

# 초저체온하 완전순환정지 시에 이용되는 역행성 뇌관류의 시간에 따른 뇌대사 지표, 혈청 내 neuron-specific enolase, 및 S-100 베타단백의 변화

김 경 환

= Abstract =

## The Changes of Cerebral Metabolic Parameters, Serum Levels of Neuron-Specific Enolase and S-100 $\beta$ Protein During Retrograde Cerebral Perfusion Under Profound Hypothermic Total Circulatory Arrest

Kyung Hwan Kim, M.D.

**Background:** Retrograde cerebral perfusion(RCP) is one of the methods used for brain protection during aortic arch surgery. The author previously published the data, however, for the safety of it, there still remains many controversies. The author performed RCP and checked various parameters to clarify the possibility of early detection of cerebral injury. **Material and Method:** The author used pigs(Landrace species) weighing 25 to 30 kg and performed RCP for 120 minutes. After weaning of cardiopulmonary bypass, we observed pigs for another 120 minutes. Rectal temperature, jugular venous oxygen saturation, central venous pressure were continuously monitored, and the hemodynamic values, histological changes, and serum levels of neuron-specific enolase(NSE) and S100  $\beta$  protein were checked. Central venous pressure during RCP was maintained in the range of 20 to 25 mmHg. **Result:** Flow rates(ml/min) during RCP were  $224.3 \pm 87.5(20\text{min})$ ,  $227.1 \pm 111.0(40\text{min})$ ,  $221.4 \pm 119.5(60\text{min})$ ,  $230.0 \pm 136.5(80\text{min})$ ,  $234.3 \pm 146.1(100\text{min})$ , and  $184.3 \pm 50.0(120\text{min})$ . Serum levels of NSE did not increase after retrograde cerebral perfusion. Serum levels of S100  $\beta$  protein(ng/ml) were  $0.12 \pm 0.07(\text{induction of anesthesia})$ ,  $0.12 \pm 0.07(\text{soon after CPB})$ ,  $0.19 \pm 0.12(20\text{min after CPB})$ ,  $0.25 \pm 0.06(\text{RCP } 20\text{min})$ ,  $0.29 \pm 0.08(\text{RCP } 40\text{min})$ ,  $0.41 \pm 0.05(\text{RCP } 60\text{min})$ ,  $0.49 \pm 0.03(\text{RCP } 80\text{min})$ ,  $0.51 \pm 0.10(\text{RCP } 100 \text{ min})$ ,  $0.46 \pm 0.11(\text{RCP } 120\text{min})$ ,  $0.52 \pm 0.15(30\text{min after rewarming})$ ,  $0.62 \pm 0.15(60\text{min after rewarming})$ ,  $0.76 \pm 0.17(\text{CPBoff } 30\text{min})$ ,  $0.81 \pm 0.20(\text{CPBoff } 60\text{min})$ ,  $0.84 \pm 0.23(\text{CPBoff } 90\text{min})$  and  $0.94 \pm 0.33(\text{CPBoff } 120\text{min})$ . The levels of S100  $\beta$  after RCP were significantly higher than those before RCP( $p < 0.05$ ).

흉부외과, 서울대학교 의과대학 흉부외과학교실

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

† 이 논문은 1999년도 한국학술진흥재단의 연구비에 의하여 연구되었음.(KRF-99-003-F00225)

‡ This work was supported by Korea Research Foundation Grant.(KRF-99-003-F00225)

논문접수일 : 2001년 6월 28일 심사통과일 : 2001년 8월 2일

책임저자 : 김경환(110-799) 서울시 종로구 연건동 28, 서울대학교 병원 흉부외과. (Tel) 02-760-3971, (Fax) 02-764-3664

E-mail: kkh726@snu.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

The author could observe the mitochondrial swellings using transmission electron microscopy in neocortex, basal ganglia and hippocampus(CA1 region). **Conclusion:** The author observed the increase of serum S100 $\beta$  after 120 minutes of RCP. The correlation between its level and brain injury is still unclear. The results should be reevaluated with longterm survival model also considering the confounding factors like cardiopulmonary bypass.

(Korean Thorac Cardiovasc Surg 2001;34:653-61)

**Key words :** 1. Cerebral perfusion  
2. Perfusion, retrograde  
3. Organ protection  
4. Protein, S100 $\beta$

## 서 론

대동맥궁 수술 시 이용되는 초저체온하 완전순환정지법은 뇌보호를 위해 필수적인 방법으로 알려져 있다. 뇌보호 기간의 안전한 연장을 위하여 전향성 관류법, 상공정맥을 통한 역행성 관류법 등이 실제 임상에서 많이 시행되고 있고, 이중 역행성 뇌관류법은 전색증의 발생이 적고 시행이 간편하며 뇌조직 내 독성 물질을 제거할 수 있다는 장점이 있다고 알려져 있다<sup>1)</sup>. 뇌보호법의 안전성 파악에 가장 중요한 뇌손상의 조기 발견 방법에 대하여는 아직 확립된 바는 없으나, 저자<sup>2)</sup> 등은 이미 90분, 120분간 각각 역행성 뇌관류를 시행하여 이의 안전성에 대한 연구 결과를 제시한바 있다. 이중 120분간 관류군은 뇌조직 손상을 시사하는 소견을 얻기는 하였으나 뇌손상의 조기 지표로 알려진 표지자와의 연관성을 설명하기에는 부족함이 있었다. 이에 이번 연구에서는 120분간 역행성 뇌관류를 시행한 후 조기 뇌손상과 관련이 있다고 알려진<sup>3,4)</sup> neuron-specific enolase(이하 NSE로 약칭함)와 S-100 베타 단백질의 혈청 수치의 변화를 관찰함으로써 뇌손상의 조기 발견 가능성에 대하여 알아보려 한다. 또한 이전 연구와 달리 심폐기를 이탈하고 좀더 생존 시간을 연장하여 2시간 동안을 관찰하여 상기 표지자들의 변화를 관찰하고자 하였다. NSE는 protein enolase의  $\gamma, \gamma$ -dimer이고 분자량이 8만 dalton 정도인 glycolytic pathway의 용해성 효소이며, 정상적으로는 신경 세포질, 수지상 돌기, APUD(amine precursor uptake and dehydrogenation) 세포내에 특이적으로 존재하며 신경학적 손상을 조기에 발견하는 목적이외에도 신경 아세포종, 폐의 소세포암 등의 진단 및 예후를 판정하는 중요한 지표로 이용되어 왔다<sup>3)</sup>. S-100 베타 단백질은 주로 뇌의 회백질내 성상세포와 Schwann 세포에 존재하는 세포질 내 산성 칼슘 결합 단백질이다. 이 단백질은 멜라닌세포, 지방세포, 연골세포, 상피 Langerhans 세포 등에서도 발견되고 신경교종(glioma), schwannoma, 고분화된 신경아세포종 등에서도 종종

발견된다. 이것은 몇 개의 homodimeric isoform으로 존재할 수도 있고 알파(분자량=10,400Da)와 베타(분자량=10,500Da)로 구성되며 면역학적으로 확연히 구분되는 heterodimeric isoform 형태로 존재하기도 한다. Isoform 형태인 S-100 베타는 분자량이 21000 달톤으로 이루어진 homodimer  $\beta\beta$  형태이며, glial cell과 schwann cell에 고농도로 존재한다. 또 다른 isoform 형태인 S-100 알파는 heterodimer  $\alpha\beta$  형태로 주로 glial cell에 존재한다. 반면 또 다른 S-100 알파는 homodimer  $\alpha\alpha$ 로 심장, 콩팥 등에서 주로 발견된다. S100 베타 단백질 수술 후에 혈청에서 0.5 내지 1.3  $\mu\text{g/L}$  이상 검출되는 경우 정도의 신경학적 손상과 관련이 있다고 알려져 있다<sup>4,5)</sup>. 역행성 뇌관류 후 상기 표지자들의 뇌조직 소견 관찰을 통하여 뇌조직 손상에 대한 관련성을 파악하고자함이 연구의 목적이다.

## 대상 및 방법

### 1. 실험동물

25~30 kg 가량의 돼지(Landrace species) 7마리를 암수 구별 없이 이용하였다. 초저체온하 완전순환정지를 시행하고, 120분간 역행성 뇌관류를 시행하고 심폐기 이탈을 마친후 120분간 관찰하면서 각 시간 대 별로 제반 지표들을 관찰한다. 실험동물로 돼지를 선택한 이유는 저자 등의 이전 연구에서와 마찬가지로 흉부외과 영역의 동물실험에서 많이 이용되고 있는 황견의 경우 뇌실질의 정맥 환류가 판막이 많은 외경정맥을 통하여 이루어지며, 내경정맥(internal jugular vein)이 내경이 매우 작고 판막들이 많아 역행성 뇌관류법의 시행이 기술적으로 어렵기 때문이다. 돼지의 경우는 경정맥에 판막이 없는 경우가 대부분이고 있더라도 불완전한 형태를 취하고 있으며 인간과 해부학적으로 유사성을 많이 띄고 있어 실험결과의 임상적용에 더 적합하다고 판단되었다.

## 2. 완전순환정지 및 역행성 뇌관류의 시행

마취 전 처치로 아트로핀(0.03 mg/kg)을 투여하고, xylazine (2.2 mg/kg), ketamine hydrochloride(20 mg/kg, IM)을 근주하였다. 폐지를 체표면 냉각이 가능한 blanketrol이 깔려있는 수술대에 옮기고 양와위를 유지하였다. 심전도 전극을 붙이고 심박수를 감시하며, 기관절개술을 시행하여 내경 7.5 내지 8.0 mm의 기관 내 튜브를 삽관 후 인공호흡기를 유지하였다. 이때  $FiO_2$ 는 0.6으로  $PaCO_2$ 는 35-40 mmHg로 유지하고, 마취유지는 isoflurane(1~2%) 및 ketamine hydrochloride(2 mg/kg/hr)를, 그리고 필요에 따라 소량의 vecuronium bromide(0.2 mg/kg)를 이용하였다. 치골 상부 절개를 통한 방광 삽관술을 시행하여 요관을 삽입하고 시간당 요량을 감시하였다. 서혜부 절개를 통하여 고동맥에 동맥혈압감시 카테타를 삽입하였고, 경정맥에 중심정맥압 측정과 수액 주입이 가능한 카테타를 삽입하였으며, 정맥주입 용액은 생리 식염수를 이용하였다. 비인두 체온 측정과 직장 체온을 측정하기 위하여 체온 탐침(probe)을 삽입하였다. 정중 흉골 절개술 시행 후 심폐 바이패스가 가능하도록 심낭 절개까지 한 후에 헤파린(300 IU/kg)을 정주한 후 동맥캐놀라는 상행대동맥, 정맥캐놀라는 상공정맥과 하공정맥에 위치시켰다. 인공심폐기는 Stockert-Shiley 인공심폐기를 이용하였다. 기포형 산화기를 이용하였으며, 충전액은 하트만액 450 cc, 전혈 150 cc를 혼합하여 600 cc정도로 하였다. 정맥 캐놀라를 동맥캐놀라와 Y자형으로 연결하여 완전순환정지 중 동맥혈을 이용한 역행성 뇌관류를 할 수 있도록 하였다. 하공정맥 캐놀라를 Y자형으로 연결하여 역행성 뇌관류시 하공정맥으로 환류되는 혈액을 저혈조에 모을 수 있도록 하였다. 심폐기 가동 후 완전순환정지 시 뇌혈류 조절은  $\alpha$ -stat를 채택하였다. 심폐기 가동 시 유속은 10001100 ml/min로 하였으며, 직장 체온을 18°C까지 낮추었다. 심폐기 가동 중 동맥혈가스분석을 수시로 시행하였으며, 조직 산증 유무를 체크하여 필요시 교정하였고, 술중 헤마토크릿은 15~18%를 유지하였다. 상공정맥 주위를 박리하여 캐놀라를 조일 준비를 하였고, 저체온하의 완전순환정지 직전에 스테로이드(methylprednisolone 2 mg/kg), thiopental sodium(5 mg/kg)을 정주하였고, 머리 주위에 얼음주머니를 놓아 국소적 저체온을 유지하였다. 심근보호는 정질성 냉온 심정지액을 사용하였으며 대동맥 근부 캐놀라를 통하여 30분마다 주입하였다. 심폐기 가동 후 비인두 체온을 15°C, 직장 체온을 18°C 정도까지 낮추었다. 역행성 뇌관류 시행 직전 내경정맥 산소 포화도를 측정하여 95% 이상이 되는 것을 확인한 후 역행성 뇌관류를 시행하였다. 완전 순환정지가 준비되었으면 심폐기 혈류를 분당 100 cc정도로 하고 상공정맥 삽관을 조인다. 머리를 낮추고 완전순환정지를 시

작하였고, 상공정맥 카테타를 경정맥 분지 직전의 상공정맥에 위치시켰다. 상지에 압박대를 거치하여 역행성 뇌관류시 상지의 관류액 유입을 막았으며, 뇌관류를 연속적으로 시행하였고 혈류는상공정맥 압력이 20~25 mmHg 정도로 유지되도록 하였다. 관류액의 온도는 10°C 전후로 하였다. 대동맥 근부 삽입한 카테타를 통하여 역행성 관류 후 동맥으로 유출되는 혈액을 채취하였다. 2시간 동안 완전순환정지 및 역행성 뇌관류를 시행하였다. 이때 대동맥 근부 캐놀라에 음압을 걸어 대동맥궁으로 유출되는 혈액을 채취하였다. 마취 직후, 심폐기 가동 직후 및 20분 후 동맥혈을 채취하였으며, 2시간 완전순환정지 동안 20분 간격으로 혈액을 채취하였다. 역행성 뇌관류를 중지하고 심폐기를 재 가동하면서 체온을 올렸고, 재 가동 직전 만니톨(50 mg/kg)을 정주하였다. 심폐기 이탈을 시도하고 정상 심기능 회복 후 약 2시간 후에 폐지를 안락사시켜 뇌조직을 적출하여 글루타르알데히드 고정액에 7일간 보존하였다.

## 3. 측정된 주요지표

시간 및 체온 변화에 따른 동맥 혈압, 경정맥압, 혈액 가스 분석, 혈청 내 neuron-specific enolase 및 S100 베타 단백치를 측정하여 시간 대 별 변화를 분석하였다. 전자 현미경을 이용하여 뇌조직 소견을 관찰하였다. 혈액학적 지표, 혈액 가스분석, neuron-specific enolase 및 S100 베타 단백질 측정 시간은 마취유도 후, 심폐바이패스 직후 및 20분후, 역행성 뇌관류 시행 후 20, 40, 60, 80, 100, 120분, 심폐바이패스 재가동 후 30분, 60분, 심폐기 이탈 후 30분, 60분, 90분, 120분으로 하였다.

다음은 neuron-specific enolase 와 S-100 베타 단백질 측정의 구체적 방법을 기술한 것이다.

### (1) 혈중 NSE 측정

연구 대상군의 시간대 별 채취 혈액 3ml 를 plain tube에 채취하였다. 채취 후 20-30분간 실온에 방치하고 2500 rpm에서 10분간 원침하여 상층 혈청을 얻은 후 검사 전까지 -20°C에 보관하고 NSE 측정은 CanAg NSE EIA kit(CanAg Diagnostics, Sweden)를 이용하였다. streptavidin이 도포된 microtiter plate에 표준물질 및 대조물질과 혈청 25  $\mu$ L를 분주하고, biotin이 부착된 항 NSE 항체(anti-NSE MAb E21)과 peroxidase가 붙은 항 NSE 항체(anti-NSE MAb E17) 100  $\mu$ L를 분주하여 300 rpm shaker위에 올려놓은 후 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. kit에 포함된 세척액으로 6회 세척을 시행하고 tetra methylbenzidine(TMB) 기질용액을 100  $\mu$ L 씩 분주한 후 실온의 300 rpm shaker 위에서 30분간 반응 시킨 후, 반응정지액

Table 1. Arterial blood gas analysis

	Induction	CPB start	CPB 20min	Re30min	CPBoff30min
pH	7.46 ± 0.07	7.35 ± 0.10	7.37 ± 0.03	7.49 ± 0.15	7.39 ± 0.02
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	263.7 ± 114.8	286.9 ± 69.7	262.3 ± 62.1	352.0 ± 110.1	265.7 ± 114.2
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	35.5 ± 8.1	46.8 ± 7.4	44.8 ± 3.0	32.2 ± 10.8	37.6 ± 6.4
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mEq/L)	23.9 ± 1.2	25.3 ± 3.2	27.2 ± 4.1	23.2 ± 3.7	22.6 ± 3.1
Total CO <sub>2</sub>	53.2 ± 6.0	49.7 ± 11.3	49.8 ± 19.3	52.1 ± 9.9	47.0 ± 1.9
Hgb(g/dl)	9.1 ± 0.7	7.8 ± 1.0	7.8 ± 1.0	7.3 ± 1.0	7.6 ± 0.8

CPB, cardiopulmonary bypass; Re, restart of CPB; min, minute; Hgb, hemoglobin

100 μL를 각 well에 넣고 peroxidase의 발색 정도를 405 nm에서 분광광도계로 측정하였으며, 농도를 알고있는 6가지의 표준물질의 흡광도로 표준곡선을 구하여 각 검체의 NSE 농도를 산출하였다. 모든 검체는 정확성을 위하여 중복 측정하였고 평균값을 최종 농도로 하였다. 시간별 NSE 농도의 차이를 구하였고, 역행성 뇌관류 시행 전, 시행 중, 시행 후의 시간에 따른 혈중 NSE 농도 변화의 추이를 알아보았다.

## (2) 혈중 S100 베타 단백 측정

혈청에서 S-100을 측정하기 위해 sandwich ELISA technique을 이용하였다. murine monoclonal anti S-100이 모든 S-100 β (solid phase)에 결합하는 성질을 이용하였으며, 희석된 인혈청을 well에 첨가하고 배양하였다. 배양 후에 세척과정을 거치고 detector Ab인 polyclonal rabbit anti S-100을 더하면 이 Ab는 S-100Ab와 결합한 S-100에 다시 결합하고 sandwich모양을 형성하게 된다. 다시 배양 후 세척하고 polyclonal goat anti-rabbit IgG labeled horseradish peroxidase(HRP)를 well에 첨가하고 배양, 세척을 거치고 enzyme substrates를 well에 첨가하였다. HRP의 Enzyme activity는 450nm에서 측정할 수 있었다. 450 nm의 흡광도를 S-100 베타 단백질의 농도로 하며, 표준 S-100의 흡광도를 먼저 측정하여 환자의 S-100 베타단백의 농도를 계산할 수 있었다.

## 4. 통계학적 처리

모든 수치는 평균과 표준편차로 나타내었으며 유의성의 검정은 SPSS(version 8.0) 통계 패키지를 이용하여 시행하였다. 시간대별 비교를 위해 시간대별 변화에 대한 차를 구하여 ANOVA test를 시행하였고 사후 검정을 위해 Bonferroni test, Scheffe test, Duncan test, Tufey test 등을 사용하였다. 유의성의 검정은 유의수준 0.05이하를 의미있는 것으로 하였다.

temperature

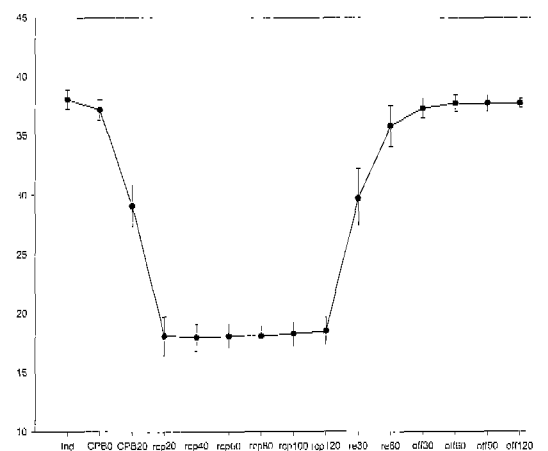


Fig. 1. Profiles of rectal temperatures

## 결 과

### 1. 동맥혈 가스분석(Table 1)

마취 유도 시점부터 실험의 마지막 단계까지의 시간대 중 마취유도직후, 심폐기 가동직후, 심폐기 가동 후 20분대, 역행성 뇌관류를 마치고 심폐기를 재가동한 후 30분대, 심폐기 이탈 후 30분대에 동맥혈 가스분석을 시행하였다. 대사성 산증 소견을 보이지 않고 비교적 일정하게 혈중 pH가 유지되었으며 산소분압, 이산화탄소 분압 등도 일정하게 유지되었다. 혈중 헤모글로빈치는 마취유도시에 9 g/dl 전후를 유지하였고 심폐기 이탈 후에는 약간 감소하여 8 g/dl 전후를 유지하였다. 산소포화도는 1±00%를 유지하였으며 총이산화탄소 분압은 심폐기 이탈 후 유의하게 증가하는 양상을 보이지 않았다.

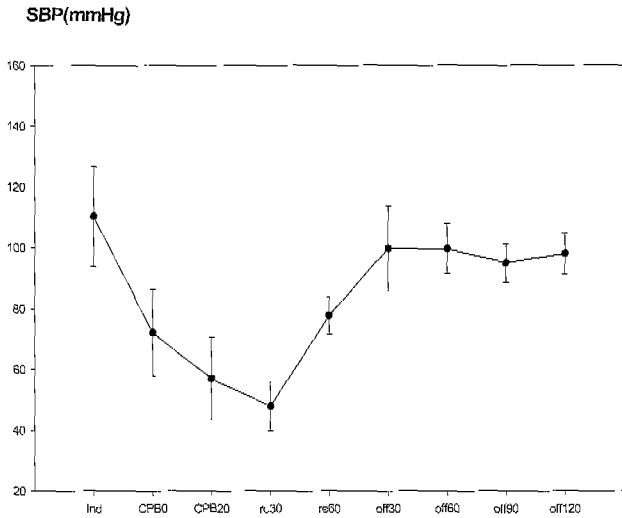


Fig. 2. Profiles of systolic blood pressure

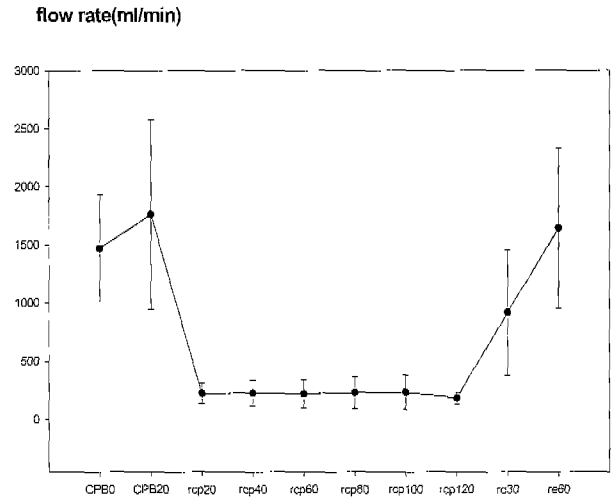


Fig. 4. Flow rates during cardiopulmonary bypass and retrograde cerebral perfusion

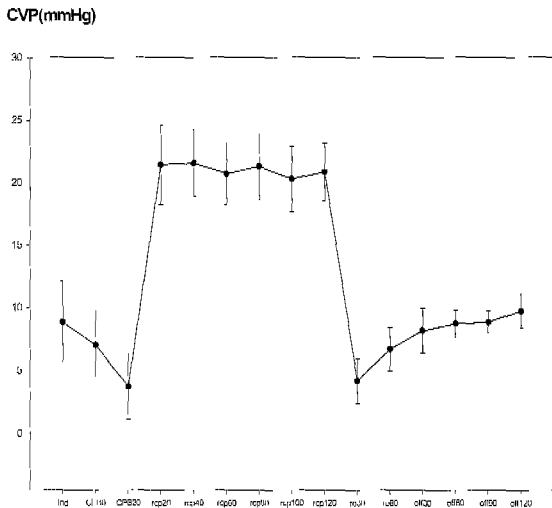


Fig. 3. Changes of central venous pressures

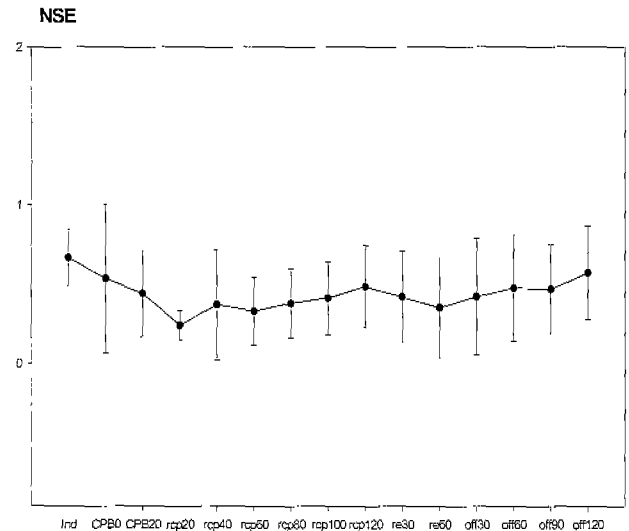


Fig. 5. Changes of neuron-specific enolase(µg/L)

## 2. 체온 및 혈류역학 지표▽

직장체온의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 역행성 뇌관류 기간 중 직장 체온은 20분대에  $18.1 \pm 1.6^{\circ}\text{C}$ , 40분대에  $17.9 \pm 1.1^{\circ}\text{C}$ , 60분대에  $18.1 \pm 0.9^{\circ}\text{C}$ , 80분대에  $18.1 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$ , 100분대에  $18.3 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ , 120분대에  $18.5 \pm 1.2^{\circ}\text{C}$  로 유지되었고 시간대별로 체온의 유의한 변화는 없었다(ANOVA,  $p > 0.05$ ). 역행성 뇌관류 기간을 제외한 전 기간에 걸쳐 수축기 혈압(mmHg)을 측정하였으며(Fig. 2), 중심정맥압(mmHg)은 역행성 뇌관류 중 20분대에  $21.4 \pm 3.2$ , 40분대에  $21.5 \pm 2.7$ , 60분대

에  $20.7 \pm 2.4$ , 80분대에  $21.3 \pm 2.6$ , 100분대에  $20.3 \pm 2.6$ , 120분대에  $20.9 \pm 2.3$ 으로 유지되었고 이 또한 시간대별로 유의한 변화는 없었다(Fig. 3). 심폐기 가동 중 관류 속도(ml/min)는 심폐기 가동 직후에  $1468.6 \pm 458.5$ , 20분대에  $1760.0 \pm 814.3$ , 심폐기 재가동 후 30분대에  $915.7 \pm 538.7$ , 60분대에  $1638.6 \pm 689.7$  로 나타났으며, 역행성 뇌관류 기간 중의 관류 속도(ml/min)는 20분대에  $224.3 \pm 87.5$ , 40분대에  $227.1 \pm 111.0$ , 60분대에  $221.4 \pm 119.5$ , 80분대에  $230.0 \pm 136.5$ , 100분대에  $234.3 \pm 146.1$ , 120분대에  $184.3 \pm 50.0$ 으로 유지되었다(Fig. 4).

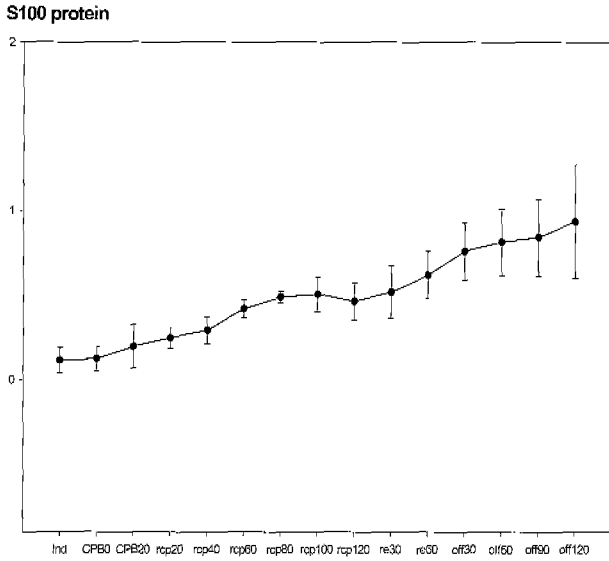


Fig. 6. Changes of serum S-100 β level(µg/L)

3. neuron-specific enolase(Fig. 5)

neuron-specific enolase의 혈청 농도(ng/ml)는 마취 유도 시 0.67 ± 0.18, 심폐기 가동 직후에 0.53 ± 0.47, 심폐기 가동 후 20분대에 0.44 ± 0.27, 역행성 뇌관류 20분대에 0.24 ± 0.09, 40분대에 0.37 ± 0.35, 60분대에 0.33 ± 0.21, 80분대에 0.37 ± 0.22, 100분대에 0.41 ± 0.23, 120분대에 0.48 ± 0.26, 심폐기 재가동

후 30분대에 0.42 ± 0.29, 60분대에 0.35 ± 0.32, 심폐기 이탈 후 30분대에 0.42 ± 0.37, 60분대에 0.47 ± 0.34, 90분대에 0.47 ± 0.28, 120분대에 0.57 ± 0.29 로 나타나 역행성 뇌관류 전후에 유의한 변화 양상을 관찰할 수 없었다(ANOVA, p>0.05). 또한, 역행성 뇌관류 기간 중에도 시간 경과에 따라 유의한 변화를 관찰할 수 없었다(ANOVA, p>0.05).

4. S100 베타 단백(Fig. 6)

S-100 베타 단백질의 혈청 농도(ng/ml)는 마취 유도시 0.12 ± 0.07, 심폐기 가동 직후에 0.12 ± 0.07, 심폐기 가동 후 20분대에 0.19 ± 0.12, 역행성 뇌관류 20분대에 0.25 ± 0.06, 40분대에 0.29 ± 0.08, 60분대에 0.41 ± 0.05, 80분대에 0.49 ± 0.03, 100분대에 0.51 ± 0.10, 120분대에 0.46 ± 0.11, 심폐기 재가동 후 30분대에 0.52 ± 0.15, 60분대에 0.62 ± 0.15, 심폐기 이탈후 30분대에 0.76 ± 0.17, 60분대에 0.81 ± 0.20, 90분대에 0.84 ± 0.23, 120분대에 0.94 ± 0.33 으로 나타났다. 마취유도 시, 심폐기 가동 시, 심폐기 가동 20분대의 S-100 베타 단백질 수치와 역행성 뇌관류 후의 S-100 베타 단백질 수치를 비교해본 결과 120분간 역행성 뇌관류를 시행한 이후 모든 시간대에서 S-100 베타 단백질 수치가 뇌관류 시행이전에 비해 통계적으로 유의하게 상승하였음을 관찰할 수 있었다(ANOVA, p<0.05, post hoc Bonferroni, Tukey test). 즉, neuron-specific enolase와 달리 역행성 뇌관류 이후에 유의하게 증가하는 소견이었다. 시간

Table 2. Post hoc test results of S-100 β level during study period

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1							*	*	*	*	*	*	*	*	*
2							*	*	*	*	*	*	*	*	*
3											*	*	*	*	*
4											*	*	*	*	*
5												*	*	*	*
6												*	*	*	*
7	*	*												*	*
8	*	*												*	*
9	*	*											*	*	*
10	*	*													*
11	*	*	*	*											
12	*	*	*	*	*	*									
13	*	*	*	*	*	*					*				
14	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*					
15	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*				

1, induction; 2, start of CPB; 3, 20 minutes after CPB; 4-9, 20, 40, 60, 80, 100, 120 minutes of retrograde cerebral perfusion; 10, 11, 30 and 60 minutes of restart of CPB; 12-15, 30, 60, 90, 120 minutes after CPB off.



Fig. 7. Transmission electron microscopic findings of basal ganglia(A), cerebral neocortex(B) and hippocampal CA1 region(C). Mitochondrial swelling were seen in A, B, C and were more prominent in A.

대별 변화를 좀 더 구체적으로 살펴보면 마취유도 직후의 혈청 농도와 비교하여 역행성 뇌관류 80, 100, 120분대 및 그 이후의 시간대에서 유의하게 증가한 소견을 보였으며 (ANOVA,  $p < 0.05$ , post hoc Bonferroni, Tukey test), 역행성 뇌관류 기간 중에는 시간대별로 유의한 변화를 관찰할 수 없었다(ANOVA,  $p > 0.05$ ). 사후 검정 결과를 Table 2. 에 나타내었다.

#### 4. 뇌조직의 전자현미경 소견(Fig. 7)

신피질, 해마, 기저핵에서 투과 전자 현미경 소견을 관찰하였다. 기저핵에서 비교적 심한 마이토콘드리아의 부종이 관찰되었고 핵은 비교적 잘 유지되어 있었다. 마이토콘드리아의 부종은 해마, 신피질에 비해 기저핵에서 가장 심한 소견을 보였다. 세 곳 모두에서 마이토콘드리아의 부종이 관찰되었으며 마이토콘드리아의 cisternae 부위가 일부 유지되어 있는 소견으로 미루어 비가역적인 뇌손상을 시사하는 소견은 없다고 판독되었다. 이 소견은 저자 등이 시행한 이전의 연구 결과와 유사한 양상을 보였다.

### 고 찰

대동맥궁 수술시의 뇌보호를 위한 관류법은 전향성 관류법과 역행성 관류법이 대표적이며 이 중 전향성 관류법은 해부, 생리학적으로 이상적인 방법으로 생각되고 있고 대동맥궁에 발생한 대동맥류나 대동맥 박리 등에서 널리 이용되고 있으나 시행 시 별도의 삽관이 필요하고 수술 후 색전증의 발생이 증가할 가능성이 있는 것이 단점으로 알려져 있다<sup>9)</sup>. 역행성 뇌관류는 별도의 삽관이 필요 없고 여러 가지 독성 물질을 제거할 수 있는 장점 등으로 인해 이용되고 있으나<sup>1)</sup> 비교적 오랜 기간 동안의 역행성 뇌관류가 과연 안전할 것인가에 대하여는 아직 결론짓기 어려운 상황이다. 저자<sup>2)</sup> 등이 이전의 연구에서 밝힌 바와 같이 역행성 뇌관류의 안전성을 파악하는데 각종 효소의 변화 및 뇌조직 소견을 관찰하였는바, 광학 현미경 소견보다는 전자현미경 소견이 뇌조직의 조기 손상을 판단하는데 더 유용하다는 결론을 얻었으며, 조기 뇌손상의 가능성을 타진하기 위하여 관찰한 neuron-specific enolase, LDH, 조직 소견 등은 120분 뇌관류군, 90분 뇌관류군 모두에서 뚜렷한 비가역적 뇌손상의 증거를 발견할 수 없었으며, 관류기간 중 두 효소가 두 군에서 모두 증가하는 양상을 보임을 알 수 있었고( $p < 0.05$ ), 이러한 양상은 심폐기 재가동 후 모두 정상화되었으며 이러한 소견과 광학 및 전자 현미경 소견과는 비교적 잘 일치된다는 결론을 얻었다. 하지만 아직도 그 결과의 올바른 해석에는 많은 시각차이가 있으며 개선된 결과들이 과연 역행성 뇌관류 자

체만의 원인인지는 아직 불분명한 상태이다. 이의 보다 올바른 해석을 위하여 120분간 역행성 뇌관류를 시행하여 혈청 S-100 베타 단백질의 변화 양상을 관찰하고 neuron-specific enolase와 뇌조직 소견과의 연관을 관찰하였다.

혈청 S-100 베타 단백질은 역행성 뇌관류 후 및 심폐기 이탈 후에서 마취유도시와 심폐기 가동 시작 시점보다 유의하게 증가하는 양상을 보였는데 이것이 뇌손상을 시사하는 소견 인지에는 아직 이견이 많다. 급성 뇌경색이 발생한 경우에는 조기에 뇌손상을 시사하는 표지자로 알려져 있으며 대개 3 일 이후 최고치에 달하며, 심폐바이패스를 시행한 경우는 제 관류 직후에 최고치 달하는 것으로 알려져 있다<sup>4,5</sup>. S-100 베타 단백질의 변화 양상과 뇌조직 손상의 관련 여부에 대하여는 아직 뚜렷하게 결론이 나지 않은 부분인데, Hammond<sup>7</sup> 등은 S-100 베타 단백질이 급성 뇌손상 후 뇌척수액내에서 검출되며 이를 급성 뇌손상의 조기 표지자로 이용할 수 있을 것이라는 주장을 한 반면, van Engelen<sup>8</sup> 등은 뇌척수액내의 S-100 베타 단백질의 농도가 연령이 증가할수록 매년 1%씩 증가하며 이를 뇌손상의 지표로 삼을 경우 뇌손상의 조기 진단을 언급하는 데 문제가 발생할 수 있으므로 연령과 질환을 함께 신중히 고려해야 할 것이라고 언급하였다. Blomquist<sup>9</sup> 등은 완전순환정지를 시행한 경우 S-100 베타 단백질이 2.5 내지 6.0  $\mu\text{g/L}$ 로 상승한다고 보고하였으며 이는 심폐기 가동을 마친 후 6시간 내지 12시간 내에 정상화된다고 언급하면서 S-100 베타 단백질과 뇌손상의 연관 관계를 설명하는데 고려해야 할 사항으로 지적하였다. Joensson<sup>10</sup> 등은 심폐바이패스 후의 S-100 베타 단백질의 변화가 비록 임상적으로 명백하게 뇌손상의 증거가 있는 경우라 하더라도 뇌관련 합병증의 예후와 연관 관계가 있다고 하기는 어렵다고 하였는데, 이에 대하여는 Westaby<sup>11</sup> 등도 비슷한 결과를 제시하였으며 심폐바이패스 시 이용하는 cardiotomy sucker를 통한 혈액과 종격동내 혈액을 cell saver system을 이용하여 재활용하는 것이 혈청 S-100 베타 단백질 수치를 상승시킬 수 있다고 하였다. 결국 심폐바이패스 이후에 나타나는 S-100 베타 단백질의 상승 소견은 세포 손상이나 혈관-뇌 장벽의 일시적인 투과성의 증가 혹은 두가지 모두로 설명될 수 있다고 하였다. 120분간 역행성 뇌관류를 시행하고 심폐기 이탈 후에도 S-100 베타 단백질의 혈청 수치가 증가하는 양상이 뇌세포의 손상을 조기에 파악하는 지표가 될 수 있는지에 대하여는 좀 더 연구가 필요한 부분이라 사료된다. 다만 연구에 사용한 실험동물이 어린 돼지이고 사람에서의 자료와 같이 해석하기에는 무리가 있겠으나 연령 상승에 따른 혈청 수치의 상승은 고려하지 않아도 될 것으로 생각되며 조기 뇌손상 여부는 심폐바이패스만을 시행하고 완전순환정지를 시행하지 않은 군과의 비교연구가 시행되어야 할 것으로 사료된다.

뇌허혈에 관한 조직 변화에 관해 저자 등이 이전의 연구에서 언급한 바와 같이 미토콘드리아에서 심한 부종이 관찰되었고 이는 해마 보다는 기저핵에서 더 뚜렷하였는데 이러한 부종을 과연 조기 뇌손상의 지표로 해석할 것인가에 대하여는 아직 연구가 더 되어야 할 부분으로 생각된다. 해마 (hippocampus)는 뇌 대사율이 가장 높은 부위이기 때문에 허혈 손상 시 가장 민감한 부위로 조직학적 변화의 관찰이 중요한 의미를 가진다고 알려져 있는데<sup>12</sup> 이번 연구에서도 마찬가지로 해마 부위에 뚜렷한 조직손상을 발견할 수 없었으며 CA1 구역 또한 뚜렷한 조직 손상의 증거가 없었다. 미토콘드리아의 swelling 정도가 가장 심한 부위는 기저핵 부위였는데 이는 상당히 특이한 소견으로 생각되며 통상적으로 전향성 뇌관류시 해마가 가장 손상이 심한 것에 비하면 주목할 만한 소견으로 생각된다. 결국 이러한 뇌조직 소견과 S-100 베타 단백질의 증가를 연관지을 수 있느냐가 관건인데 향후 여러 가지 연구를 더 시행한 후 신중하게 해석해야 할 부분으로 생각된다.

## 결론

저자들은 돼지에서 120분간 역행성 뇌관류를 시행하고 심폐기를 성공적으로 이탈한 후 2시간 동안 관찰한 연구모델에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 뇌손상 여부를 판단하기 위하여 시행한 검사 중 S-100 베타 단백질의 혈청 수치는 neuron-specific enolase의 변화와는 달리 뇌관류 전보다 유의하게 증가하는 양상을 보였다.
2. 투과 전자 현미경 소견 상 비가역적 뇌손상을 시사하는 소견은 보이지 않았으나 기저핵에서 미토콘드리아의 심한 손상을 관찰할 수 있었다.
3. 뇌손상의 조기 지표로서 상기 두가지를 활용하기 위하여 보다 장기적인 추적 관찰 모델이 필요하다고 생각되며, 심폐바이패스에 의한 S-100 베타 단백질의 증가 가능성을 감안하여 향후 추가적인 비교연구가 필요하다고 사료된다.

## 참고 문헌

1. Safi HJ, Iliopoulos DC, Gopinath SP. *Retrograde cerebral perfusion during profound hypothermia and circulatory arrest in pigs.* Ann Thorac Surg 1995;59:1107-12.
2. 김경환, 안력. 돼지에서 초저체온 순환정지 하의 역행성 뇌관류시 뇌대사, 혈류역학지표, 뇌조직 소견 및 혈청내 neuron-specific enolase의 변화. 대흉외지 2000;33:445-68.
3. Hardemark HG, Persson L, Bolander HG. *Neuron-specific enolase is a marker of cerebral ischemia and infarct size*



- in rat cerebrospinal fluid.* Stroke 1988;19:1140-4.
4. Hardemark HG, Ericsson N, Kotwica Z. *S-100 protein and neuron-specific enolase in CSF after experimental traumatic or focal ischemic brain damage.* J Neurosurg 1989;71:727-31.
  5. Persson L, Hardemark HG, Gustafsson J. *S-100 protein and neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid and serum: markers of cell damage in human central nervous system.* Stroke 1987;18:911-8.
  6. Bachet J, Guilmet D, Goudot B, et al. *Antegrade cerebral perfusion with cold blood: a 13-year experience.* Ann Thorac Surg 1999;67:1874-8.
  7. Hammon JW Jr, Stump D. *Commentary: biochemical markeres of brain injury after cardiac surgery.* J Thorac Cardiovasc Surg 2000;119:130-1.
  8. van Engelen BGM, Lamers KJB, Gabreels FJM et al. *Age-related changes of neuron-specific enolase, S-100 protein, and myelin basic protein concentrations in cerebrospinal fluid.* Clin Chem 1992;28:813-6.
  9. Blomquist S, Johnsson P, Luhrs C. *The appearance of S-100 protein in serum during and immediately after cardiopulmonary bypass surgery: a possible marker for cerebral injury.* J Cardiothorac Vasc Anesth 1997;11:699-703.
  10. Joensson H, Johnsson P, Alling C et al. *S100β after coronary artery surgery: release pattern, source of contamination, and relation to neuropsychological outcome.* Ann Thorac Surg 1999;68:2202-8.
  11. Westaby S, Johnsson P, Parry AJ, et al. *Serum S100 protein: a potential marker for cerebral events during cardiopulmonary bypass.* Ann Thorac Surg 1996;61:88-92.
  12. Ishibashi H, Nitatori T, Kawazoe K. *Hippocampal neuronal death following deep hypothermic circulatory arrest in dogs: involvement of apoptosis.* Cardiovasc Surg 1999;7(5):558-64.

**=국문초록=**

**배경:** 역행성 뇌관류는 대동맥궁 수술에서 이용되는 뇌보호법중의 하나이다. 저자는 이에 대한 연구결과를 이미 발표한 바 있으나, 그 안전성 여부에 대하여는 아직 논의가 필요한 부분이다. 역행성 뇌관류 연구를 진행하면서, 조기 뇌손상을 시사한다고 알려진 여러 인자들을 조사하였다. **대상 및 방법:** 25~30 kg 돼지를 이용하여 120분간 역행성 뇌관류를 시행하였다. 심폐기 이탈을 시행하고 2시간 동안 생존을 유도하였으며, 전기간에 걸쳐 직장체온, 내경정맥 산소포화도, 중심정맥압 등을 관찰하였다. 조직학적 소견을 관찰하였고, 혈중 neuron-specific enolase(NSE) 및 S100베타 단백치를 측정하였다. 역행성 뇌관류 시행 중 중심정맥압은 20~25 mmHg를 유지하였다. **결과:** 역행성 뇌관류 속도 (ml/min)는 224.3±87.5(20분), 227.1±111.0(40분), 221.4±119.5(60분), 230.0±136.5(80분), 234.3±146.1(100분), 184.3±50.0(120분)으로 나타났으며 혈중 NSE 농도는 역행성 뇌관류 후에 관류전에 비해 유의한 증가를 보이지 않았다. 혈중 S100 베타 단백치(ng/ml)는 0.12±0.07(마취시작), 0.12±0.07(심폐바이패스직후), 0.19±0.12(심폐기가동 20분), 0.25±0.06(역행성뇌관류 20분), 0.29±0.08(40분), 0.41±0.05(60분), 0.49±0.03(80분), 0.51±0.10(100 분), 0.46±0.11(120분), 0.52±0.15(심폐기 재가동 30분), 0.62±0.15(60분), 0.76±0.17(심폐기이탈 30분), 0.81±0.20(60분), 0.84±0.23(90분) and 0.94±0.33(120분)를 보였고 이는 역행성 뇌관류 전에 비해 유의하게 증가된 소견이었다(p<0.05). 뇌신피질, 기저핵, 해마에서 전자현미경 조직 소견을 관찰하였으며 마이토콘드리아의 부종을 관찰할 수 있었다. **결론:** 역행성 뇌관류 120분 후에 S100 베타 단백치의 유의한 증가를 관찰할 수 있었으며 뇌조직 손상과의 관련성은 좀 더 연구되어야 할 부분으로 생각된다. 장기 생존 모델을 통한 재 평가가 필요하다고 사료되며 심폐바이패스 시행 등의 교란 인자도 고려해야 할 것이다.

중심 단어: 역행성 뇌관류, neuron-specific enolase, S-100 베타 단백