

돼지에서 역행성 뇌관류 시행 후 혈청 및 소변의 뇌손상 관련 지표(S100- β , Neuron-specific enolase)의 변화

김 상 윤* · 김 만 호* · 김 경 환**

=Abstract=

The Changes of Brain Injury Markers(S100- β , Neuron-Specific enolase) After Retrograde Cerebral Perfusion Under Total Circulatory Arrest in Pigs

Sang Yun Kim, M.D.*, Manho Kim, M.D.*, Kyung Hwan Kim, M.D.**

Background: We previously published the data that proved the safety of retrograde cerebral perfusion for 120 minutes. At this time, we planned to check the neuron-specific enolase and S100- β in serum and urine to assess the possibility of early detection of cerebral injury. **Material and Method:** We used pigs(Landrace species) weighing 35 kg and performed RCP for 120 minutes. After the weaning of cardiopulmonary bypass, we observed the pigs for another 120 minutes. Systemic arterial pressure, central venous pressure, and serum and urine levels of neuron-specific enolase (NSE) and S100 β protein were checked. Central venous pressure during RCP was maintained in the range of 20 to 25 mmHg. **Result:** Serum levels of NSE(ng/ml) were 0.67 ± 0.18 (induction of anesthesia), 0.53 ± 0.47 (soon after CPB), 0.44 ± 0.27 (20min after CPB), 0.24 ± 0.09 (RCP 20min), 0.37 ± 0.35 (RCP 40min), 0.33 ± 0.21 (RCP 60min), 0.37 ± 0.22 (RCP 80min), 0.41 ± 0.23 (RCP 100 min), 0.48 ± 0.26 (RCP 120min), 0.42 ± 0.29 (30min after rewarming), 0.35 ± 0.32 (60min after rewarming), 0.42 ± 0.37 (CPBoff 30min), 0.47 ± 0.34 (CPBoff 60min), 0.47 ± 0.28 (CPBoff 90min), and 0.57 ± 0.29 (CPBoff 120min). There was no statistically significant difference in levels between before and after RCP(ANOVA, $p>0.05$). Urine levels of NSE also showed no statistically significant difference in levels between before and after RCP. There was no correlation between urine and serum levels of NSE(Pearson correlation, $p>0.05$). Serum levels of S100 β protein(ng/ml) during the same time frames were 0.14 ± 0.08 , 0.15 ± 0.07 , 0.22 ± 0.15 , 0.23 ± 0.07 , 0.28 ± 0.10 ,

*서울대학교병원 신경과, 서울대학교 의과대학 신경과학교실

Department of Neurology, Seoul National University Hospital, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

**서울대학교병원 흉부외과, 서울대학교 의과대학 흉부외과학교실

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

†이 연구는 서울대학교 발전기금 및 간접연구경비에서 지원된 연구비에 의해 수행되었음(과제번호 00-3-3-30)

논문접수일 : 2002년 5월 14일 심사통과일 : 2002년 7월 25일

책임저자 : 김경환(110-769) 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.

0.40±0.05, 0.47±0.03, 0.49±0.12, 0.43±0.11, 0.46±0.15, 0.62±0.17, 0.77±0.21, 0.78±0.23, 0.77±0.23, and 0.82±0.33. There was statistically significant difference in levels between before and after RCP(ANOVA, p<0.05). Urine levels of NSE also showed statistically significant difference in levels between before and after RCP(ANOVA, p<0.05). There was significant correlation between urine and serum levels of NSE(Pearson correlation, p<0.05). **Conclusion:** The author observed the increase in serum and urine levels of S100β after 120 minutes of RCP. Significant correlation between serum and urine levels was observed. The results were considered to be the fundamental data that could correlate this study with human-based study.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2002;35:847-53)

Key words : 1. Cerebral perfusion
2. Perfusion, retrograde
3. S-100 Protein

서 론

대동맥 수술 시 뇌손상을 최소화하기 위하여 통상적인 저체온하 완전순환정지에 부가하여 뇌관류를 시행하는 것은 임상적으로 어느 정도 정착된 수기이다. 상공정맥을 통한 역행성 뇌관류, 대동맥궁 분지를 통한 전향성 뇌관류 등 두가지가 일반적으로 이용되고 있고 질환에 따라 적합한 관류법을 외과의가 자신의 선호도를 고려하여 이용하고 있다. 이 중 역행성 뇌관류법은 전색증의 발생이 적고 시행이 간편하며 뇌조직 내 독성 물질을 제거할 수 있다는 장점이 있으나, 얼마나 오랜 시간 동안 안전한 뇌보호가 유지될 수 있는지에 대하여는 여러 가지 의견이 있는 것이 사실이다^{1,3)}. 저자 등은^{4,5)} 이미 돼지를 이용한 120분간의 역행성 뇌관류 연구에서 이의 안전성을 제시한바 있고, 혈청 neuron-specific enolase와 S-100 베타 단백질의 측정을 시행하여 뇌손상의 조기 발견 가능성에 대하여 보고하였다. 이번 연구에서는 120분간 역행성 뇌관류를 시행한 후 neuron-specific enolase(이하 NSE로 약칭함)와 S-100 베타 단백질의 혈청 및 소변에서의 수치의 변화를 관찰함으로써 뇌손상 관련 지표들의 소변에서의 검출 가능성과 이의 혈청치와의 관련, 뇌손상의 조기 발견 가능성 등에 대하여 알아보려 한다. NSE는 분자량이 8만 dalton 정도인 해당작용경로상의 용해성 효소이며, 정상적으로는 신경 세포질, 수지상 돌기, APUD(amine precursor uptake and dehydrogenation) 세포 내에 특이적으로 존재하며 신경학적 손상을 조기에 발견하는 목적 이외에도 신경 아세포종, 폐의 소세포암 등의 진단 및 예후를 판정하는 중요한 지표로 이용되어 왔다. S-100 베타 단백질은 주로 뇌의 회백질내 성상 세포와 Schwann 세포에 존재하는 세포질 내 산성 칼슘 결합 단백질이며, 신경세포외 에 멜라닌세포, 지방세포, 연골세포,

상피 Langerhans 세포 등에서도 발견된다. 이것은 면역학적으로 확연히 구분되는 heterodimeric isoform 형태로 존재하는데, isoform 형태인 S-100 베타는 분자량이 21000 달톤으로 이루어진 homodimer 형태이며, glial cell과 schwann cell에 고농도로 존재하며, 또 다른 isoform 형태인 S-100 알파는 주로 glial cell에 존재한다. 반면 S-100 알파는 homodimer 로 심장, 콩팥 등에서 주로 발견된다. 상기 표지자들의 혈청 및 소변내 농도와와의 관계 및 변화를 관찰하고 소변 검체를 통한 뇌손상 조기 검출 가능성에 대하여 규명하고자 하는 것이 본 연구의 목적이다. 신장을 통해 대사된다고 알려진 S-100 베타와 NSE에 대하여 소변내 농도를 측정하고 이것이 혈청 농도와 유의한 상관관계가 있는지에 대하여 규명하여 혈청뿐만 아니라 소변내에서도 뇌손상의 표지자의 검출 가능성을 알아보려함이다. 소변내 농도 측정이 의미있는 결과를 보인다면 장기 생존을 유도한 실험 모델에서 보다 용이하게 추적관찰이 가능하고 실제로 환자를 대상으로 한 연구에서도 환자입장에서 현실적으로 용이한 검사법으로 자리 매김 할 수 있다고 사료된다.

대상 및 방법

1. 실험동물

35 kg 가량의 돼지(Landrace species) 5마리를 암수 구별 없이 이용하였다. 초저체온하 완전순환정지를 시행하고, 120분간 역행성 뇌관류를 시행하고 심폐기 이탈을 마친 후 120분간 관찰하면서 각 시간 대 별로 제반 지표들을 관찰하였다.

2. 완전순환정지 및 역행성 뇌관류의 시행

ketamine hydrochloride(20 mg/kg)을 근주하여 근육마비를

유발한 후, 말초 정맥 도관을 삽입하였다. 마취 전 처치로 아트로핀(0.03 mg/kg)을 정맥 투여하였고, 체표면 냉각이 가능한 blanketrol이 깔려있는 수술대에 옮기고 양와위를 유지하였다. 체모를 가능한 한 완전히 제거하고, 심전도 전극을 붙인 후 심박수를 감시하였으며, 기관절개술을 시행하여 내경 7.5 내지 8.0 mm의 기관 내 튜브를 삽관한 후 인공호흡기를 유지하였다. 산소분획은 60%로, 동맥내 이산화탄소 분압은 35~40 mmHg로 유지하였고, 마취유지는 ketamine hydrochloride(2 mg/kg/hr)을 주로 사용하면서 필요시 isoflurane (1~2%), vecuronium bromide(0.2 mg/kg)를 추가하였다. 치골 상부 절개를 통한 방광 삽관술을 시행하여 요량을 감시하였다. 서혜부 절개를 통하여 고동맥에 동맥압감시 카테타를 삽입하였고, 경정맥에 중심정맥압 측정과 수액 주입이 가능한 카테타(double lumen catheter)를 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(400 IU/kg)을 정주 한 후 동맥캐놀라는 상행대동맥, 정맥캐놀라는 상공정맥과 하공정맥에 위치시켰다. 인공심폐기는 Stockert-Shiley 인공심폐기를, 산화기는 기포형(bubble oxygenator, Bentley's blood oxygenator, Baxter, Irvine, CA, USA)을 이용하였다. 충전액은 하트만액 500 cc, 전혈 200 cc를 혼합하여 700 cc정도로 하였다. 정맥 캐놀라를 동맥 캐놀라와 Y자형으로 연결하여 완전순환정지 중 동맥혈을 이용한 역행성 뇌관류를 할 수 있도록 준비하였다. 심폐기 가동 후 완전순환정지 시 뇌혈류 조절은 α -stat를 채택하였다. 심폐기 가동 시 유속은 1000~1100 ml/min로 하였으며, 직장 체온을 18°C까지 낮추었다. 심폐기 가동 중 동맥혈가스분석을 수시로 시행하였으며, 조직 산증 유무를 체크하여 필요 시 교정하였고, 술중 헤마토크릿은 18~20 %내외를 유지하였다. 상공정맥 주위를 박리하여 캐놀라를 조일 준비를 하였고, 저체온하의 완전순환정지 직전에 methylprednisolone(2 mg/kg), thiopental sodium(5 mg/kg)을 정주하였고, 머리 주위에 얼음주머니를 놓아 국소적 저체온을 유지하였다. 역행성 뇌관류시 상지정맥으로의 혈류 손실을 막기위하여 혈압측정용 압박대를 감았다. 심근보호는 정질성 냉온 심정지액을 사용하였다. 내경정맥 산소 포화도를 측정하여 95% 이상이 되는 것을 확인한 후 역행성 뇌관류를 시행하였다. 뇌관류 속도는 중심정맥압 20~25 mmHg 정도에서 유지되도록 하였다. 관류액의 온도는 10°C 전후로 하였다. 2시간 동안 역행성 뇌관류를 시행하면서, 대동맥 근부 캐놀라를 통하여 대동맥궁으로 유출되는 혈액을 채취하였다. 마취 직후, 심폐기 가동 직후 및 20분 후 동맥혈을 채취하였으며, 2시간 완

전순환정지 동안 20분 간격으로 혈액을 채취하였다. 역행성 뇌관류를 중지하고 심폐기를 재 가동하면서 체온을 올렸고, 재 가동 직전 만니톨(75 mg/kg)을 정주하였다. 심폐기 이탈을 시행하고 약 2시간 동안 관찰하였으며 이후 돼지를 안락사 시켰다.

3. 측정된 주요지표

시간 및 체온 변화에 따른 동맥 혈압, 경정맥압, 혈청 및 소변내 neuron-specific enolase 및 S100 베타 단백치를 측정하여 시간 대 별 변화를 분석하였다. 측정 시간은 마취유도 후, 심폐바이패스 직후 및 20분후, 역행성 뇌관류 시행 후 20, 40, 60, 80, 100, 120분, 심폐바이패스 재 가동 후 30분, 60분, 심폐기 이탈 후 30분, 60분, 90분, 120분으로 하였다. 완전순환정지 기간중에는 소변의 채취가 불가능하므로 이 시간대의 채뇨는 시행하지 않았다. 동맥혈 가스분석은 마취유도 직후, 심폐기 가동직후, 심폐기 가동 후 20분대, 역행성 뇌관류를 마치고 심폐기를 재가동한 후 30분대, 심폐기 이탈 후 30분대에 시행하였다.

다음은 neuron-specific enolase와 S-100 베타 단백 측정의 구체적인 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. 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 β (solid phase)에 결합하는 성질을 이용하였으며, 희석된 인혈청을 well에 첨가하고 배양한 후에 세척과정을 거치고 검출용 항체인 polyclonal rabbit anti S-100을 더하고, 이에 polyclonal goat anti-rabbit IgG labeled horseradish peroxidase (HRP)를 well에 첨가하여 HRP의 활성도를 450nm에서 측정하였다. 450nm의 흡광도를 S-100 베타 단백질의 농도로 하며, 표준 S-100의 흡광도를 먼저 측정하여 환자의 S-100 베타 단백질의 농도를 계산할 수 있었다.

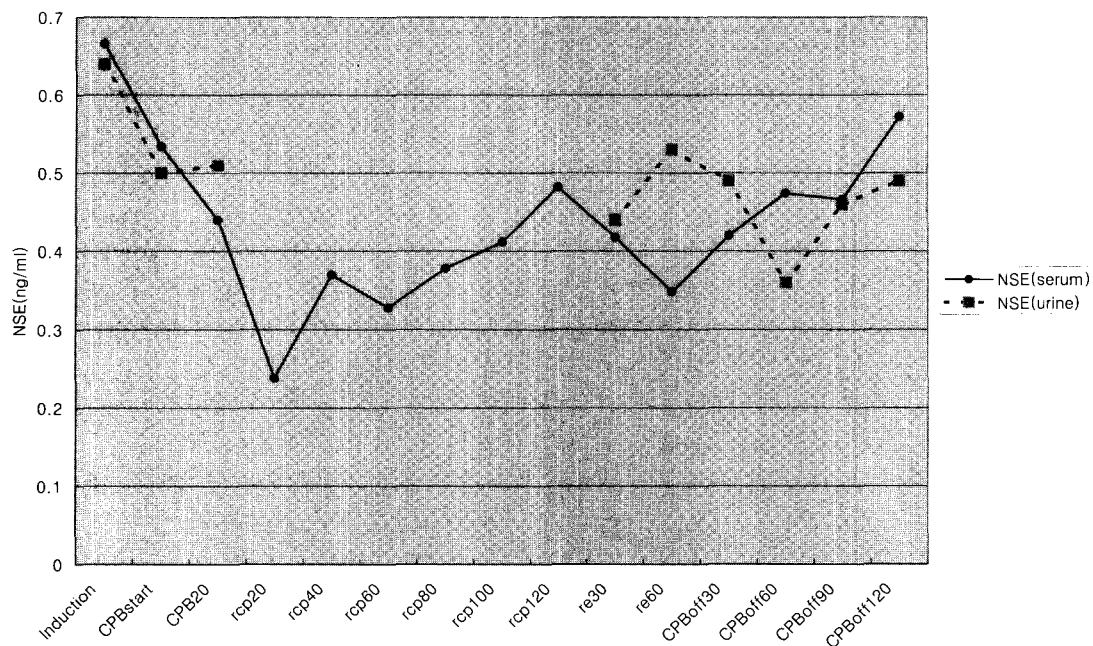


Fig. 1. Changes of neuron-specific enolase(NSE) in serum and urine around retrograde cerebral perfusion(rcp). (CPB, cardiopulmonary bypass)

4. 통계학적 처리

모든 수치는 평균과 표준편차로 나타내었으며 유의성의 검정은 SPSS(version 10.0) 통계 패키지를 이용하여 시행하였다. 시간대별 비교를 위해 시간대별 변화에 대한 차를 구하여 ANOVA test를 시행하였고 사후 검정을 위해 Bonferroni test, Tufey test 등을 사용하였다. 유의성의 검정은 유의수준 0.05이하를 의미있는 것으로 하였다.

결 과

1. 시간 및 체온 변화에 따른 혈류역학지표

역행성 뇌관류 기간 중 직장 체온은 20분대에 18.±1.3℃, 40분대에 17.6 ± 1.4℃, 60분대에 17.8 ± 1.2℃, 80분대에 18.3 ± 0.6℃, 100분대에 18.6 ± 1.2℃, 120분대에 18.8 ± 1.4℃로 유지되었고 시간대별 유의한 체온 변화는 없었다(ANOVA, p>0.05). 중심정맥압(mmHg)은 역행성 뇌관류 중 20분대에 20.4 ± 3.1, 40분대에 20.5 ± 2.4, 60분대에 21.7 ± 2.4, 80분대에 21.5 ± 2.7, 100분대에 21.3 ± 2.4, 120분대에 20.9 ± 2.1로 유지되었고, 심폐기 가동 중 관류 속도(ml/min)는 심폐기 가동 직후에 1768.3 ± 559.8, 20분대에 1960.0 ± 808.1, 심폐기 재동후 30분대에 1215.9 ± 654.7, 60분대에 1638.6 ± 689.7로 나타났으며, 역행성 뇌관류 기간 중의 관류 속도(ml/min)는

20분대에 188.3 ± 57.5, 40분대에 186.1 ± 103.4, 60분대에 189.4 ± 101.2, 80분대에 182.0 ± 116.5, 100분대에 178.3 ± 126.5, 120분대에 171.2 ± 71.6으로 유지되었다. 동맥혈 가스 분석에서는 대사성 산증 소견을 보이지 않고 비교적 일정하게 혈중 pH가 유지되었으며 산소분압, 이산화탄소 분압 등도 일정하게 유지되었으며 이는 이전의 2차례에 걸친 연구 결과와 유사한 양상을 보였다.

2. 혈중 및 요중 NSE(Fig. 1.)

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 재가동후 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 ± 0.29로 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). 또한 요중 농도(ng/ml)는 마취 유도 시 0.64 ± 0.15, 심폐기 가동 직후에 0.50 ± 0.44, 심폐기 가동 후 20분대에 0.51 ± 0.26, 심폐기 재가동후 30분대에 0.44 ± 0.22, 60분대

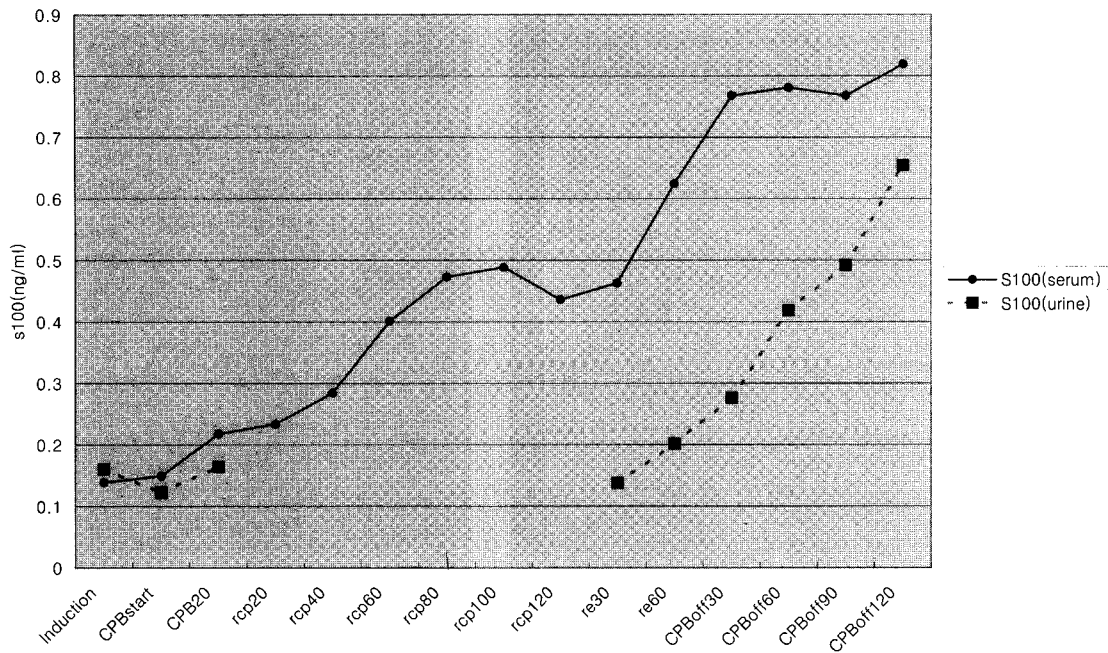


Fig. 2. Changes of S-100 β protein in serum and urine around retrograde cerebral perfusion(rcp). (CPB: cardiopulmonary bypass)

에 0.53 ± 0.29 , 심폐기 이탈 후 30분대에 0.49 ± 0.33 , 60분대에 0.36 ± 0.25 , 90분대에 0.46 ± 0.26 , 120분대에 0.49 ± 0.29 로 나타나 역행성 뇌관류 전후에 유의한 변화 양상을 관찰할 수 없었다(ANOVA, $p>0.05$). 또한 혈중 농도와 요중 농도 간에는 의미있는 상관성을 발견할 수 없었다(Pearson correlation, $p>0.05$).

3. 혈중 및 요중 S100 베타 단백질(Fig. 2)

S-100 베타 단백질의 혈청 농도(ng/ml)는 마취 유도시 0.14 ± 0.08 , 심폐기 가동 직후에 0.15 ± 0.07 , 심폐기 가동 후 20분대에 0.22 ± 0.15 , 역행성 뇌관류 20분대에 0.23 ± 0.07 , 40분대에 0.28 ± 0.10 , 60분대에 0.40 ± 0.05 , 80분대에 0.47 ± 0.03 , 100분대에 0.49 ± 0.12 , 120분대에 0.43 ± 0.11 , 심폐기 재가동 후 30분대에 0.46 ± 0.15 , 60분대에 0.62 ± 0.17 , 심폐기 이탈후 30분대에 0.77 ± 0.21 , 60분대에 0.78 ± 0.23 , 90분대에 0.77 ± 0.23 , 120분대에 0.82 ± 0.33 으로 나타났다. 마취 유도 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 시행 이전에 비해 통계적으로 유의하게 상승하였음을 관찰할 수 있었다(ANOVA, $p<0.05$, post hoc test). 시간대별 변화를 좀 더 구체적으로 살펴보면 마취유도 직후의 혈청 농도와 비교하여 역

행성 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, $p>0.05$).

S-100 베타 단백질의 소변내 농도(ng/ml)는 마취 유도시 0.16 ± 0.06 , 심폐기 가동 직후에 0.12 ± 0.02 , 심폐기 가동 후 20분대에 0.16 ± 0.05 였고 역행성 뇌관류 시행 중에는 측정이 불가능하였으며, 심폐기 재가동 후 30분대에 0.14 ± 0.06 , 60분대에 0.20 ± 0.06 , 심폐기 이탈후 30분대에 0.30 ± 0.07 , 60분대에 0.41 ± 0.06 , 90분대에 0.50 ± 0.09 , 120분대에 0.65 ± 0.13 으로 나타났다. 심폐기 가동전에 비해 재가동 후 측정치가 모두 통계적으로 유의하게 상승하였다(ANOVA, $p<0.05$). 혈중 측정치와 요중 측정치는 모두 역행성 뇌관류 후 증가하는 양상을 보였으며 두 군간의 상관분석결과 의미있는 상관성을 발견할 수 있었다(Pearson correlation, $p<0.05$).

고 찰

허혈성 뇌손상은 대동맥궁 수술 후 흔히 발생할 수 있는 합병증이다. 이의 발생을 줄이기 위해 전향성 혹은 역행성 뇌관류법을 이용하고 있으나 여전히 합병증 발생률은 10~20%를 나타내고 있다^{1,2)}. 뇌관류법의 하나인 역행성 뇌관류법은 완전순환정지시의 안전성 증대를 위하여 임상적으로

널리 이용되고 있으며 전향성 뇌관류법에 비하여 별도의 삽관이 필요 없고 여러 가지 독성 물질을 제거할 수 있는 장점 등으로 인해 이용되고 있다³⁾. 그러나 이의 효용성에 대한 의문은 여전히 남아있으며 몇몇 연구에서 결과를 제시하였으나⁶⁻⁸⁾, 안전성에 대한 정량적인 분석은 아직 뚜렷한 결론을 제시하지 못하고 있다. 비교적 오랜 기간 동안의 역행성 뇌관류가 과연 안전할 것인가에 대하여는 아직 결론짓기 어려운 상황이나 저자⁴⁾ 등이 이전의 연구에서 밝힌 바와 같이 역행성 뇌관류의 안전성을 파악하는데 각종 효소의 변화 및 뇌조직 소견을 관찰하였는바, 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 자체만의 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 관찰하여 결과를 이미 제시하였으며 혈청 S-100 베타단백이 조기 뇌손상을 검출할 수 있는 의미있는 인자임을 시사하였다⁵⁾. 혈청 S-100 베타 단백질의 증가는 신경학적인 손상과 관련이 깊다고 알려져 있으며⁹⁾, 완전순환정지 시간이 길수록 혈청 S-100 베타 단백질이 증가하는 것이라는 보고가 있으나¹⁰⁾ 개심술에 필수적인 인공심폐기 가동 후에도 증가한다는 보고가 있어 아직 뇌손상과의 직접적인 연관성을 결론짓기에는 조금은 성급하다고 사료된다. 그래서 현실적으로 결론짓기 어려운 S-100 베타단백의 증가와 뇌손상과의 직접적인 연관은 이전 연구에서 밝힌 자료로⁸⁾ 일단락하고 S-100 베타단백 자체의 혈청 및 소변에서의 검출 가능성에 대하여 초점을 맞추었다. 결과적으로 neuron-specific enolase은 혈청 및 소변에서 모두 유의한 증가를 보이지 않았고 두 검체 사이에 유의한 상관성을 발견하지 못하였으나, S-100 베타 단백질의 경우 다른 저자들의 연구결과^{9,10)}와 유사하게 혈청에서 완전순환정지 이후 심폐기 재가동 과정에서 유의한 증가를 보였으며, 특징적으로 neuron-specific enolase와는 달리 소변에서도 유의한 증가가 관찰되었으며 두 검체 사이에 유의한 상관성이 있다는 결과를 도출할 수 있었다. neuron-specific enolase와 S-100 베타 단백질 모두 신장으로 배설되는 특성을 가지고 있으나 S-100 베타단백의 경우 혈청 소견을 의미있게 반영한다는 사실을 밝힐 수 있었으며 이는 결국 neuron-specific

enolase에 비해 S-100 베타 단백질이 뇌손상의 조기 발견에 좀 더 신뢰할 만한 표지자로 자리매김 할 수 있는 중요한 근거가 되었다고 사료된다.

S-100 베타 단백질 임상적으로 좀더 의미있는 뇌손상 관련 표지자가 되기 위해서는 환자의 의식이 돌아오기 전에 뇌손상에 대한 정보를 줄 수 있어야 한다고 사료되며 이에 대하여 Blomquist 등은¹¹⁾ 6 ng/ml 이상일 때 신경학적 손상을 민감하게 검출할 수 있다고 하였다. 이번 연구에서는 S-100 베타의 최대치가 1 ng/ml를 넘지 않았으며 이는 동물 실험 결과이므로 신경학적 손상에 대하여 좀더 확실한 결론을 내리기 위해서는 신경학적 검사가 선행되어야 할 것으로 생각된다. 실제로 동물을 대상으로 한 실험에서 이를 밝히기에는 한계가 많으며 저자 등은 위와 같은 결과를 토대로 환자를 대상으로 한 임상 연구를 시행하려 하며 이를 위하여 유용한 토대가 되었다고 생각한다.

S-100 베타단백과 NSE가 신장으로 배설된다는 것은 이미 알려진 사실이나 실제 실험모델에서 측정된 결과 S-100 베타 단백질의 경우에만 혈청치와 소변치가 서로 유의한 상관관계가 있다는 사실을 알 수 있었다. 실험동물의 수가 작고 장기 생존을 유도하지 못한 문제점은 여전히 있으나 뇌손상의 감지에 중요한 역할을 한다고 알려진 S-100 베타단백의 소변내 측정 또한 의미 있다는 사실을 도출함으로써 장기 생존을 유도한 실험 모델이나 환자를 대상으로 한 연구에서 좀 더 용이하게 접근할 수 있는 검사법의 하나를 제시하였다고 사료된다.

결론

저자들은 돼지에서 120분간 역행성 뇌관류를 시행하고 심폐기 이탈 후 2시간 동안 관찰한 연구모델에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 뇌손상 여부를 판단하기 위하여 시행한 검사 중 S-100 베타 단백질의 혈청 및 소변에서의 수치는 뇌관류 전보다 유의하게 증가하는 양상을 보였으며 두 검체사이에는 의미 있는 상관관계가 있음을 알 수 있었다.
2. 뇌손상의 조기 지표로서 S-100 베타단백을 활용할 수 있는 기초자료가 되었다고 생각되며, 환자를 대상으로 한 임상 연구를 할 수 있는 토대가 되었다고 사료된다.

참고 문헌

1. Okita Y, Takamoto S, Ando M, et al. *Mortality and cerebral outcome in patients who underwent aortic arch*

operations using deep hypothermic circulatory arrest with retrograde cerebral perfusion: no relation of early death, stroke, and delirium to the duration of circulatory arrest. J Thorac Cardiovasc Surg 1998;115:129-38.

- Svensson LG, Crawford ES, Hess KR, et al. Deep hypothermia with circulatory arrest: determinants of stroke and early mortality in 656 patients. J Thorac Cardiovasc Surg 1993;106:19-28.
- Safi HJ, Iliopoulos DC, Gopinath SP. Retrograde cerebral perfusion during profound hypothermia and circulatory arrest in pigs. Ann Thorac Surg 1995;59:1107-12.
- 김경환, 안혁. 돼지에서 초저체온 순환정지 하의 역행성 뇌관류시 뇌대사, 혈류역학지표, 뇌조직 소견 및 혈청내 neuron-specific enolase의 변화. 대흉외지 2000;33:445-68.
- 김경환. 초저체온하 완전순환정지 시에 이용되는 역행성 뇌관류의 시간에 따른 뇌대사 지표, 혈청내 neuron-specific enolase 및 S-100 베타 단백질의 변화. 대흉외지 2001;34:653-61.
- Ueda Y, Miki S, Kusuhara K, Okita Y, Tahata T, Yamanaka K. Surgical treatment of aneurysm or dissection involving the ascending aorta and aortic arch utilizing circulatory arrest and retrograde cerebral perfusion. J Cardiovasc Surg 1990;31:553-8.
- Coselli JS. Retrograde cerebral perfusion via a superior vena caval cannula for aortic arch aneurysm operations. Ann Thorac Surg 1994;57:1668-9.
- Deeb GM, Jenkins E, Bolling SF, et al. Retrograde cerebral perfusion during hypothermic circulatory arrest reduces neurologic morbidity. J Thorac Cardiovasc Surg 1995;109:259-68.
- 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.
- Astudillo R, Van der Linden J, Radegran K, Hansson LO, Aberg B. Elevated serum levels of S100 after deep hypothermic arrest correlate with duration of circulatory arrest. Eur J Cardiothorac Surg 1996;10:1107-13.
- Blomquist S, Johnsson P, Luhrs C, et al. The appearance of S100 protein in serum during and immediately after cardiopulmonary bypass surgery: a possible marker for cerebral injury. J Cardiothorac Vasc Anesth 1997;11:699-703.

=국문초록=

배경: 저자는 이미 120분간의 역행성 뇌관류를 시행하여 이의 안전성에 대한 결과를 발표한 바 있다. 이번 연구는 neuron-specific enolase와 S100 베타 단백질의 혈청 및 소변내 농도와 관계 및 변화를 관찰하고 소변 검체를 통한 뇌손상 조기 검출 가능성에 대하여 규명하고자 계획하였다. **대상 및 방법:** 35 kg 돼지를 이용하여 120분간 역행성 뇌관류를 시행한후, 심폐기 이탈을 시행하고 2시간 동안 생존을 유도하였으며, 시간 변화에 따른 동맥 혈압, 경정맥압, 혈청 및 소변내 neuron-specific enolase (NSE) 및 S100베타 단백치를 측정하였다. 역행성 뇌관류 시행 중 중심정맥압은 20~25 mmHg를 유지하였다. **결과:** 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 재가동후 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, $p > 0.05$). 요중 농도(ng/ml) 또한 역행성 뇌관류 전후에 유의한 변화 양상을 관찰할 수 없었다(ANOVA, $p > 0.05$). 또한 혈중 농도와 요중 농도간의 상관성을 발견할 수 없었다(Pearson correlation, $p > 0.05$). 동일한 측정 시점에서의 S-100 베타 단백질 혈청 농도(ng/ml)는 0.14 ± 0.08 , 0.15 ± 0.07 , 0.22 ± 0.15 , 0.23 ± 0.07 , 0.28 ± 0.10 , 0.40 ± 0.05 , 0.47 ± 0.03 , 0.49 ± 0.12 , 0.43 ± 0.11 , 0.46 ± 0.15 , 0.62 ± 0.17 , 0.77 ± 0.21 , 0.78 ± 0.23 , 0.77 ± 0.23 , 0.82 ± 0.33 으로 뇌관류를 시행한 이후에서 시행이전에 비해 유의하게 상승하였음을 관찰할 수 있었다(ANOVA, $p < 0.05$, post hoc test). S-100 베타 단백질의 소변내 농도(ng/ml)는 역행성 뇌관류 기간을 제외하고 동일한 측정시점에서 측정할 수 있었으며, 심폐기 가동전에 비해 재가동 후 측정치가 모두 통계적으로 유의하게 상승하였다(ANOVA, $p < 0.05$). 혈중 측정치와 요중 측정치는 모두 역행성 뇌관류 후 증가하는 양상을 보였으며 의미 있는 상관성을 발견할 수 있었다(Pearson correlation, $p < 0.05$). **결론:** 뇌손상 여부를 판단하기 위하여 시행한 검사 중 S-100 베타 단백질의 혈청 및 소변에서의 수치는 뇌관류 전보다 유의하게 증가하는 양상을 보였으며 두 검체 사이에는 의미 있는 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 뇌손상의 조기 지표로서 S-100 베타단백을 활용할 수 있는 기초자료가 되었다고 생각되며, 환자를 대상으로 한 임상 연구를 할 수 있는 토대가 되었다고 사료된다.

중심 단어 : 1. 역행성 뇌관류
2. Neuron-specific enolase
3. S-100 베타 단백질