oxide 가스를 기포화한 것을 II군으로, isosorbide dinitrate와 sodium nitroprusside를 일정량 혼합한 것을 각각 III군과 IV군으로 하여 각 군의 심실내의 유산치와 CK-MB, 관관류량과 심기능 등을 분석하여 얻은 결과를 비교 분석하였다.

1. 심근및 냉동 심실의 무게

각 군의 심장 무게는 wet heart의 무게를 측정한 것으로 I군이 0.95±0.14 gm, IV군이 0.58±0.10 gm 이었으나, 각 군 사이에서 통계적으로 평균치의 차이는 없는 것으로 나타났다. 심근의 무게는 I,II군은 0.45 gm, III군은 0.40 gm, IV군은 0.38 gm이었다. 이 또한 각 군들 사이에서 통계적 차이는 없었다(Table 2).

2. 유산의 정량분석

동결된 심근조직내의 유산의 양을 보면 I군이 2.54±0.59 mmol/gm, II군이 0.65±0.21 mmol/gm, III군이 1.30±0.18 mmol/gm, IV군이 0.51±0.16 mmol/gm으로 나타났다. 심근내에 유산이 가장 적게 축적된 군은 IV군이었고 다음으로는 II군, III군, I군의 순서였다. IV군과 II군의 유산의 양은 대조군에 비해 1/5 수준이었으나, III군은 약 1/2 수준이었다(p<0.0025, II, III, IV vs I)(Table 3).

각 군의 실험과정에서 허혈전 평형상태와 재관류 10분

Table 4. Lactate in coronary flow (Mean ± S.E, mmol/ml)

Group	Pre-10min.	Rp-10min.	p value
I	0.10±0.080	0.17±0.072	NS*
II	0.19±0.049	0.11±0.030	NS
III	0.10±0.036	0.11±0.082	NS
IV	0.29±0.035	0.15±0.025	<0.005

* NS : Not significant

Pre : Preischemia, Rp : Reperfusion

Table 5. Coronary flow of each group (Mean ± S.E, ml/gm/min)

Group	Preischemia(min)			Reperfusion(min)			
	10	15	20	1	3	10	20
I	12.1 ±0.75	12.7 ±0.70	11.1 ±0.54	11.6 ±1.42	12.8 ±1.04	11.4 ±0.95	9.3 ±0.54
II	22.7 ±1.36	20.1 ±1.33	18.9 ±1.36	14.5 ±1.57	15.0 ±1.76	16.2 ±1.82	15.4 ±1.74
III	13.2 ±1.67	12.5 ±1.81	12.8 ±1.87	10.5 ±1.89	11.9 ±1.93	11.7 ±2.14	10.1 ±1.59
IV	19.3 ±2.93	18.3 ±3.07	17.6 ±2.84	18.4 ±2.03	17.6 ±1.97	16.8 ±2.38	13.6 ±2.80

에 각각 채취한 관관류액에서 정량분석한 유산의 정량치는 다음과 같이 나타났다. 허혈전 10분에서 I군과 III군은 0.10±0.08 mmol/L, 0.10±0.036 mmol/L로 차이가 없었으나, II군은 0.19±0.049 mmol/L로 대조군에 비해 약 2배 정도 많았으며, 제 IV군에서는 0.29±0.035 mmol/L로 대조군에 비해 약 3배 정도 많았다. 허혈기간이 지난 후 재관류 10분의 유산치는 I군이 0.17±0.072 mmol/L, II,IV군이 0.11±0.03 mmol/L, 0.15±0.025 mmol/L로 각각 감소하였고, III군은 0.11±0.03 mmol/L로 허혈전과 동일한 수준이었다(Table 4).

관관류액내의 유산치를 허혈전 상태를 기준으로 재관류 3분과 10분 때의 검사치로 비율을 내어 조사한 바에 의하면 I군과 III군은 0.7, 1.7, 0.7, 1.1로 약간 감소 후 증가하는 양상을 보였으며 II군은 0.42, 0.58, , IV군은 0.59, 0.52로 각각 감소하는 경향을 보였다.

3. 관관류량

허혈전 평형상태의 관관류량은 10, 15, 20분에서 각각 측정하였다. 1분간 측정된 관관류량은 심근의 무게로 나누어 심근 1 gm당 관관류량으로 환산하여 비교하였다.

대조군은 허혈전 평형상태에서 채취한 시간에 따라 각

Table 6. CK-MB in coronary flow (Mean ± S.E, ng/ml)

Group	Pre-10 min.	Rp-3 min.	Rp-10 min
I	0.13±0.02	0.16±0.04	0.98±0.73
II	0.21±0.10	0.24±0.08	0.22±0.05
III	0.16±0.03	0.50±0.13	0.24±0.05
IV	0.20±0.04	0.67±0.41	1.10±0.80

Pre : Preischemia, Rp : Reperfusion

ml/gm/min

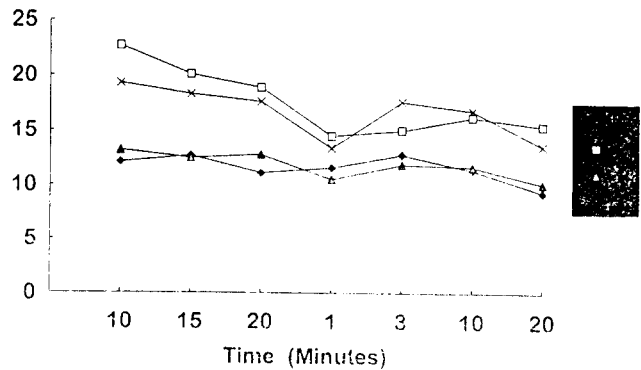


Fig. 3. Coronary flow of each group

각 12.1±0.75 ml, 12.7±0.7 ml 그리고 11.1±0.54 ml로 평균 12 ml 수준이었고, II군은 22.7±1.36 ml, 20.1±1.33 ml, 18.9±1.36 ml로 평균 21 ml의 수준으로 대조군에 비해 유의하게 낮았다(p<0.005). III군은 13.2±1.67 ml, 12.5±1.81 ml, 12.8±1.87 ml로 평균 12.8 ml였으며 이는 대조군보다는 많았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었고, II군과의 사이에서는 통계적으로 유의하게 높았다(p<0.005). IV군은 19.3±2.93 ml, 18.3±3.07 ml, 17.6±2.84 ml로 평균 18.4 ml였으며 이는 대조군보다는 많았으며 절대치로는 제II군 다음으로 관관류량이 많았다. 재관류 후의 관관류량은 재관류 1, 3, 10분과, 20분에서 각각 측정하였다. I군은 허혈전 12 ml 수준에서 약간 감소하여 11.6±1.42 ml, 12.8±1.04 ml, 11.4±0.95 ml와 9.3±0.54 ml였으며 평균은 11.3 ml로 약간 감소하였다. II군은 14.5±1.57 ml, 15±1.76 ml, 16.2±1.82 ml, 15.4±1.74 ml였으며 평균 15.3 ml로 감소하였다. 그러나 절대치에 있어서는 대조군의 관관류량보다 많았다. III군은 허혈전 평균 12.8 ml에서 각각 10.5±1.89 ml, 11.9±1.93 ml, 11.7±2.14 ml와 10.1±1.59 ml였으며 평균 11.1 ml로 감소하였다. IV군은 허혈전 평균 18.4 ml수준에서 각각 18.4±2.03 ml, 17.6±1.97 ml, 16.8±2.38 ml 그리고 13.6±2.80 ml였으며 평균은 16.6 ml

Table 7. Left ventricular developed pressure(Mean ± S.E, ml/gm/min)

Group	Preischemia(min)			Reperfusion(min)			
	10	15	20	1	3	10	20
I	64 ±6.8	60 ±7.1	65 ±8.4	58 ±7.6	75 ±3.9	71 ±11.7	69 ±12.7
II	79 ±7.5	85 ±8.5	86 ±7.5	61 ±15.2	47 ±6.2	52 ±6.0	53 ±6.2
III	60 ±6.5	66 ±6.0	65 ±7.8	72 ±11.8	62 ±11.9	64 ±7.8	48 ±4.7
IV	72 ±6.0	70 ±6.2	64 ±6.4	57 ±5.1	51 ±7.3	57 ±6.6	49 ±5.9

로 감소하였으나 절대치에 있어서는 타군에 비해 가장 높았다. 각 군간의 시간에 따른 관관류량의 변화는 통계적으로 유의하지 않았고(p=0.15), 각 군 사이의 변화추세는 유의한 차이가 있었다(p=0.017)(Table 5, Fig. 3).

4. CK-MB 정량 분석

CK-MB 검사는 두 부분에서 실시한 바, 하나는 실험 마지막 단계에서 냉동 시킨 심근 조직내의 CK-MB를 정량 분석하였고, 다른 하나는 관관류액내의 CK-MB를 분석하였다. I,III군의 심근 조직내의 CK-MB 정량치는 각각 20.4±2.33ng/gm, 21.7±1.78ng/gm으로 높았으며, II군은 16.7±2.34ng/gm, IV군은 16.5±5.29ng/gm으로 I, III군 보다 낮았다(Table 3).

허혈전 상태 10분때와 재관류 3, 10분 때의 관관류액의 CK-MB양을 측정할 결과 허혈전 상태에서는 I군이 0.13, 0.16, 0.98ng/ml, II군이 0.21, 0.24, 0.22 ng/ml, III군이 0.16, 0.50, 0.24 ng/ml, IV군이 0.2, 0.67, 1.1 ng/ml로 I군이 가장 낮았으나 재관류 10분 상태에서는 0.98로 매우 증가한 반면, II군에서는 허혈전 상태와 재관류 상태에서 CK-MB수치의 변화가 거의 없었다.

III군에서도 허혈전 상태에 비해 많은 증가를 보이지 않았으나, IV군에서는 현저한 증가를 보였다(Table 6).

5. 좌심실 압력

허혈전 상태 10, 15, 20분의 LVDP는 I군이 64, 60, 65 mmHg, II군이 79, 85, 86 mmHg, III군이 60, 66, 65 mmHg, IV군이 72, 70, 64 mmHg였으며, 재관류 1, 3, 10, 20분 때의 LVDP는 I군이 58, 75, 71, 69 mmHg, II군이 61, 47, 52, 53 mmHg, III군이 72, 62, 64, 48 mmHg, IV군

Table 8. Recovery Percentage of coronary flow & LVDP

Group	C.F.(ml/gm/min.)			LVDP(mmHg)		
	Pre	Rp	%	Pre	Rp	%
I	12.7 ±0.7	11.4 ±0.95	95 ±0.7	78.3 ±10.3	71 ±11.66	91
II	20.1 ±1.33	16.2 ±1.81	81	85 ±8.5	52 ±6.01	71
III	12.5 ±1.81	11.7 ±2.14	94	66 ±6.01	63 ±10.9	96
IV	18.3 ±3.07	16.8 ±2.38	92 7	70 ±6.2	57 ±6.6	82

Pre : Preischemia 15 minutes, Rp : Reperfusion 10 minutes
CF : Coronary flow LVDP : Left ventricular Developed Pressure

이 57, 51, 57, 49 mmHg였다. 즉 허혈전 상태에서는 전 구간에서 II군이 가장 높았으며, 다음으로는 IV군, I군, III군의 순서였으며, 재관류 20분 상태에서는 I군, II군, IV군, III군의 순서로 높게 나타났다. 전반적으로 허혈전 10분치와 재관류 10분치 간에 차이는 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았다(p=0.07)(Table 7).

6. 관관류량의 회복률

허혈전 15분에 대한 재관류 10분에서 관관류량의 회복률은 I군은 90%, II군은 81%, III군은 94%, IV군은 92%로 나타났다. II군에서 관관류량의 회복률이 낮게 나타난 이유는 허혈전에서 20.1 ml/gm/min로 타군에 비해 매우 높았으나 재관류 후에 수치가 떨어졌기 때문이며, 재관류 후에도 절대치로는 타군에 비해 높았다(Table 8).

7. 압력 미분치의 회복률

허혈전 상태 15분에 대한 재관류 상태 10분의 최대 수축기압 미분치 회복률은 I군이 78%, II군이 56%, III군이 50%, IV군이 75%로 I군이 가장 높았고 다음으로 IV군, II군, III군의 순서였다. 여기서 II군이 낮은 이유는 허혈전 상태에서 타군에 비해 절대치가 매우 높았으나 재관류 때 떨어졌기 때문이며, 재관류 때도 절대치로는 타군에 비해 통계적으로 유의하게 낮지는 않았다. 이완기압 미분치에 대한 수축기압 미분치의 회복률은 I군이 116%, II군이 100%, III군이 100%, IV군이 55%로 I군이 가장 높았으며, 다음으로 II, III, IV군의 순서였다. 그리고 전체 압력미분치의 회복률은 I군이 34%, II군이 67%, III군이 51%, IV군이 76%로 IV군이 가장 높았으며, 다음으로는 II군, III군, I군의 순서였다. 여기서도 II군이 IV군에 비해 회복률은 낮았으나 허혈 전이나 재관류 후의 절대치는 타

Table 9. Recovery percentage of LV + max dp/dt, $\frac{-dp/dt}{+dp/dt}$ ratio and total dp/dt

Group	+max dp/dt		%	$\frac{-dp/dt}{+dp/dt}$ ratio		%	total dp/dt		%
	Pre.	Rep.		Pre.	Rep.		Pre.	Rep.	
I	966±93.9	750±132.6	78	0.69±0.22	0.8±0.07	116	1594±171	541±271	34
II	1144±116.4	644±95.5	56	0.6±0.06	0.6±0.06	100	1775±165	1195±116	67
III	917±89.5	455±48	50	0.7±0.03	0.7±0.05	100	1479±144	759±77	51
IV	906±75.8	681±87.6	75	1.1±0.52	0.6±0.04	55	1463±132	1113±140	76

Pre : Preischemia 10 minutes, Rp : Reperfusion 15 minutes

Table 10. +Max. dp/dt of each group (mean±S.E, mmHg/sec)

Group	Preischemia(min)			Reperfusion(min)			
	10	15	20	1	3	10	20
I	783 ±84.8	966 ±93.9	956 ±103.5	583 ±98.2	813 ±65.6	750 ±132.6	763 ±148.4
II	1008 ±138.9	1144 ±116.4	1163 ±109.5	758 ±149.9	604 ±91.7	644 ±95.5	700 ±84.3
III	834 ±93.7	917 ±89.5	965 ±126.6	766 ±107.5	420 ±78.0	455 ±48.0	484 ±40.6
IV	906 ±76.9	906 ±75.8	825 ±87.8	571 ±62.9	600 ±97.4	681 ±87.6	611 ±82.6

군에 비해 높았다(Table 9).

8. 압력 미분치

허혈전 상태 10, 15, 20분에서 최대 수축기압 미분치는 I군이 738, 966, 956 mmHg/sec, II군이 1008, 1144, 1163 mmHg/sec, III군이 834, 917, 965 mmHg/sec, IV군이 906, 906, 825 mmHg/sec였으며, 재관류상태 1, 3, 10, 20분에서는 I군이 538, 813, 750, 763 mmHg/sec, II군이 758, 604, 644, 700 mmHg/sec, III군이 766, 420, 455, 484 mmHg/sec, IV군이 571, 600, 681, 611 mmHg/sec였다. 즉, 재관류 3, 10, 20분에서만 I군이 II군보다 높은 것 외에는 전체적으로 II군이 가장 높았으며, 특히 허혈전 상태에서는 II군이 타군에 비해 월등히 높았다(Table 10).

고찰

본 실험에서 사용한 정압형 비작업성 Langendorff 장치는 1990년 정 등¹⁵⁾과 1994년 이 등¹⁶⁾의 것과 동일한 종류이나 정수압을 증가시킨 것이 다른 점이며, 실험시에 가스분석을 할 때 평형화시키기에 편리한 점이 있다.

본 실험에서는 심박수를 분당 300회로 고정함으로써 관상혈류량과 각종 심기능, 즉 좌심내압, 최대 수축기압 미분치 등이 동일한 심박수에서 각 군들을 직접 비교할 수 있게 하였다.

심근 혈류는 관상 혈관계와 측부순환에 의해 이루어지고 있으나 측부순환은 매우 미미하기 때문에 대부분의 혈액 공급은 관상 혈관계에 의해 공급된다. 특히 급성 심근의 허혈시에는 측부순환작용이 더욱 원활하지 못하므로, 본 실험에서는 측부순환이 배제된 고립형(isolated) 심장을 사용하였다. 관상 혈관계는 동맥계와 정맥계로 구성되고, 동맥계는 다시 좌우관상동맥으로 구분된다. 그 중 좌측 관상동맥이 심장 전체 혈류량의 85%를 공급하고, 우측 관상동맥이 15%를 담당하고 있다. 정맥계는 우심방으로 유입되는 관상정맥동과 전방 심장정맥(anterior cardiac vein), 심실로 직접개구하는 최소 심정맥(thebesian vein) 그리고 arterioluminal vein과 arteriosinusoidal vein으로 구성된다. 본 연구에서는 대동맥을 통하여 역행성으로 관류된 후 관상정맥동을 통하거나 심장 내에서 흘러나오는 모든 혈류를 관상혈류로 취급하였다.

실험과정은 20분간의 평형 상태 후 40℃의 Green cardiosol[®] 5 ml를 주입하여 약리학적인 심정지를 유도하고 관류정지 후 심장을 370℃의 수조내에 위치하여 20분간의 무관류로 무산소 상태를 만든 후 20분간의 재관류를 하였다.

이 등¹⁶⁾은 0℃에서 심장을 허혈, 보관시켜도 대사는 지속되므로 심근세포를 보전시키기 위해서는 소량의 에너지가 여전히 필요하다고 보고하였으며, 저온 저장으로 인한 몇가지의 효소반응들이 차단되어 세포를 파괴시킬 수도 있음을 지적한 바 있었기에 저자는 허혈보관을 4℃의 냉심정지액으로 심박동을 급히 정지시킨 후 37℃의 항온수조내에 보관하는 방법을 선택하였다.

실험에 사용된 심장은 적출시 2~3분간의 일시적인 허혈 상태가 있었으며, 이러한 허혈상태를 전조전화¹⁷⁾라고

할 수 있으나 모든 실험군에서 동일한 실험 과정이었으므로 이것이 실험에 영향을 줄 수 있는 요인이라고는 생각하지 않는다. 허혈성 심근에서는 관류가 정지된 순간부터 혐기성 해당작용이 일어나고, 세포막은 세포외액 조성인 Green cardiosol[®]의 주입으로 K⁺ 농도에 의해 탈분극 현상이 소실된 상태가 되며 동시에 cytosol에는 무관류 상태로 인한 연속적이고 동시적인 변화가 시작된다. 박 등³⁰⁾의 주장에 의하면 심근허혈시 cytosol의 즉각적 반응으로는 Ca²⁺이온의 평형장애, proton과 유산의 축적¹¹⁾, 혐기하의 산화인산화 과정으로 ATP생성의 증가나 감소가 일어나는 과정에서 ATP의 소모가 계속된다고 하였다. 또한 조기반응으로 mitochondria의 대사 감소, 지방산에 대한 beta oxidation pathway를 통한 일련의 변화도 감소한다. 지방산 이용 감소가 acetyl-CoA유도체의 축적을 조장하고 cyclic AMP-mediated lipolysis가 활성화된다. 여기까지 일어난 여러 변화들은 아직은 가역적인 현상이라 할 수 있다.

1987년 Ignarro 등³¹⁾은 isolated bovine 관상동맥을 포함한 Krebs-Ringer bicarbonate액 내에서 nitric oxide가 생산되는 것을 처음 발견하였으며, 같은 해에 Palmer 등⁴⁾은 nitric oxide의 생산이 혈관내피세포내에서 합성됨을 발견하였다. 이후 많은 nitric oxide에 대한 역할과 기능이 밝혀졌으나, 지금은 네 가지로 요약할 수 있다. 첫째, 신경전도, 둘째, 혈관확장, 셋째, 신경기능, 넷째, 면역방어기능들을 위한 내인성 매개체이다⁹⁾. Nitric oxide는 그 중요한 기능이 밝혀지기 전까지는 흡연이나 스모그내의 환경 오염의 주범으로, 또는 nitrous oxide(N₂O) 생산시의 불순물로서 불안정하고 독성이 있는 분자로 형성된 기체로 취급되었다. 그러나 nitric oxide의 생리학적 기능과 약리학적 기능들이 밝혀짐에 따라 지금은 중요한 약제(pharmacologic agent)의 위치에 서게 되었다⁹⁾. 이외에 최근에 밝혀진 nitric oxide의 생리학적 기능들은 동맥혈압조절, 장기 기억기전, 소화기능 및 항미생물 저항기능 등이 있다. 그래서 저자는 acetylcholine이 내피세포에 muscarine-2 수용체에 작용할 때 내인성 조정기(endogenous mediator)로서 용해성 guanylate cyclase를 활성화시키는 자연적인 nitric oxide의 기능¹¹⁾을 대조군으로 하였으며, 인위적인 nitric oxide를 투여했을 때를 II군으로, isosorbide dinitrate를 투여한 군을 III군으로, sodium nitroprusside를 투여한 군을 IV군으로 계획하였다. Isosorbide dinitrate나 sodium nitroprusside를 선택한 이유는 과거에 isosorbide dinitrate나 sodium nitroprusside가 nitrite나 nitrate를 생산함으로써 약리작용을 한다고 이해되어 왔으나, 지금은 모두 nitric oxide에 의하여 약리 작용을 한다고 밝혀 졌기 때문이다. 저자의 의

도는 nitric oxide의 직접적인 투여와 isosorbide dinitrate가 혈관 내피세포 수준에서 대사되어 nitrite로 변화한 후 nitric oxide를 생산하는 과정, sodium nitroprusside가 혈관 내피세포와 무관하게 nitric oxide로 되는 과정 사이에 어떤 차이가 있는지를 비교 검토하는 것이다. sodium nitroprusside는 동정맥 모두에 작용하여 내피세포의 작용과는 무관하게 작용하며, 이것은 약자체의 구조상 nitric oxide를 직접 생산할 수 있는 특징을 갖고 있기 때문이다. 다음 단계로는 활성화된 G-cyclase에 의해 평활근들의 이완이 일어난다¹⁴⁾. 저산소증이 있는 경우는 nitric oxide가 분비되어 혈관 확장작용을 유발하지만 PO₂가 30 mmHg이하일 때는 nitric oxide 합성 자체가 안되며, 기본적인 nitric oxide 분비는 동맥이 정맥보다는 크다고 알려져 있다⁹⁾. 저자의 실험에서 가장 우려한 점은 nitric oxide를 직접 심근에 투여하는 방법상의 문제였다. 생체 내에서는 nitric oxide가 hemoglobin과 친화력이 높으므로 가스 상태의 투여가 가능하지만 실험 모델에서는 부득이 액화방법 이외에는 선택의 길이 없었다. nitric oxide를 액화시켰을 경우 500 mmHg의 산소분압하에서 NO₂나 N₂O로 변화할 것이라는 것은 자명⁹⁾하지만 화학반응은 양 방향성이므로 nitric oxide의 작용이 기대되었으며, 이는 실험성적에서도 예견하였던 바와 같은 결과를 보였기에 nitric oxide의 약리작용이 나타난 것으로 판단된다. 본 실험에서는 790 ppm의 nitric oxide 가스를 사용하였으며, Kam⁹⁾ 등은 Krebs-Henseleit 완충액 속에서 free nitric oxide의 농도가 pico mol일 경우는 생리학적 작용이 기대되고 동시에 cyclic GMP가 증가하게 되지만 nano mol인 경우에는 독성작용이 나타난다고 하였다. 이에 저자는 허혈전(preischemia) 상태를 일반적인 30분보다 10분을 줄인 20분으로 정했으며 재관류 시간도 20분으로 줄여서 실험함으로써 독성작용의 발현을 방지하려고 노력하였다.

심장기능을 평가하기 위해 저자는 좌심실 내압, 좌심실 수축기내압의 최대 미분치를 조사하였다. 좌심실 내압은 좌심실 수축기내압에서 좌심실 이완기 내압을 뺀 것으로 하였고, 최대 미분치는 좌심실 내압을 시간에 따라 변화치를 계산할 수 있는 differentiator라는 특수한 장치를 이용하였다. 좌심실과 우심실 내압의 미분치가 차이가 있는 것에 대해서 Mason과 Braunwald¹²⁾, Gleason과 Braunwald⁸⁾는 이 미분치가 심근 수축력의 변화에 따라 민감하게 변화하며, inotropic intervention으로 민감하게 변화를 나타내기 때문이라고 하였다. 이는 afterload와 preload, 빈맥시에도 반영이 되고, 압파의 분석은 초기 수축기압 미분치와 확장기압 미분치, 이 두 압의 미분치를 합한 총압 미분치

로 구분할 수 있다고 하였다. 심장기능의 평가에서 최대 수축기압 미분치는 최대 확장기압 미분치보다 신빙도가 좋지만 이완의 속도로는 최대 확장기압미분치가 의미 있으며, Doring 등¹⁹⁾은 최대 수축기압 미분치에 대한 최대 확장기압 미분치의 비율이 더 큰 신빙도가 있다고 주장하고 있다. 또한 정상적인 쥐의 심장에서는 0.5~0.6이 정상치라고 하였다.

저자의 실험 중 II군에서 총압 미분치가 허혈전에 1,775 mmHg/sec, 재관류때 1,195 mmHg/sec로 타군에 비해 높았으며, 수축기압 미분치에 대한 이완기압 미분치의 비율은 허혈전, 재관류 모두에서 0.6으로 Doring 등이 주장한 바와 같은 결과가 나왔다.

심기능 평가중 간접적인 지표 중 LVDP x 심박동수가 있으나, 본 실험에서는 심박동수를 분당 300회로 고정하였으므로 LVDP x 심박동수는 의미가 없으며, 최대 미분치도 심박동수에 의존하므로 LVDP와 미분치를 그대로 비교하는 것이 적절하다고 판단되었다. 본 실험에서는 II군의 LVDP가 허혈전 때는 타군에 비해 통계적으로 유의하게 높았으며, 재관류 때는 I군보다는 낮았으나 III, IV군에 비해서는 높았다. Bistow 등¹⁸⁾에 의해 시도, 평가된 바 있는 심내막 생검이 심근허혈이나 이식심장의 거부반응의 판정에 가장 정확한 방법이라는데는 전적으로 동의하지만 임상적 이용에 어려움이 있어서 본 실험에는 적용하지 못하였다.

1993년 Ljusegren 등¹¹⁾은 쥐의 우심을 이용한 저산소증 상태에서 sodium nitroprusside 투여시 조직내에 cyclic-GMP와 유산형성이 달라진다는 사실을 증명한 바 있으며, 저자의 실험에서도 각 군의 심근내에 축적된 유산양과 관상혈류내의 유산의 양을 측정하였다. 그 성적은 II군에서 재관류 후의 심근내의 유산의 양은 0.65 mmol/gm으로 I, III군에 비해 통계적으로 유의하게 낮았으며, 관상혈류내의 양은 허혈전 때는 I,III군에 비해 높았으나, 재관류 후에는 다른 모든 군보다도 낮았다. 그리고 관상혈류내의 허혈전에 대한 재관류때의 유산의 비율은 3분과 10분때 각각 0.42, 0.58로 타군에 비해 낮았다.

1992년 박 등²⁰⁾은 미세투석기를 이용한 실험에서 L-arginine과 세 가지 아미노산을 첨가한 보호액으로 심근 보호 유무를 가늠해 본 결과 심근보호 효과가 인정된다는 사실을 밝힌 바 있으며, 이는 저자의 실험 의도와 일치되는 것이다.

결론

저자는 심장의 관상동정맥을 이완시키고 관상혈류를 증가시키며 심근의 기능을 호전시킬 수 있다고 예견되는 약제들 중 울혈성 심부전이나 협심증의 치료제로 쓰이는 isosorbide dinitrate와 혈관의 내피세포와는 무관한 약리기전을 가진 sodium nitroprusside를 본 실험에서 선택하였다. 또한 상기의 두 가지 약제들이 최종 약리작용을 일으킨다고 보고되고 있으며, 최근 임상 치료 목적으로 개발되어 폐 고혈압에 좋은 약효를 나타내는 nitric oxide를 실험에 적용하였으며, 흰쥐의 심장을 적출하여 허혈성 심정지 전후 정압형 Langendorff 장치를 사용하여 냉동심근내와 관관류액 내의 유산과 CK-MB 효소치, 관관류량, 그리고 여러 가지 심근기능의 변화를 관찰하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 냉동 심근조직내의 유산의 양은 nitric oxide와 sodium nitroprusside 투여군에서 적었고, 다음으로 isosorbide dinitrate 투여군이었으며, 대조군에서 가장 많았다.
2. 관관류액 내의 유산치는 허혈전 상태에서는 대조군과 isosorbide dinitrate 투여군에서 낮았으나 재관류 후에는 nitric oxide 투여군과 isosorbide dinitrate 투여군에서 낮았다.
3. 허혈 전에 비해 재관류 후의 유산치를 비교해 본 결과 대조군과 isosorbide dinitrate 투여군은 점차 증가되었으나 nitric oxide 투여군과 sodium nitroprusside 투여군은 동등하거나 약간 감소하였다.
4. 냉동 심근조직 내의 CK-MB 효소치는 nitric oxide 투여군과 sodium nitroprusside 투여군에서 낮았다.
5. 관관류액 내의 CK-MB 효소치는 nitric oxide 투여군과 isosorbide dinitrate 투여군에서 적었고 대조군과 sodium nitroprusside 투여군은 점차 증가하였다.
6. 실험 전과정에서 관관류량은 nitric oxide 투여군과 sodium nitroprusside 투여군이 타군보다 높았다.
7. 허혈전 좌심실 내압은 nitric oxide 투여군과 sodium nitroprusside 투여군이 높았다.
8. 좌심실 수축기압 최대 미분치는 허혈전 상태에서 nitric oxide 투여군이 가장 높았으며, 나머지 세 군은 비슷한 수준을 보였다.
9. 관관류량의 허혈 후 회복률은 대조군이 90%, nitric

oxide 투여군이 81%, isosorbide dinitrate 투여군이 94%, sodium nitroprusside 투여군이 92%였으나 재관류 후 절대치는 nitric oxide 투여군과 sodium nitroprusside 투여군이 각각 16.2ml/gm, 16.8 ml/gm으로 높았고 대조군과 isosorbide dinitrate 투여군이 11.4 ml/gm, 11.7 ml/gm으로 낮았다.

10. (-dp/dt)/(+dtp/dt) 비는 nitric oxide 투여군과 isosorbide dinitrate 투여군이 100%였고 sodium nitroprusside 투여군이 55%, 대조군이 116%였다.

11. 총압 미분치의 허혈 후 회복률은 sodium nitroprusside 투여군이 76%로 가장 높았고, 다음으로 nitric oxide 투여군이 67%로 높았으며 isosorbide dinitrate 투여군은 51%, 대조군은 34%였다.

이상에서 결론은 심장의 관상동맥의 확장 효과는 nitric oxide가 뛰어나고 sodium nitroprusside도 버금가는 효과를 보였다. 허혈성 심정지 전후 심근의 손상지표인 유산치와 CK-MB치는 nitric oxide 투여군과 sodium nitroprusside 투여군에서 낮았다. 그러나 재관류 후 좌심실 내압 상승에는 뚜렷한 효과를 나타내지는 못했다. 그 이유로는 심근세포에 대한 보호효과보다는 혈관 내피세포와 평활근 이완의 탁월한 효과에서 기인되는 것으로 판단된다.

참고 문헌

1. 정종화, 김송명. 개심술 전후의 Alpha 1-Proteinase inhibitor의 추이. 대홍외지 1989; 22:402-15.
2. Ignarro LJ. Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein. Circ Res 1989; 65:1-21.
3. Ignarro LJ, Byrn RE, Buga GM, Wood KS. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possessed pharmacologic and chemical properties identical to those of Nitric oxide radical. Circ Res 1987; 61: 866-79.
4. Gleason WL, Braunwald E. Studies on the first derivative of the ventricular pressure pulse in man. J Clin Invest 1962; 41:80.
5. Palmer RMJ, Ferring AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 1987; 327: 524-6

6. Ali K, Morimoto M, Fukaya Y, Fukukawa Y. Improvement of cardiac function impaired by repeated ischemic arrests in isolated rat hearts. Ann Thorac Surg 1993; 55:902-7
7. Habib F, Dutka D, Crossman D, Oakley CM, Cleland JGF. Enhanced basal nitric oxide production in heart failure : another failed counter -regulatory vasodilator mechanism? Lancet 1994; 344:371-4
8. Hoffman M. A new role for gases : Neurotransmission. Science 1991; 252:1788
9. Kam PCA, Govender G. Nitric oxide : basic science and clinical applications. Anesthesia 1994; 49:515-21.
10. Leffer AM, Tsao PS, Johnson III G. Role of endothelium-derived relaxing factor as cardioprotective agent in myocardial ischemia. In : Rubanyi GM, Vanhoutte PM(eds): Endothelium-Derived Contracting Factors. Basel, Karger 1990, 190-7
11. Ljusegren ME, Axelsson KL. Lactate accumulation in isolated hypoxic rat ventricular myocardium : Effect of different modulator of the cyclic GMP system. Pharmacol & Toxicol 1993; 72: 56-60
12. Mason DT, Braunwald E. Studies on digitalis IX. Effects of ouabain on the nonfailing human heart. J Clin Invest 1963; 42:1105
13. Pearl JM, Laks H, Drinkwater DC. Loss of endothelium-dependent vasodilation and nitric oxide release after myocardial protection with University of Wisconsin Solution. J Thorac Cardiovasc Surg 1994; 107:257-64
14. Snyder SH, Bredt DS. Biological role of nitric oxide. Sci Am 1992, May; 68-77
15. 정언섭, 김송명. Langendorff 분리 심모형에서 L-carnitine이 허혈성 심근에 미치는 효과. 대홍외지 1991; 3:429-37
16. 이재성, 김송명, 김규태. 적출쥐 심장의 장시간 보존에 있어서 University of Wisconsin 수정용액의 우수성. 대홍외지 1993; 26:427-40
17. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia; a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation 1986; 74:1124-36
18. Bistow MR, Mason JW, Billingham ME. Doxorubicin cardiomyopathy : evaluation by phonocardiography, endomyocardial biopsy and cardiac catheterization. Am Intern Med 1978; 88:168-86
19. Dohring HT, Dehnert H. The isolated perfused heart according to Langendorff. Biomesstechnik-Verlag, West Germany p 68, 1987.
20. 박성달, 김송명. 미세투석기를 이용한 실험적 급성허혈심근에 관한 연구. 대홍외지 1983; 26:441-51

=국문초록=

혈관확장의 기전으로 혈류를 증가시킨다고 보고된 nitric oxide(이하 NO), isosorbide dinitrate(이하 ISDN), 그리고 sodium nitroprusside(이하 SNP)에 대해 어떤 물질이 허혈성 심근에서 더 효과적인지를 알아보기 위해 이 실험을 시행하였다.

그리고 실험군은 정상대조군(1군), NO군(2군), ISDN군(3군), SNP군(4군)으로 나누었다.

실험 대상은 쥐의 심근을 채택하였으며, 실험 모델은 isolated constant pressure Langendorff system을 채택하였다. 그리고 효과를 비교하기 위해서 냉동 심근과 관혈류내의 lactate와 CK-MB수치, 관혈류량, LVDP, dp/dt등을 측정하였다.

결과는

1. 2군과 4군에서 허혈전 상태에서의 lactate치가 낮았다($p < 0.0025$).
2. 반면에 관혈류량은 2군과 4군에서 높았다.
3. 허혈전과 허혈후에 생산된 lactate수치의 비는 2군과 4군에서 낮았다($p < 0.005$).
4. 관혈류내의 CK-MB치는 2군과 3군에서 낮았으며, 냉동 심장내의 CK-MB치는 2군과 4군에서 낮았다.
5. 관혈류량은 전 실험과정에서 2군과 4군에서 높았다($p < 0.005$).
6. 허혈전 상태에서의 LVDP는 2군에서 가장 높았다.
7. +maximal dp/dt는 2군에서 가장 높았다.
8. 허혈전과 재관류후의 회복률은 1군이 가장 높았다.
9. $(-dp/dt)/(+dp/dt)$ 의 비는 각군에서 각각 116%, 100%, 100%, 55% 였다.
10. total dp/dt의 회복률은 각각 34%, 67%, 51%, 76%였다.

결론적으로 nitric oxide는 관상혈관의 확장에 상당한 효과가 있는것으로 생각되며, lactate와 CK-MB의 생산은 NO 군과 ISDN군에서 효과적으로 낮았다.