

체외순환후 혈중 Thromboxane B₂와 Endothelin-1 농도 변화에 미치는 Aprotinin의 효과

임 청* · 윤 태 진* · 김 연 승** · 김 승 후*** · 이 재 담***
노 준 량**** · 송 명 근*

=Abstract=

Effect of Aprotinin on Changes in Plasma Thromboxane B₂ and Endothelin-1 Concentration after Extracorporeal Circulation

Cheong Lim, M.D.*. Taejin Yun, M.D.*, Yeonseung Kim, M.D.**. Seunghoo Kim, M.D.***,
Jaedam Lee, M.D.***, Joon Ryang Rho, M.D.****, Meong Gun Song, M.D.*

Background: Thromboxane A₂ and endothelin-1 are the potent vasoconstrictors affecting pulmonary pathophysiology in response to whole body inflammation following CPB. Aprotinin, as an antiinflammatory agent, may decrease the release of such vasoactive substances from pulmonary tissues, preventing pulmonary hypertension after cardiopulmonary bypass. **Material and Method:** Ten mongrel dogs(Bwt. ac. 20 kg) were subjected to cardiopulmonary bypass for 2 hours and postbypass pulmonary vascular resistance(0, 1, 2, 3 hours) were compared with prebypass level. The dogs were divided into 2 groups; control group(n=5) and aprotinin group(n=5). In the aprotinin group, aprotinin was administered as follows; 50,000 KIU/kg mixed in pump priming solution, 50,000 KIU/kg prebypass intravenous infusion over 30 minutes, 10,000 KIU/kg/hour postbypass continuous infusion. Prebypass and postbypass 0, 1, 2, 3 hour pulmonary vascular resistance were measured. At prebypass and postbypass 0, 90, 180 minutes, blood samples were obtained from pulmonary arterial and left atrial catheters for the assay of plasma thromboxane B₂, a stable metabolite of thromboxane A₂, and endothelin-1 concentrations. **Result:** The ratios of postbypass over prebypass pulmonary vascular resistance at postbypass 0, 1, 2, 3 hours were 1.28 ± 0.20 , 1.82 ± 0.23 , 1.90 ± 0.19 , 2.14 ± 0.18 in control group, 1.58 ± 0.18 , 1.73 ± 0.10 , 1.66 ± 0.10 , 1.50 ± 0.08 in aprotinin group; the ratios gradually increased in control group while decreased or fluctuated after postbypass 1 hour in aprotinin group. There was statistically significant difference between control group and aprotinin group at postbypass 3 hours(P=0.014).

*울산대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, University of Ulsan

**아산재단 생명과학연구소

Asan Institute for Life Sciences

***울산대학교 의과대학 생화학교실

Department of Biochemistry, College of Medicine, University of Ulsan

****서울대학교 의과대학 흉부외과 교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Seoul National University

†본 논문은 아산 생명과학연구소 연구비(과제번호 99-224) 지원 결과임

논문접수일 : 99년 12월 27일 심사통과일 : 2000년 2월 16일

책임저자 : 임 청(138-736) 서울특별시 송파구 풍납동 388-1, 서울중앙병원 흉부외과. (Tel) 02-2224-3580, (Fax) 02-2224-6966

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

Pulmonary arterial plasma concentration of thromboxane B₂(pg/ml) at prebypass, postbypass 0, 90, 180 minutes were 346.4±61.9, 529.3±197.6, 578.3±255.8, 493.3±171.3 in control group, 323.8±118.0, 422.6±75.6, 412.3±59.9, 394.5±154.0 in aprotinin group. Left atrial concentrations were 339.3±89.2, 667.0±65.7, 731.2±192.7, 607.5±165.9 in control group, 330.0±111.2, 468.4±190.3, 425.4±193.6, 407.3±142.8 in aprotinin group. These results showed decrement of pulmonary thromboxane A₂ generation in aprotinin group. Pulmonary arterial concentrations of endothelin-1(fmol/ml) at the same time sequence were 7.84±0.31, 13.2±0.51, 15.0±1.22, 16.3±1.73 in control group, 7.76±0.12, 15.3±0.71, 22.6±6.62, 14.9±1.11 in aprotinin group. Left atrial concentrations were 7.61±17.2, 57.1±28.4, 18.9±18.2, 31.5±20.5 in control group, 5.61±7.16, 37.0±26.2, 28.6±21.7, 37.8±30.6 in aprotinin group. These results showed that aprotinin had no effect on plasma endothelin-1 concentration after cardiopulmonary bypass. **Conclusion:** Administration of aprotinin during cardiopulmonary bypass could attenuate the increase in pulmonary vascular resistance after bypass. Inhibition of pulmonary thromboxane A₂ generation was thought to be one of the mechanism of this effect. Aprotinin had no effect on postbypass endothelin-1 concentration.

(Korean Thorac Cardiovasc Surg 2000;33:221-30)

- Key word : 1. aprotinin
2. vascular resistance
3. cardiopulmonary bypass
4. thromboxane
5. endothelin

서 론

심폐 바이패스 후 나타나는 많은 부작용들 중 전신 염증 반응은 보체계의 활성화, 혈관 반응성의 증가, 세포 간질액 증가, 혈액응고 장애 등으로 나타난다¹⁾. 특히 폐혈관 저항 상승으로 나타나는 혈역학적 변화는 개심술 후 환자의 경과에 치명적인 영향을 줄 수 있다는 점에서 많은 흉부외과 의사들의 관심을 끌고 있다. 심폐 바이패스 후 폐혈관 저항 상승은 선천성 심질환 환아에서 Fontan술식이나 양방향성 Glenn술식과 같이 폐혈관 저항의 미묘한 차이가 술후 경과에 큰 영향을 주는 수술을 시행한 경우나 술후 폐동맥 고혈압성 발작(pulmonary hypertensive crisis)이 예견되는 경우 그 위험도가 더욱 크다고 할 수 있다.

심폐 바이패스 후 폐혈관 저항이 상승하는 기전은 정확히 알려져 있지 않지만, 혈관 반응 물질(vasoactive substance)의 역할이 크다는 것이 많은 연구 결과에서 밝혀지고 있다^{2,3)}. 그 중에서도 강력한 혈관 수축 작용을 갖고 있는 thromboxane A₂(TxA₂)와 endothelin-1(ET-1)이 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며⁴⁻⁹⁾ 이들의 생성을 억제하거나 작용을 저해함으로써 폐혈관 저항 상승을 막을 수 있는 여러 가지 약물들이 연구되고 있는데 이는 dazmagrel과 같은 thromboxane 합성억제제^{10,11)}, Aspirin¹²⁾과 같은 항염증제¹²⁾, 그리고 thromboxane 수용체 길항제^{13,14)}, endothelin 합성억

제제⁷⁾ 등이다.

1996년 Tweddell 등¹⁵⁾은 양방향성 상공정맥-폐동맥 단락술이나 Fontan 술식을 시행할 때 출혈 억제 목적으로 사용된 aprotinin이 폐혈관저항 감소 효과를 나타내, 술후 산소 포화도를 상승시키고 혈역학을 호전시킨다고 보고하였는데, 이는 많은 개심술에서 지혈제로 사용하고 있는 aprotinin으로 또 다른 효과를 볼 수 있다는 점에서 관심을 끌고 있다.

그러나 aprotinin의 폐혈관 저항 상승 완화효과와 혈관 반응 물질과의 관계는 아직까지 잘 알려져 있지 않으므로, 저자는 실험동물에 간단한 심폐바이패스 회로를 설치하여 가동하면서 시간대별로 폐혈관 저항을 측정하고 TxA₂의 안정된 대사물인 thromboxane B₂(TxB₂)와 ET-1의 혈중농도를 측정하여 aprotinin의 폐혈관 저항 상승 완화효과를 살펴보고 aprotinin과 혈관 반응 물질 사이의 관계를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

실험동물 및 바이패스 회로의 준비

실험 동물은 체중 20 kg 전, 후(18~23 kg)인 한국산 집견 10마리를 대조군과 aprotinin 투여군으로 각각 5마리씩 나누어 사용하였다. Sodium thiopental을 체중 1kg당 25 mg씩 정맥주사하여 실험동물을 마취한 후 기도삽관을 하고 인공호

흡을 유지한 상태에서 대퇴동맥에 동맥압 카테터를 설치하였다. 정중 흉골절개 후 심낭을 절개하여 심장을 노출시킨 후 상공정맥(superior vena cava)에 6-0 Prolene[®]으로 찜지봉합(purse-string suture)을 뜬 후 Swan-Ganz catheter(Edward true size pediatric thermodilution catheter, 5Fr, model 132F5, Baxter, Irvin, CA, USA)를 직접 삽입하여 그 말단이 주 폐동맥에 위치하도록 설치한 후 폐동맥압을 감시하고 폐동맥 관류량을 측정하였다. 폐동맥 관류량의 측정에는 cardiac output computer(American Edwards Laboratory, model COM-1 RS, Irvin, CA, USA)를 사용하였다. 또 상행 대동맥과 주 폐동맥 사이를 박리하고, 좌심방이에 흰색 cut-down tube로 좌심방압 라인을 설치하여 좌심방압을 감시하고 혈액샘플 채취경로로 이용하였다. 상행대동맥과 우심방 부속기에 4-0 Ethibond[®]로 찜지 봉합 후 각각 18Fr의 동맥 캐놀라 및 30Fr의 단일 정맥 캐놀라를 삽관하여 바이패스의 준비를 하였으며, 삽관전 헤파린 3 mg/kg를 정주하였다. 심폐 바이패스의 구성은 롤러펌프(Sams 7000, one-head, 6 inch 및 Shiley-Stockert double head, 3 inch)와 기포형 산화기(Bentley 10 plus, Irvin, CA, USA), 열교환기(small heat exchanger, Cincinnati sub-zen, Model 400 MR)등으로 이루어졌고, 3/8 inch tubing(동정맥라인 350 cm, vent 및 sucker 라인 각 100 cm)을 이용하여 바이패스 회로 및 sucker, vent를 각각 설치하였다. 심폐기 충전액은 총 1,100 cc로 하트만 용액에 헤파린 1,100 unit, 8.4% sodium bicarbonate 20 cc, 20% mannitol 80 cc를 추가하여 심폐기 작동 후 헤마토크리트를 25~30%가 되게 하였다.

대조군

총 실험시간은 300분으로 하였다. 심폐 바이패스 직전 폐동맥 관류량 및 폐동맥압, 좌심방압을 측정하고 좌심방과 폐동맥에서 혈액 샘플을 채취한 다음 심폐 바이패스를 시작하였다. 바이패스 시간은 총 120분으로 하였고, 관류량은 50 cc/kg/min를 기본으로 산화기 안의 저혈조 수위가 안정적으로 유지되는 수준으로 유지하되 관류량을 높이기 위한 정질액(crystalloid)의 추가는 체외순환시간동안 총 500 cc를 넘지 않도록 제한하였다.

심폐기 관류액의 PO₂는 100 mmHg 전후로 하고 pH 및 PCO₂는 각각 7.4와 40 mmHg(37℃ 보정값)로 하여 'alpha-star'에 준하도록 하였다. 심폐 바이패스 이탈 후 인공호흡기는 VT=300cc, frequency=16/min, FiO₂=0.3으로 하되 60분 간격으로 동맥혈 가스분석을 하여 pH는 7.4 전후, PaO₂는 100 mmHg 전후, PaCO₂는 40 mmHg 전후가 되도록 조절하였으며, 시간대별로 두 군간의 차이는 없었다. 심폐 바이패스 시작 후 60 분이 되었을 때 헤파린 1 mg/kg를 추가하였으며, 체외순환중 ACT(activated coagulation time)는 대조군에서 480

초 이상, aprotinin 투여군에서는 750초 이상을 유지하였는데(celite activator 기준) 이는 aprotinin의 투여로 ACT가 증가한다는 연구결과에 따라 기준시간을 조정한 것이다^{17,18}. 바이패스 이탈 직후에는 protamine을 4.5 mg/kg 투여하였고, 대동맥 캐놀라를 제거한 후 캐놀라 옆에 달린 3-way를 통해 산화기 및 tubing에 남은 관류액을 체혈 bag에 모아 향후 혈압 강하시 수혈 목적으로 준비하였다.

심폐 바이패스 이탈 직후, 1시간 후, 2시간 후, 3시간 후의 폐동맥 관류량, 폐동맥압 및 좌심방압을 측정하여 폐혈관 저항을 다음과 같이 계산한 뒤 실험동물의 몸무게로 보정하였다.

$$\text{폐혈관저항} = \frac{(\text{평균 주폐동맥압} - \text{평균 좌심방압})}{\text{폐동맥 관류량}}$$

$$\text{보정폐혈관저항} = \text{측정된폐혈관저항} \times \frac{\text{실험동물의몸무게}}{20}$$

심폐 바이패스 직전 및 바이패스 이탈 직후, 90분, 180분에 폐동맥 라인 및 좌심방 라인에서 각각 5 cc를 채혈하여 anticoagulation solution(EDTA : Indomethacin = 0.95 : 0.05, 0.5 cc)이 담긴 centrifuge tube에 담아 TxB₂ assay 용으로 냉장 보관하였다. 한편, 같은 시간대로 폐동맥 라인 및 좌심방 라인에서 각각 5 cc를 채혈하여 anticoagulation solution(EDTA:N/S = 1:6, 1 cc)이 담긴 centrifuge tube에 담아 ET-1 assay 용으로 냉장 보관하였다. 채혈 후에는 준비된 같은 양의 관류액을 보충하여 혈압하강을 방지하였다. 냉장보관된 시료들은 실험이 끝난 후 4,000 g로 20분간 원심분리하여 혈장을 분리 후 1 cc씩 2개를 microcentrifuge tube에 분주하여 영하 70℃로 급속 냉동하여 보관하였다.

실험군

실험군은 대조군과 같은 방법으로 실험을 진행하되, aprotinin을 다음과 같이 투여하였는데 이는 일반적으로 알려진 용량 분류¹⁹에 따르면 고용량 투여법에 속한다고 할 수 있다.

심폐기 충전액 혼합 : 50,000 KIU/kg (100 cc)

심폐 바이패스 직전 : 50,000 KIU/kg를 30분간 정맥주사

심폐 바이패스 이탈 후 : 10,000 KIU/kg/hr 지속 정맥주사

이때 aprotinin은 Aprotinbin[®](일동제약, BIOCOMMIE Ges.m. b.H., Austria)을 사용하였다.

혈관작용물질(vasoactive substances)의 분석

TxB₂의 분석은 enzymeimmunoassay의 방법을 이용하였다(Amersham, Thromboxane EIA system, code RPN 220). ET-1의 분석은 enzyme linked immunosorbant assay의 방법을 이용하였다(Amersham, Endothelin-1 ELISA system, code RPN 228).

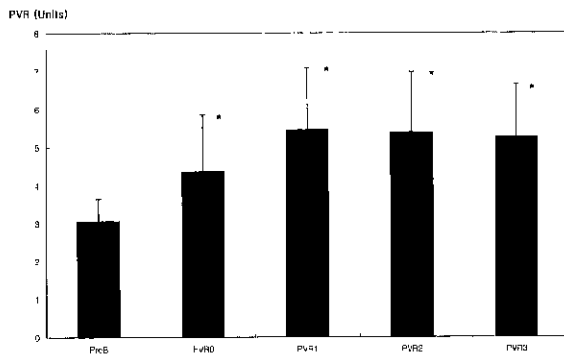


Fig. 1. Changes of prebypass and postbypass pulmonary vascular resistance in all dogs. PVR; pulmonary vascular resistance. PreB; prebypass PVR, PVR 0-3 : postbypass 0-3 hour PVR, * ; $p < 0.05$, compared with prebypass PVR

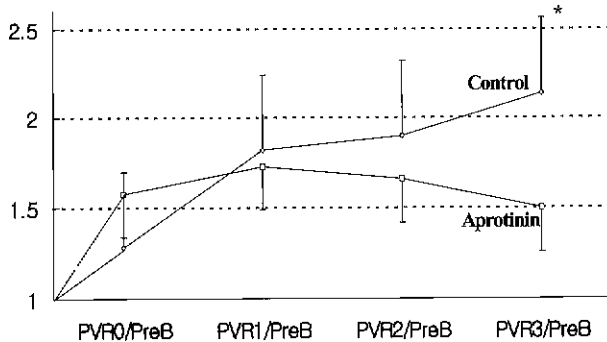


Fig. 2. Ratio of postbypass over prebypass pulmonary vascular resistance in control and aprotinin groups. PVR ; pulmonary vascular resistance, PreB, prebypass PVR, PVR 0-3 : postbypass 0-3 hour PVR, * ; $p < 0.05$, in Mann-Whitney U-test

통계처리

폐혈관저항의 변화는 심폐 바이패스 전과 바이패스 후의 측정치를 paired t-test의 비모수적방법인 Wilcoxon signed ranks test로 비교하였고, 두 군간의 비교는 심폐 바이패스 후와 바이패스 전과의 비율을 계산한 후 각 시간대별로 평균치를 비모수적으로 비교하였다(Mann-Whitney U-test). TxB_2 와 ET-1의 농도변화는 심폐 바이패스 전 농도와 바이패스 후 농도를 각 시간대별로 두 군간의 평균치를 비모수적으로 비교하였다(Mann-Whitney U-test). 시간에 따른 TxB_2 와 ET-1의 농도변화는 바이패스 전 농도에 대한 바이패스 직후, 90분 후, 180분 후 농도를 Wilcoxon signed ranks test로 비교하였고 대조군과 실험군 사이에 농도차이가 있는지는 repeated measures GLM test로 비교하였다. 모든 측정치는 평균±표준

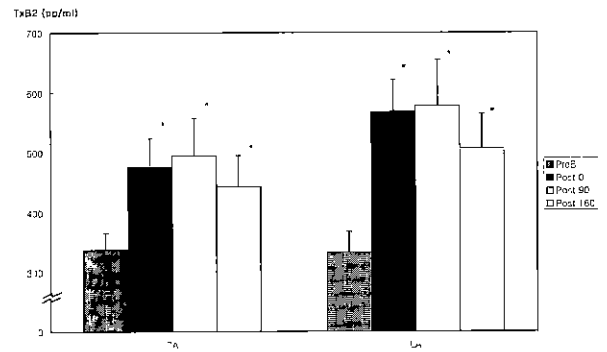


Fig. 3. Prebypass and postbypass thromboxane B_2 concentrations in pulmonary artery and left atrium. PA; pulmonary artery, LA; left atrium, TxB_2 ; thromboxane B_2 , PreB ; prebypass TxB_2 concentration Post 0, 90, 180; postbypass 0, 90, 180 minutes TxB_2 concentration. * , $p > 0.05$, compared with prebypass TxB_2 level

편차로 나타내었으며 p-value 0.05 이하를 통계적으로 유의하다고 판정하였다 통계 패키지는 SPSS 7.5K를 사용하였다.

결 과

폐 혈관 저항의 변화

전체 실험전에서의 바이패스 종료 직후, 1시간, 2시간, 3시간 후의 폐혈관 저항은 바이패스 전과 비교하여 유의하게 높은 양상을 보였다(Fig. 1). 각 군의 바이패스 종료 직후, 1시간, 2시간, 3시간 후의 폐혈관 저항의 바이패스 전과의 비율은 대조군에서 시간 경과에 따라 점차 상승하는 반면 aprotinin 투여군에서는 바이패스 종료 후 1시간을 기점으로 점차 하강하는 양상을 보였으며, 두 군에서의 폐혈관 저항의 바이패스 전, 후 비율을 비교하면 바이패스 종료 3시간 후 통계적으로 유의한 차이가 있었다(Fig. 2)

Thromboxane B_2 농도의 변화

전체 실험전에서의 바이패스 시작전, 종료직후, 90분, 180분째 TxB_2 의 폐동맥내 혈중 농도는 바이패스 전과 후를 비교할 때 바이패스 후 농도가 모두 높았으나 통계적 유의성은 없었으며, 좌심방내 혈중 농도는 바이패스전의 기준치를 제외하고는 모두 폐동맥내 혈중농도보다 높은 수준을 유지하였으나, 각 시간대별로 좌심방과 폐동맥사이의 농도차이는 통계적 유의성이 없었다(Fig. 3). 각 군별로 비교해 보았을 때, TxB_2 의 폐동맥내 혈중 농도는 각 시간대별로 두 군간에 차이가 없었으나, 좌심방에서의 각 시간대별 농도변화는 두 군간에 통계적 유의성이 있었다(Fig. 4, 5). 또한 통계적 유의

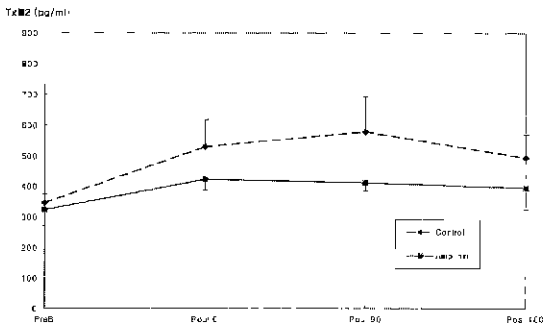


Fig. 4. Serial changes of pulmonary arterial thromboxane B₂ concentration in control and aprotinin groups*. TxB₂ thromboxane B₂, PreB; prebypass, Post 0, 90, 180; postbypass 0, 90, 180 minutes, * ; p = 0.19 in repeated measures GLM

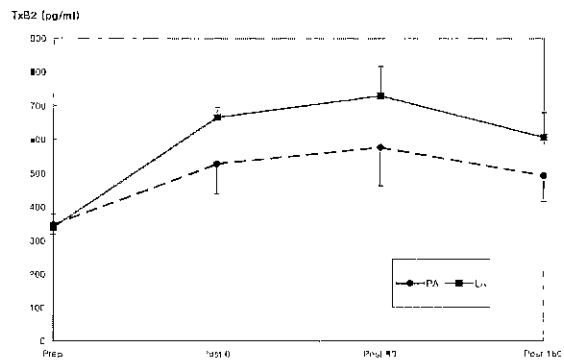


Fig. 6. Serial changes of pulmonary arterial and left atrial thromboxane B₂ concentration in control group*. TxB₂ thromboxane B₂, PA; pulmonary artery, LA; left atrium, PreB; prebypass, Post 0, 90, 180; postbypass 0, 90, 180 minutes. * p = 0.29 in repeated measures GLM

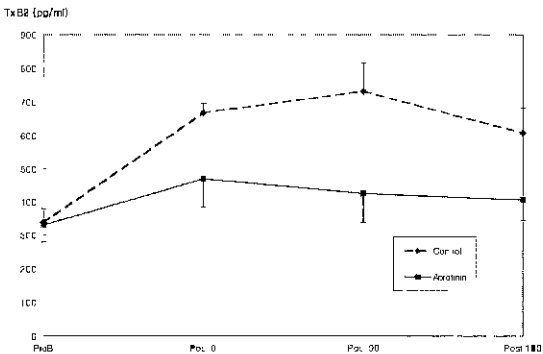


Fig. 5. Serial changes of left atrial thromboxane B₂ concentration in control and aprotinin groups*. TxB₂ thromboxane B₂, PreB; prebypass, Post 0, 90, 180; postbypass 0, 90, 180 minutes. * ; p = 0.04 in repeated measures GLM

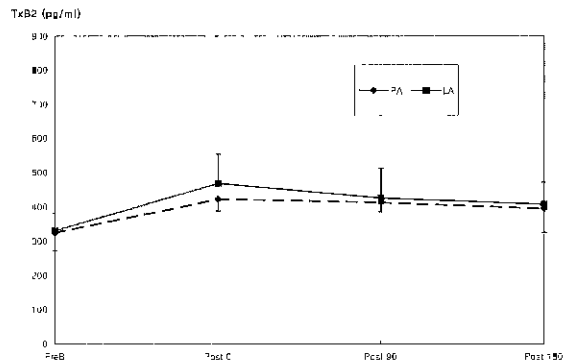


Fig. 7. Serial changes of pulmonary arterial and left atrial thromboxane B₂ concentration in aprotinin group*. TxB₂ thromboxane B₂, PA; pulmonary artery, LA, left atrium, PreB ; prebypass, Post 0, 90, 180, postbypass 0, 90, 180 minutes, * p = 0.61 in repeated measures GLM

성은 없었지만 대조군에서는 폐동맥내 농도보다 좌심방내 농도가 더 높고, aprotinin 투여군에서는 그 농도차이가 거의 없어지는 양상을 보임으로써 aprotinin이 폐혈관에서의 TxA₂ 생성을 완화시킴을 나타내었다(Fig. 6, 7).

Endothelin-1 농도의 변화

전체 실험전에서의 바이패스 시작전, 종료직후, 90분, 180분째 Endothelin-1의 폐동맥내 혈중 농도는 바이패스 전과 후를 비교할 때 바이패스 후 농도가 모두 유의하게 높았으며, 좌심방내 혈중 농도는 바이패스 후가 높은 양상은 보였지만 통계적 유의성은 없었다(Fig. 8). 각 시간대별 좌심방과 폐동맥사이의 농도차이는 통계적 유의성이 없었다. Endothelin-1의 폐동맥과 좌심방내 혈중 농도(fmol/ml)는 양 군간에 큰 차이가 없었다(Fig. 9, 10).

고 찰

1950년대 초 Gibbon에 의해 심폐 바이패스가 처음으로 임상에 적용된 이래 심폐 바이패스를 이용한 개심술은 모든 종류의 선천성 및 후천성 심질환을 교정가능하게 하였다. 이는 수술적 술기의 발달뿐 아니라 술전 진단, 심장마취, 인공 심폐회로, 심근보호, 술후 환자관리, 대동맥 풍선박동, 심실 보조장치등 많은 분야의 발전이 어우러져 일궈낸 값진 성과로 여겨진다. 그러나 아직도 해결하지 못한 과제들이 많이 있으며 심폐 바이패스의 부작용으로 나타나는 전신 염증 반응도 그중 하나이다. 특히 심폐 바이패스 후 폐혈관 저항 상

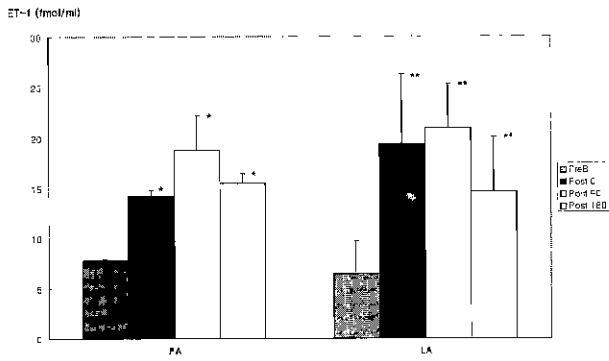


Fig. 8. Prebypass and postbypass endothelin-1 concentrations in pulmonary artery and left atrium. ET-1; endothelin-1, PreB; prebypass ET-1 concentration, Post 0, 90, 180; postbypass 0, 90, 180 minutes ET-1 concentration. * ; p < 0.05, ** ; p > 0.05, both compared with prebypass ET-1 level

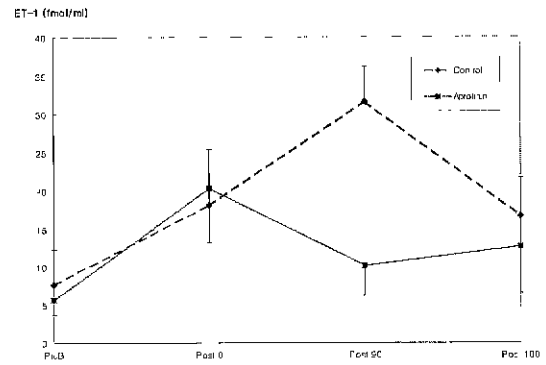


Fig. 10. Serial changes of left atrial endothelin-1 concentration in control and aprotinin groups*. ET-1; endothelin-1, PreB; prebypass, Post 0, 90, 180; postbypass 0, 90, 180 minutes. * ; p = 0.58 in repeated measures GLM

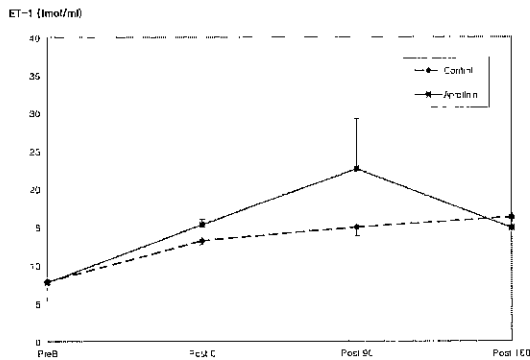


Fig. 9. Serial changes of pulmonary arterial endothelin-1 concentration in control and aprotinin groups*. ET-1, endothelin-1. PreB; prebypass, Post 0, 90, 180; postbypass 0, 90, 180 minutes. * ; p = 0.54 in repeated measures GLM

승은 개심술 환자의 술후 경과에 결정적인 영향을 미치며 특히 선천성 심질환 환아에서 Fontan술식이나 양방향성 Glenn술식과 같이 폐혈관저항의 미묘한 차이가 술후 경과에 큰 영향을 주는 수술을 시행한 경우나 술후 폐동맥 고혈압성 발작(pulmonary hypertensive crisis)이 예견되는 경우 그 중요도가 더욱 크다고 할 수 있다¹⁹⁾.

심폐 바이패스 후 폐혈관 저항이 상승하는 기전은 아직 완전히 밝혀지지는 않았지만, 지금까지 알려진 바에 따르면 전신마취의 부작용으로 인한 폐허탈(atelectasis), 저심박출증 등으로 인한 조직내 저산소증, 그리고 이에 따른 혈중 산도(acidity)의 증가, 불필요한 자극으로 인한 sympathetic tone의 증가, 바이패스 회로를 구성하는 이물질과의 접촉을 통한 외인성 혈액응고체계의 활성화, 혈소판과 백혈구의 응집 및 보체계의 활성화, 혈관 내피세포의 반응성 증가, cytokine을 비롯한 각종 염증 매개 물질의 농도증가 등 많은 요인들이 관

여한다고 하며 이를 토대로 술후 폐혈관 저항을 낮추기 위한 방법, 즉 물리요법(physiotherapy)을 통한 폐허탈의 방지, 과호흡을 통한 혈액의 알칼리화, 중탄산 나트륨 등을 이용한 산증의 교정, fentanyl, vecuronium과 같은 약물을 이용한 진정효과, 초여과법을 이용한 염증 매개 물질의 제거 등이 현재 임상에서 사용되고 있다. 그러나 이러한 모든 방법을 다 동원하여도 해결하기 힘든 경우가 있으며 이는 폐혈관 저항 상승의 기전이 그만큼 복잡하다는 것을 반증하는 것이기도 하다.

최근의 연구결과^{2,3)}들은 폐혈관 저항 상승의 기전으로 혈관 반응 물질(vasoactive substance)의 역할이 매우 크다는 것을 시사하고 있으며 이는 위에서 제시된 많은 요인들이 대부분 폐혈관의 수축을 유발하는 최종 단계로 혈관반응 물질을 분비한다는 것을 의미한다. 혈관 반응 물질은 대표적인 prostacyclin(PGI₂)을 포함하여 prostaglandin E1, nitric oxide, acetylcholine과 같이 주로 혈관 확장에 관여하는 물질과, TxA₂, ET-1, adrenalin 등 주로 혈관 수축에 관여하는 물질이 있다. 이러한 혈관 반응 물질 중에서도 TxA₂와 ET-1이 폐혈관 저항 상승에 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있으며⁴⁻⁹⁾ 이를 토대로 혈관 반응 물질의 생성을 억제하거나 작용을 저해함으로써 폐혈관 저항 상승을 막을 수 있는 여러 가지 약물들이 연구되고 있다^{7,10-14)}.

1996년 Tweddell 등¹⁵⁾은 양방향성 상공정맥-폐동맥 단락술이나 Fontan 술식을 시행할 때 출혈 억제 목적으로 사용된 aprotinin이 폐혈관저항 감소 효과를 나타내, 술후 산소 포화도를 상승시키고 혈액학을 호전시킨다고 보고하였는데, 이는 많은 개심술에서 지혈제로 사용하고 있는 aprotinin으로 또 다른 효과를 볼 수 있다는 점에서 관심을 끌고 있다. 그러나 그 작용 기전에 대해서는 아직 잘 알려지지 않았으므로 aprotinin의 폐혈관 저항 상승 완화효과를 알아보고 혈관 반

응 물질 중 가장 중요하다고 알려진 TxA_2 의 대사물질인 TxB_2 의 농도와 ET-1의 농도를 측정하여 그 두 물질과 aprotinin사이의 관계를 살펴보고자 한 것이 본 연구의 목적이었다.

본 실험은 최대한 임상과 동일한 조건을 갖추도록 노력하였다. 즉 심폐 바이패스 회로를 구성함에 있어서도 선천성 심질환 환자의 개심술에서 사용되는 것과 똑같은 방식으로 하였고 바이패스의 운용시간도 임상에서와 비슷한 120분으로 하였다. 바이패스를 운용하는 방식에 있어서도 항응고요법, 프로타민 중화법, 체온조절, 각종 카테터의 삽입 등을 모두 임상과 동일하게 적용하였으며 특히 산-염기 조절을 정확하게 하여 산증으로 인한 폐혈관 저항의 상승을 최소화하는데 주력하였다. 바이패스 후에는 3시간동안 실험동물을 관찰하면서 폐혈관 저항과 두 가지 혈관반응 물질의 농도를 측정하였는데 이는 폐혈관 저항 상승이 바이패스 후 24시간이상 지속되지만¹⁾ 임상적으로 문제가 되는 것이 수술 직후부터 3~6시간까지라는 것과, 동물실험이라는 면에서 장시간의 관찰이 힘들다는 점이 함께 고려되었다. 향후 임상실험을 수행한다면 더욱 장기간의 추적관찰이 가능할 것으로 생각된다.

Aprotinin의 용량은 50,000 KIU/kg로 투여하였는데 이는 저자가 임상적으로 흔히 사용되는 용량을 참조하여 임의 투여한 용량이며, 고용량이나 저용량이나 하는 절대적인 구분은 아니다. 이러한 용량의 구분은 기본적으로 aprotinin의 작용기전에서 kallikrein과 plasmin에 대한 친화력이 다르다는 점에서 출발하였는데²⁰⁾, 본 실험에서 사용한 용량은 Royston등이 처음 보고한 기준¹⁹⁾에 따르면 고용량이라고 할 수 있지만, aprotinin의 고용량, 저용량의 기준이 보고에 따라 다르며, 지혈작용을 기준으로 나눈 것이기 때문에 폐혈관 저항 상승의 완화효과에 직접 적용하기에는 문제가 있다.

TxA_2 의 농도를 측정하기 위해서는 상용화된 키트를 이용하여 효소면역측정법(EIA)으로 TxB_2 의 농도를 측정하였는데 이는 TxA_2 가 반감기가 30초에 불과한 매우 불안정한 물질이며 비효소적인 방법으로 빠르게 분해되어 보다 안정된 대사물질인 TxB_2 로 변환되기 때문이다²¹⁾. ET-1의 분석 역시 상용화된 키트를 사용하였는데 그 측정 방법은 TxB_2 의 경우와는 약간 다른 종류의 효소면역측정법(ELISA)이었다. 두 방법 모두에서 채취된 시료를 항응고제가 담긴 원심분리관에 넣어 냉장보관하였다가 실험이 끝난 후 원심분리하여 혈장을 분리해낸 후 영하 70도로 얼려 보관한 다음 6주 이내에 측정을 완료하였다. 이러한 방법은 TxB_2 의 농도가 동일 조건에서 8주 동안 변하지 않는다는 실험결과⁹⁾에 근거한 것이었다.

본 실험의 결과 심폐 바이패스후 폐혈관 저항은 상승하였으며 aprotinin은 폐혈관 저항 상승을 완화시키는 효과를 나타내었다. 혈중 TxB_2 의 농도는 바이패스후 증가하였으며

aprotinin의 투여로 그 증가의 정도가 완화되었다. 특히 좌심방에서의 농도는 두 군간에 의미있는 차이를 보였으며, 통계적 의미는 없었지만 대조군에서 존재하였던 좌심방과 폐동맥에서의 농도차이가 aprotinin의 투여로 완화되는 양상을 보였다. 그러나 ET-1의 농도는 바이패스 후 증가하기는 하였지만 aprotinin의 투여와는 관련이 없었다. 이러한 결과를 놓고 볼 때, 통계적 의미에 관하여 실험동물의 수가 작고 동물실험의 특성상 측정치의 오차가 심하다는 한계를 감안하고 폐혈관 저항을 상승시키는 요인이 TxB_2 나 ET-1뿐만이 아니라는 사실을 감안한다면 aprotinin이 폐혈관 저항 상승을 완화시키는 효과가 있으며 그 기전이 TxB_2 의 폐조직에서의 생성을 억제하는 것과 관련이 있을 것으로 생각된다.

비록 통계적 유의성은 없었지만 TxB_2 의 농도가 폐동맥에서보다 좌심방에서 더 높았던 것은 Shafique의 연구⁹⁾와 비슷한 결과이며 이는 TxA_2 분비의 폐조직 특이성을 나타내는 것이라고 할 수 있다. 즉 TxA_2 와 같은 prostaglandin은 염증반응의 중요한 매개체이며 조절물질로서 반감기가 매우 짧은 세포내 전달물질이므로 생성장소로부터 가까운 곳일수록 더욱 효과적인 역할을 하는데, TxA_2 가 폐혈관 저항 상승에 중요한 역할을 한다면 이것은 폐혈관에서 생성될 것이며 폐혈관에 대한 병태생리학적 변화에 의하여 생성이 촉진된다는 것이다. TxA_2 는 혈관평활근세포의 수축과 혈소판 응집을 유발하는 강력한 효과가 있으며²²⁾ 혈소판, 백혈구, 폐의 섬유아세포(fibroblast) 등에서 분비된다고 하나 심폐 바이패스후 폐혈관 저항 상승에 관여하는 TxA_2 는 대부분 폐조직에서 분비된다고 한다⁹⁾. 그러나 폐 조직내의 어떤 세포에서 주로 분비되는지는 아직 알려져 있지 않다. 폐혈관에 응집되거나 혈관외로 격리된(sequestered) 백혈구나 혈소판, 제 2형 폐포세포 등에서 분비될 것이라는 in vitro 실험결과^{23,24)}는 있지만 생체내에서의 분비장소에 관한 연구는 앞으로 더 진행되어야 할 것이다.

Endothelin은 혈관 내피세포로부터 생성되는 강력한 혈관 수축 작용을 가진 물질로 혈관 반응 물질 중에서는 비교적 최근에 발견되었다. 이는 21개의 아미노산으로 이루어진 단백질이며 이는 여러 가지 생물학적 기능을 갖는다고 한다²⁵⁾. Endothelin은 ET-1, ET-2, ET-3 의 세가지 이성체가 있으며 이중 ET-1이 심혈관계 특이성을 갖는다. 혈중 ET-1의 농도는 수술 스트레스, 일과성 심근 허혈, 폐포 저산소증, 저심박출증 등의 많은 요인들에 의해 상승될 수 있으나 그 기전은 아직까지 확실히 밝혀진 바 없다²⁶⁾. 심폐 바이패스는 활성화된 백혈구와 혈관 내피세포와의 상호작용에 의해 혈관 내피세포를 손상시키고 이것은 전신의 혈관에서 ET-1의 생성을 촉진시키며 폐에서의 배설을 둔화시켜 결과적으로 ET-1의 혈중 농도를 급격하게 상승시킨다. ET-1에 의해 활성화된 백혈구로부터 생성된 superoxide radical은 심폐 바이패스 후 지속

적인 혈관 내피세포의 손상기전에 관여한다고 알려져 있다.

폐동맥 고혈압 환자에서 ET-1의 혈중 농도가 높다는 사실로부터 ET-1이 폐혈관의 병태생리와 밀접한 연관이 있을 것이라는 것을 미루어 짐작할 수 있다²⁷⁾. 그러나 TxA₂와는 달리 ET-1은 폐조직 특이성은 적다고 알려져 있다⁹⁾.

Aprotinin은 비특이적 serine protease inhibitor로서 분자량은 6,000이며 소의 폐에서 분리된다. 1950년대에 급성 췌장염의 치료에 사용된 이후 출혈성 쇼크, 성인성 호흡부전 증후군, 다발성 외상 등의 임상 적용이 보고되어 왔으며, 심장외과 분야에서는 출혈억제제로서 1980년대 이후 광범위하게 사용되고 있다²⁸⁾. Aprotinin의 출혈 억제 기능은 1960년대부터 간헐적으로 보고되어 왔으나 여러 가지 이유로 임상적으로 입증하는 데에는 실패하였고, 1980년대에 개심술시 심폐바이패스에 의한 전신적 염증 상태(whole body inflammation)를 호전시킬 목적으로 투여하던 중 수술 시야에서의 출혈이 현저하게 적음을 우연히 발견하여 이후로는 출혈 억제제로서 개심술에서 사용되고 있다²⁹⁾. 이와 같이 aprotinin은 첫 임상적용 이후 항 염증제로 시작하여 출혈 억제제, 항 염증제 그리고 다시 출혈 억제제로 그 사용 목적이 변하여 왔다. 최근의 폐혈관저항 감소 효과에 대한 보고¹⁵⁾는 aprotinin의 항 염증제로서의 기능을 다시 부각시키는 것이라고 할 수 있다. 그러나 심폐 바이패스에 의한 전신 염증 반응은 매우 다양한 기전에 의해 이루어지며 aprotinin의 항 염증 효과도 극히 일부의 기전에만 작용할 것으로 예상되는 바, aprotinin을 항 염증 효과만을 기대하고 과량 투여하는 것은 바람직하지 않다³⁰⁾. 하지만 aprotinin은 이미 임상적으로 널리 쓰이며, 지혈 효과에 대해서는 이론의 여지가 없는 만큼 본 실험에서 시사된 바와 같이 항 염증 효과만 확실히 입증된다면 그 정확한 기전 규명 및 임상적용을 위한 적절한 용량 설정 등에 대한 추가적 실험들이 이루어지는 것도 가치 있는 일로 사료된다.

결 론

한국산 잡견에서 시행된 2시간의 심폐 바이패스 후에 폐혈관저항은 상승하였으며, 이러한 상승은 aprotinin 투여에 의해 완화되었다. Thromboxane B₂의 농도는 심폐 바이패스 후 상승하였으며 대조군의 경우 좌심방에서의 농도가 폐동맥보다 높았으나 aprotinin 투여군에서 농도 상승이 완화될 뿐 아니라 좌심방과 폐동맥에서의 농도차이가 줄어들었으므로 aprotinin이 폐에서의 thromboxane A₂생성을 억제함을 보여주었다. Endothelin-1 역시 심폐 바이패스 후 농도가 증가하였으나 aprotinin의 투여와 endothelin-1의 혈중 농도는 상관관계가 없었다.

이상의 결과를 종합해 보면 aprotinin의 투여로 심폐 바이

패스에 의한 전반적인 폐 손상을 감소시켜 폐혈관저항 상승을 완화시킬 수 있고, 폐에서의 thromboxane A₂생성의 억제를 이러한 효과의 여러 기전 중 하나로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1 Boyle EM, Pohlman TH, Johnson MC. *The systemic inflammatory response*. Ann Thorac Surg 1997;64:31-7.
- 2 Utley JR. *Pathophysiology of cardiopulmonary bypass: current issues*. J Card Surg 1990;5:177-89.
- 3 Downing SW, Edmunds HL Jr. *Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass*. Ann Thorac Surg 1992;54:1236-43.
- 4 Cave AC, Manche A, Derias NW, et al. *Thromboxane A₂ mediates pulmonary hypertension after cardiopulmonary bypass in the rabbit*. J Thorac Cardiovasc Surg 1993;106:959-67.
- 5 박형주, 이권, 황재준, 최영호, 김학제, 김형목. 개심술 환자에서 술전 및 술후의 폐동맥 고혈압 및 혈역학적 변수들과 ET-1치와의 관계에 관한 연구. 대흉외지 1992; 25:650-60.
- 6 Komai H, Adatia IT, Elliott MJ, de Leval MR, Haworth SG. *Increased plasma levels of endothelin-1 after cardiopulmonary bypass in patients with pulmonary hypertension and congenital heart disease*. J Thorac Cardiovasc Surg 1993;106:473-8.
- 7 Kirshbom PM, Tsui SS, DiBernardo LR, et al. *Blockage of endothelin-converting enzyme reduces pulmonary hypertension after cardiopulmonary bypass and circulatory arrest*. Surg 1995;118(2):440-4.
- 8 Kirshbom PM, Jacobs MT, Tsui SS, et al. *Effects of cardiopulmonary bypass and circulatory arrest on endothelium-dependent vasodilation in the lung*. J Thorac Cardiovasc Surg 1996;111:1248-56.
- 9 Shafique T, Sellke FW, Thurer RL, et al. *Cardiopulmonary bypass and pulmonary thromboxane generation*. Ann Thorac Surg 1993;55:724-8.
- 10 Friedman M, Wang SY, Sellke FW, et al. *Pulmonary injury after total or partial cardiopulmonary bypass with thromboxane synthesis inhibition*. Ann Thorac Surg 1995;59:598-603.
- 11 DeCampli WM, Goodwin D, Kosek JC, et al. *Pharmacological, hematological, and physiological effects of a new thromboxane synthetase inhibitor (CGS-13080) during cardiopulmonary bypass in dogs*. Ann Thorac Surg 1994;57:778-80.
- 12 Erez E, Erman A, Snir E, et al. *Thromboxane production in human lung during cardiopulmonary bypass: beneficial effect of aspirin?* Ann Thorac Surg 1998;65:101-6.
- 13 Mendeloff EN, Liang IY, Swain JA, et al. *Thromboxane A₂ receptor-specific antagonism in hypothermic cardiopulmonary bypass*. Ann Thorac Surg 1994;57:999-1006.

14. Smith WJ, Murphy MP, Appleyard RF, et al. *Prevention of complement-induced pulmonary hypertension and improvement of right ventricular function by selective thromboxane receptor antagonism.* J Thorac Cardiovasc Surg 1994;107:800-6
15. Tweddell JS, Berger S, Frommelt PC, Pelech AN, Lewis DA, Fedderly RT, et al. *Aprotinin improves outcome of single-ventricle palliation.* Ann Thorac Surg 1996;62:1329-36.
16. Whitten C, Laston T, Allison P. *Does aprotinin inhibit cardiopulmonary bypass-induced inflammation?* Anesthesiology 1992;77:266.
17. 김원곤, 박성식. 심폐바이패스시 활성응고시간을 이용한 헤파린 고정용량법. 대흉외지 1998;31:867-72.
18. 김정택, 신경, 이춘수, 등. Aprotinin을 투여한 개심술 환자에서 Kaolin과 Celite Activator를 이용한 Activated Coagulation Time(ACT) 측정의 비교. 대흉외지 1998;31:873-6.
19. Royston D, Bidstrup BP, Taylor KM, Sapsford RN. *Effect of aprotinin on need for blood transfusion after repeat open heart surgery.* Lancet 1987;2:1289-91.
20. Liu B, Tengborn L, Larson G. *Half-dose aprotinin preserve hemostatic function in patient undergoing bypass operations.* Ann Thorac Surg 1995;59:1534-40
21. Moncada S, Vane JR. *Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂ and prostacyclin.* Pharmacol. Rev. 1979;30:293-331.
22. Kobinia GS, LaRaia PJ, d'Ambra MN, et al. *Effect of experimental cardiopulmonary bypass on systemic and transcardiac thromboxane B₂ levels.* J Thorac Cardiovasc Surg 1986;91:852-7.
23. Bertran TA, Overy LH, Danilowicz R, Eling TE, Brody AR. *Pulmonary intravascular macrophages produce prostaglandins and leukotrienes in vitro.* Chest 1988;93 (Suppl):825-55.
24. Cott GR, Westcott JY, Voelkel NF. *Prostaglandin and leukotriene production by alveolar type II cells in vitro.* Am J Physiol 1990;258:2179-87.
25. Yanagisawa M, Kurihara H, Tomobe Y, et al. *Novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cell.* Nature 1988;332:411-5.
26. Naylor WG. *The endothelins.* Berlin: Springer-Verlag, 1990:1-188.
27. Yoshibayashi M, Nishioka K, Nakao K, et al. *Plasma endothelin concentrations in patients with pulmonary hypertension associated with congenital heart defects.* Circulation 1991;84:2280-5.
28. Westby S. *Aprotinin in perspective.* Ann Thorac Surg 1993;55:1033-41.
29. Royston D. *Serine protease inhibition prevents both cellular and humoral responses to cardiopulmonary bypass.* J Cardiovasc Pharmacol 1996;27:42-9.
30. Ali M, Becket J, Brannan J, Fleming J, Taylor KM. *The effect of high dose Aprotinin therapy on the systemic inflammatory response in a porcine model of cardiopulmonary bypass.* Perfusion 1996;11:278-80

=국문초록=

배경: 심폐 바이패스에 의한 폐혈관 저항 상승은 여러 가지 기전에 의해 발생하지만 그중 가장 중요한 역할을 하는 것은 혈관 반응 물질이라고 알려져 있다. 그 중에서도 강력한 폐혈관 수축을 유발하는 thromboxane A₂와 endothelin-1이 매우 중요하다고 하며, aprotinin의 투여로 폐혈관 저항 상승이 완화되었다는 최근의 연구결과는 개심술시 지혈제로 흔히 사용되는 aprotinin으로 또 다른 효과를 볼 수 있다는 점에서 관심의 대상이 되고 있다. 본 실험에서는 aprotinin의 폐혈관 저항 상승 완화효과와 그 작용기전을 알아보고자 실험동물에 간단한 심폐 바이패스 회로를 설치하여 가동하면서 폐혈관 저항을 측정하고, thromboxane A₂의 안정된 대사물질인 thromboxane B₂와 endothelin-1의 혈중농도를 측정하여 그 결과를 분석하였다. **대상 및 방법:** 실험동물은 20 kg전후의 한국산 잡견을 실험군과 대조군으로 나누어 각각 5마리씩 사용하였다. 실험군에서는 aprotinin을 심폐바이패스전 50,000 KIU/kg, 바이패스후 10,000 KIU/kg/hr로 투여하였고, 심폐기 충전액에 50,000 KIU/kg를 혼합하였다. 폐혈관 저항의 측정을 위하여 Swan-Ganz catheter를 삽입하고 cardiac output computer를 연결하고 심폐 바이패스를 시행하되 그 시간은 120분으로 하였으며, 바이패스 시작 전, 종료 직후, 90분, 180분 째 폐동맥과 좌심방으로부터 혈액샘플을 채취하여 혈관 반응 물질의 농도를 측정하였다. **결과:** 각 군의 바이패스 종료 직후, 1시간, 2시간, 3시간 후의 폐혈관 저항의 바이패스 전과의 비율은 대조군에서 1.28±0.20, 1.82±0.23, 1.90±0.19, 2.14±0.18, 실험군에서 1.58±0.18, 1.73±0.10, 1.66±0.10, 1.50±0.08로, 대조군에서는 시간 경과에 따라 점차 상승하는 반면 실험군에서는 바이패스 종료 후 1시간을 기점으로 점차 하강하는 양상을 보였다. 대조군과 실험군에서의 폐혈관 저항의 바이패스 전, 후 비율을 비교하면 바이패스 종료 3시간 후 통계적으로 유의한 차이가 있었다(p=0.014). 바이패스 시작 전, 종료직후, 90분, 180분 째 thromboxane B₂의 폐동맥 내 혈중 농도(pg/ml)는 각 시간대별로 대조군에서 346.4±61.9, 529.3±197.6, 578.3±255.8, 493.3±171.3, 실험군에서 323.8±118.0, 422.6±75.6, 412.3±59.9, 394.5±154.0였으며 좌심방 내 혈중 농도는 339.3±89.2, 667.0±65.7, 731.2±192.7, 607.5±165.9, 실험군에서 330.0±111.2, 468.4±190.3, 425.4±193.6, 407.3±142.8로써 실험군에서 그 증가의 정도가 둔화되는 양상을 보였으며 또한 대조군에서 존재한 좌심방과 폐동맥간의 농도차이가 실험군에서 거의 없어짐으로써 aprotinin의 투여로 폐에서의 thromboxane A₂ 생성이 억제됨을 나타내었다. Endothelin-1의 폐동맥내 혈중농도(finol/ml)는 각 시간대별로 대조군에서 7.84±0.31, 13.2±0.51, 15.0±1.22, 16.3±1.73, 실험군에서 7.76±0.12, 15.3±0.71, 22.6±6.62, 14.9±1.11이었으며 좌심방내 혈중 농도는 대조군에서 7.61±17.2, 57.1±28.4, 18.9±18.2, 31.5±20.5, 실험군에서 5.61±7.16, 37.0±26.2, 28.6±21.7, 37.8±30.6으로써 양 군간에 큰 차이가 없거나 실험군에서 오히려 더 높은 농도를 보였다. **결론:** 심폐 바이패스에 의한 폐혈관 저항의 상승은 aprotinin의 투여로 완화되며, aprotinin의 항 염증 작용으로 혈관 반응 물질 중 하나인 thromboxane A₂의 폐에서의 생성을 억제하는 것이 이러한 효과의 여러 기전 중 하나로 생각된다. Aprotinin의 투여와 심폐 바이패스후 endothelin-1의 혈중 농도는 무관하였다.

중심단어: aprotinin, 폐 혈관 저항, 심폐 바이패스, thromboxane, endothelin