

흰쥐에서 급성심근경색 3일 후 흉부 대동맥 혈관 반응성의 변화

이 섭* · 노운석** · 장재석* · 배지훈* · 박기성* · 이종태***

The Change of Vascular Reactivity in Rat Thoracic Aorta 3 Days after Acute Myocardial Infarction

Sub Lee, M.D.*, Woon Seok Roh, M.D.**, Jae Seok Jang, M.D.*,
Chi Hoon Bae, M.D.*, Ki Sung Park, M.D.*, Jong Tae Lee, M.D.***

Background: The up-regulation of the nitric oxide (NO)-cGMP pathway might be involved in the change of vascular reactivity in rats 3 days after they suffer acute myocardial infarction. However, the underlying mechanism for this has not been clarified. **Material and Method:** Acute myocardial infarction (AMI) was induced by occluding the left anterior descending coronary artery (LAD) for 30 min (Group AMI), whereas the sham-operated control rats were treated similarly without LAD occlusion (Group SHAM). The concentration-response relationships for phenylephrine (PE), KCl, acetylcholine (Ach) and sodium nitroprusside (SNP) were determined in the endothelium intact E(+) and endothelium denuded E(-) thoracic aortic rings from the rats 3 days after AMI or a SHAM operation. The concentration-response relationships of PE in the E(+) rings from the AMI rats were compared with those relationships in the rings pretreated with nitric oxide synthase (NOS) inhibitor N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) or the cyclooxygenase inhibitor indomethacin. The plasma nitrite/nitrate concentrations were checked via a Griess reaction. The cyclic GMP content in the thoracic aortic rings was measured by radioimmunoassay and the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) mRNA expression was assessed by real time PCR. **Result:** The mean infarct size (%) in the rats with AMI was 21.3 \pm 0.62%. The heart rate and the systolic and diastolic blood pressure were not significantly changed in the AMI rats. The sensitivity of the contractile response to PE and KCl was significantly decreased in both the E(+) and E(-) aortic rings of the AMI group (p<0.05). L-NAME completely reversed these contractile responses whereas indomethacin did not (p<0.05). Moreover, the sensitivity of the relaxation response to Ach was also significantly decreased in the AMI group (p<0.05). The plasma nitrite and nitrate content (p<0.05), the basal cGMP content (p<0.05) and the eNOS mRNA expression (p=0.056) in the AMI rats were increased as compared with the SHAM group. **Conclusion:** Our findings indicate that the increased eNOS activity and the up-regulation of the NO-cGMP pathway can be attributed to the decreased contractile or relaxation response in the rat thoracic aorta 3 days after AMI.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2009;42:576-587)

Key words: 1. Ischemia/reperfusion injury
2. Nitric oxide
3. Endothelium
4. Vascular tone and reactivity

*대구가톨릭대학교병원 흉부외과

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Daegu Catholic University Medical Center

**대구가톨릭대학교 의과대학 마취통증의학과교실

Department of Anesthesiology and Pain Medicine, School of Medicine, Catholic University of Daegu

***경북대학교병원 흉부외과

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Kyungpook University Hospital

논문접수일 : 2009년 5월 4일, 논문수정일: 2009년 6월 5일, 심사통과일 : 2009년 6월 9일

책임저자 : 이 섭 (705-718) 대구시 남구 대명4동 3056-6, 대구가톨릭대학교병원 흉부외과

(Tel) 053-650-4566, (Fax) 053-629-6963, E-mail: leesub@cu.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

서 론

심장의 허혈 재관류 손상(ischemic reperfusion injury, IRI)은 급성 허혈성 손상 후 재관류시 생명 유지에 필수적인 산소의 재공급에 의해 오히려 조직손상이 가중되는 현상을 말하며[1], 임상적으로는 심근기질(myocardial stunning)이나 급성심근경색(acute myocardial infarction, AMI)의 형태로 나타난다[2,3]. 심장에서의 IRI의 기전은 지금까지 여러 가지가 제시되고 있으나 산소의 불완전한 환원으로 인해 생성된 superoxide (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) 및 hydroxyl radical (OH)과 같은 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)에 의한 세포손상과 세포 내 Ca^{2+} 이온의 축적이 중요한 역할을 한다[4]. ROS에 의한 산화 스트레스(oxidative stress)는 내피세포의 손상과 기능이상, 염증, 지질 과산화(lipid peroxidation)를 유도하며 nitric oxide (NO)의 생체 이용률(bioavailability)을 감소시켜 심장의 IRI 뿐만 아니라 죽상 경화증, 고혈압과 심혈관계질환의 생성이나 진행에 관여한다.

심장의 IRI 후 대동맥이나 말초혈관에서 일어나는 혈관 반응성(vascular reactivity)의 변화는 혈관 이완제인 acetylcholine (ACh)에 대한 이완반응의 감소 혹은 혈관내피세포 기능이상(endothelial dysfunction)으로 알려져 있다[4-8]. IRI 후 혈관내피세포 기능이상의 원인으로는 심장이나 혈관에서 생성된 ROS에 의한 혈관내피세포의 endothelial nitric oxide synthase (eNOS)의 억제와 이로 인한 NO의 생성 감소나 NO파괴로 인한 혈관 평활근의 NO 이용률 감소 등이 있다[9,10]. 그러나 유전자 조작에 의한 eNOS 과발현(hyper-expression) 마우스 실험 결과들은 eNOS-NO-cGMP(cyclic guanosine monophosphate) 신호전달체계의 상향 조절(up-regulation)에 의해서도 cGMP를 생성하는 soluble guanylate cyclase (sGC) 효소의 활동성 감소로 인해 ACh에 대한 이완반응이 감소될 수 있음을 보여준다[11,12]. IRI 후 혈관 내피세포 기능 이상의 원인에 있어서도 ROS에 의한 eNOS의 억제나 NO의 파괴보다는 ROS에 의한 eNOS의 발현이 증가되는 측면을 고려할 수 있다. 실제 Lauer 등[13]은 운동으로 인한 eNOS 발현 증가 기전에 H_2O_2 가 중요한 역할을 담당한다고 하였으며, Bauersachs 등[14]도 AMI 8주 후 쥐의 대동맥에서 혈관 O_2^- 에 의한 eNOS 발현의 증가를 보고하였다. 또한 IRI 후 초기의 혈관 조직은 IRI 후의 혈역학적 상태를 보상하기 위해 교감신경계 항진, rennin-angiotensin계 활성화, 혈장 catecholamine의 증가 등과 같은 변화가 일어날 수 있으며[15], 이러한 보상 기

전에 대한 역 보상 기전에 의해서도 혈관 내피세포에서의 NO 생성이 증가될 수 있다[16]. 그러므로 IRI 후 초기의 혈관 조직은 ROS 혹은 생리적 역보상 기전에 의해 eNOS-NO-cGMP 신호전달체계가 상향 조절되고, 그 결과로서 혈관내피세포의 이완반응이 감소될 가능성이 높지만 IRI 후 초기의 혈관 내에서 어떠한 변화가 일어나는지에 대한 연구는 많지 않다. AMI 후 1주일까지는 혈관 반응성이 정상으로 유지된다고 알려져 왔지만[17] AMI 유도 3일 후 쥐의 꼬리동맥(rat tail arterial bed)에서 혈관내피세포 기능 이상을 보고한 Sartorio 등[8]의 결과에 근거하면 쥐의 대동맥에서도 IRI 3일 후 혈관반응성의 변화가 일어날 가능성이 높다. 특히 이 시기에 측정된 혈관 반응성의 변화에 대한 결과들은 임상적으로 불안정 협심증과 AMI 환자의 경피적 심혈관 중재술이나 관상 동맥 우회술 전, 후의 혈역학적 지표 관리에 중요한 기초자료가 될 수 있다.

저자는 IRI 후 3일째의 쥐 모델에서 NO생성이 증가되는 지를 알아보기 위해 혈중 NO의 대사물질인 nitrite/nitrate의 혈장농도를 측정하였고, 쥐의 흉부대동맥에서 수용체 비의존성 수축제인 KCl과 α_1 아드레날린성 수용체 작용제인 phenylephrine (PE)에 의한 수축 반응과 내피세포 의존성 이완제인 ACh와 내피세포 비의존성 이완제인 sodium nitroprusside (SNP)의 이완 반응을 측정하여 IRI 후 NO생성변화가 혈관 반응에 미치는 영향을 알아보았다. 또한 대동맥 조직내에서 cGMP수준과 eNOS의 발현 정도를 측정하고 IRI 후 보상기전의 일환으로 혈중 카테콜라민치가 증가되는지를 알아본 다음 심장 IRI 후 일련의 혈관 반응성의 변화가 eNOS와 관련성이 있는지를 알아 보았다.

대상 및 방법

1) 실험동물과 심장 허혈 재관류 손상 모델 제작

본 실험은 본 병원 동물실험실 관리 및 윤리규정에 따라 행하였다. 몸무게 300~350 g의 9~10주 웅성백서(Sprague-Dawley rat)를 심장의 IRI 유도 여부에 따라 유도하지 않은 군을 SHAM군, 심장의 IRI를 유도하여 급성심근경색을 유도한 군을 AMI군으로 하였다. 수술은 ketamine 80 mg/kg와 xylazine 10 mg/kg을 복강 내로 주사한 후 전신의 자발적인 움직임이 없어졌을 때 20 G 카테터를 기관내 삽관하고 동물용 인공호흡기(Model 683, Harvard apparatus Co, USA)를 연결하고 95% 산소와 5% 이산화탄소로 이루어진 혼합가스로 조절호흡을 하였다. 우측 경동

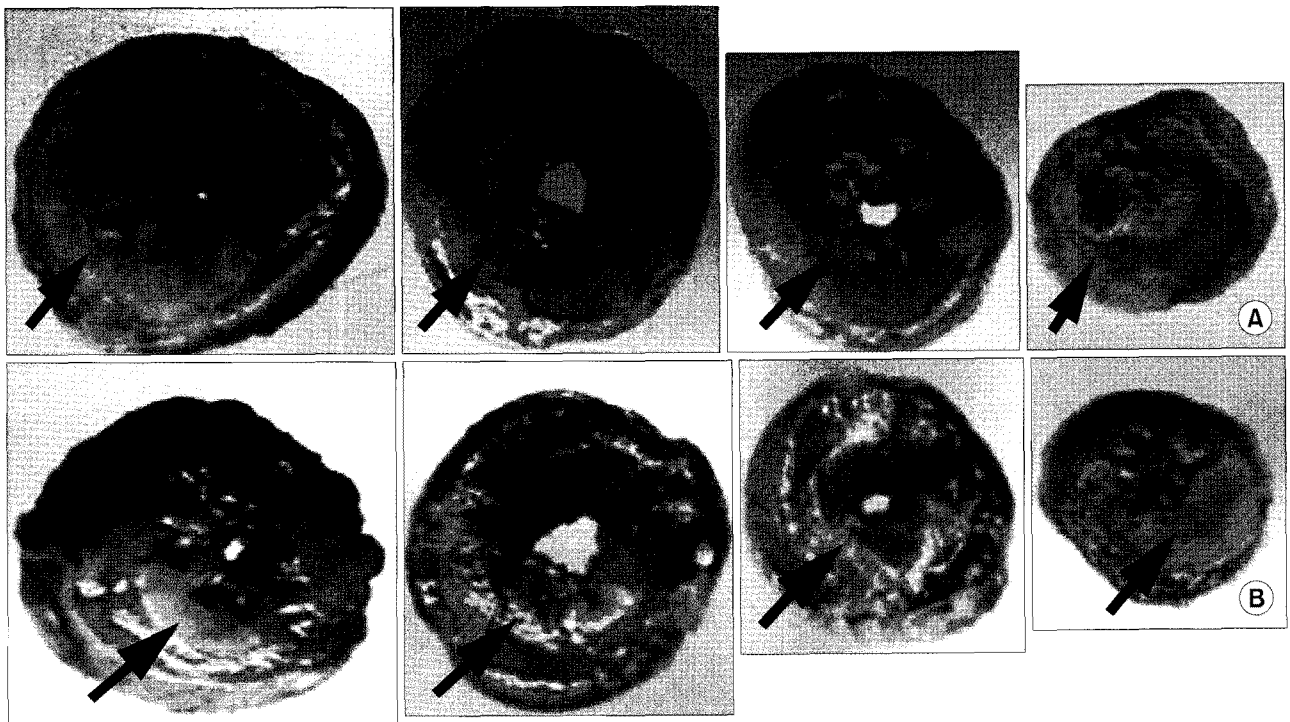


Fig. 1. (A) Three days after the ischemic reperfusion injury, the loop around the left anterior descending coronary artery was retightened and 1% Evan's blue dye was rapidly injected into the right atrium to distinguish the non-ischemic area from the area at risk. The left ventricle was cut into four slices transversely from base to apex. Arrow indicates the risk area (non-stained area). (B) The slices were incubated with 2,3,5-triphenyl-tetrazolium-chloride (TTC) for 10 minutes. Non-infarcted myocardium, which contains dehydrogenase, was stained with brick red by reacting with TTC, whereas necrotic (infarcted) tissue was unstained because of lack of enzymes. Arrow indicates infarcted tissue.

맥에 24 G 카테터를 넣은 후 혈압과 심박수를 Powerlab data acquisition system (ML870, ADInstruments Pty Ltd., Australia)을 이용하여 측정하였고 3일 후 같은 방법으로 혈압과 심박수를 측정하여 수술 전후의 활력징후를 비교하였다. AMI군은 심장의 IRI를 유도하기 위해서 흰쥐를 마취시킨 다음 정중흉골절개로 심장을 노출시킨 뒤 6-0 나일론으로 좌전 하행 관상동맥(left anterior descending coronary artery)을 30분 동안 폐쇄시킨 후 재관류시켜 IRI를 유도하였고 SHAM군은 동일한 수술을 하였지만 관상동맥을 폐쇄시키지 않았다. 수술 3일 후 IRI 정도를 평가하기 위해 미리 관상동맥에 걸어 놓았던 나일론으로 관상동맥을 다시 폐쇄시킨 후 3% Evans blue 1 mL를 우심방에 주사한 후 심장을 적출하고 적출 심장을 영하 20°C로 급속 냉동시켜 조직의 손상을 최소화시킨 뒤 전체 심장조직을 2 mm 정도의 간격으로 자르고 허혈에 의하여 손상 받은 부분과 정상조직을 구별하기 위해 각각의 slice들을 1% buffered (pH 7.4) 2,3,5-triphenyl-tetrazolium-chloride (TTC)에

10분간 넣은 다음 10% formaldehyde로 고정하였다(Fig. 1). 염색 후 각각의 절편을 스캔한 다음 영역 산정 프로그램인 National Institutes of Health (NIH) image/imageJ를 이용하여 Evans blue로 염색되지 않은 부위를 심근경색 위험지역으로 하였고 TTC용액으로 염색되지 않은 부위를 심근경색 영역으로 하였다.

2) 혈장 nitrite/nitrate 정량

NO의 대사산물인 혈장 nitrite (NO_2^-)/nitrate (NO_3^-)치를 측정하기 위하여 IRI 유도전과 IRI 3일째 경동맥에서 채혈한 후 원심분리(3,000 rpm, 15분)한 혈청을 -75°C에서 보관한 다음 측정 kit (Griess reagent system, Promega Co., USA)를 이용하여 반응물을 비색법으로 540 nm에서 측정하였다.

3) 혈장 catecholamine의 측정

수술 후 혈장 catecholamine 농도를 비교하기 위해 수술

3일 후 경동맥에서 3 mL의 전혈을 채혈하여 EDTA 튜브에 넣은 다음 빠른 시간 내에 3,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 상층액을 -75°C 에서 보관하였다. 혈청내의 catecholamine의 측정은 2분획 HPLC (high performance liquid chromatography, TSP. P1000, Thermoinst. SY. Inc., USA)로 혈장 epinephrine과 norepinephrine 농도를 측정하였다.

4) 혈관 장력 실험

수술 3일째 좌측 흉곽절개를 하여 흉부 대동맥을 적출한 후 곧장 차가운 Krebs-Ringer-Bicarbonate (KRB) 영양액이 담긴 실험접시에서 넣었다. KRB 영양액의 조성(단위: mM)은 NaCl 118, KCl 4.7, MgSO_4 1.2, KH_2PO_4 1.2, CaCl_2 2.4, NaHCO_3 25, glucose 11.1 그리고 EDTA 0.016로 하였다. 적출한 대동맥의 결체조직을 제거하고 5 mm 길이로 대동맥 고리절편을 만들었다. 몇몇 대동맥 고리절편은 forceps으로 혈관 안쪽으로 넣어 내피를 제거하여 내피 제거 절편을 만들었다. SHAM군과 AMI군으로부터 제작한 각각의 절편들은 10 mL 용량의 KRB 영양액으로 충진시킨 organ bath에 수직으로 현수하였다. Bath내 온도는 bath 순환기(RBC-10, Jeio Tech, South Korea)로 조절하여 $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 로 일정하게 유지되도록 하였으며 bath내로 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합가스를 공급하였다. 현수한 대동맥 고리 절편내로 2개의 작은 철심을 넣은 후 하나는 bath 아래쪽으로 당기고 나머지 하나는 bath 위쪽으로 향하게 한 다음 장력전환기에 연결하고 Powerlab ML870 data acquisition system을 이용하여 장력 변화를 증폭하여 기록하였다. 각각의 대동맥 고리절편은 10분 간격으로 0.5 g의 힘을 증가시켜 적절한 장력이 걸리도록 하였다. 적절한 장력이란 60 mM KCl에 대한 수축반응이 가장 크게 나타나는 최소의 장력으로 정의하였으며 예비실험결과 본 실험에서 사용한 흰쥐의 대동맥 고리절편은 2 g이 적절한 장력으로 결정되었다. 각각의 고리절편에 2 g의 장력을 부가하여 60 mM KCl에 대한 수축반응을 알아본 후 60 mM KCl에 대한 반응이 1.5 g 이하인 경우는 실험에 사용하지 않았다. KCl 반응을 측정한 후 5분 간격으로 영양액을 교환하여 기저장력까지 돌아왔을 때 PE (10^{-7} M)로 전수축시킨 다음 내피세포 의존성 혈관완제인 Ach (10^{-6} M)을 투여하여 전수축치에서 50% 이상 이완될 경우 내피세포 존재 절편(endothelium-intact rings, E(+))으로 정의하였고 5%이내로 이완될 경우를 내피세포 제거 절편(endothelium-denuded rings, E(-))으로 정의하였다. 내피세포 유무를 평가한 후 영양액을 반복적으로 교체하여 기저장력이

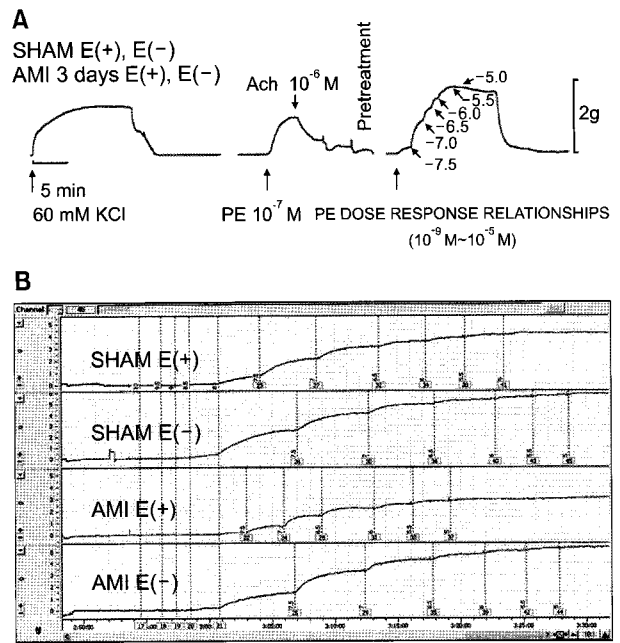


Fig. 2. (A) The experimental protocol in the isometric tension study. After checking functional integrity of rings by contractile response to 60 mM KCl, phenylephrine (PE) dose-response relationships in endothelial intact E(+) or denuded E(-) aortic rings of acute myocardial infarction (AMI) rats were obtained and compared with those from the rings of sham-operated (SHAM) rats and from the rings pretreated with L-NAME or Indomethacin. (B) The original tracing of PE dose-response relationships. The PE dose-response relationships of AMI rats were significantly attenuated as compared with those of SHAM rats ($p < 0.05$).

지 돌아오게 하였다. AMI군과 SHAM군의 대동맥의 혈관 반응을 알아보기 위해 비수용체 수축제인 KCL ($0 \sim 80$ mM)과 수용체 수축제인 PE ($10^{-9} \sim 10^{-5}$ M)의 농도반응 곡선을 구하였다. 또한 AMI 군내에서 내피세포 의존성 혈관수축반응의 기전을 알아보기 위해 nitric oxide synthase inhibitor인 *N* ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) (10^{-4} M)와 cyclooxygenase inhibitor인 indomethacin (10^{-5} M)을 PE 용량반응실험을 하기 30분 전에 전처치하여 PE 용량반응곡선을 구하였다(Fig. 2). 혈관완반응은 PE (10^{-6} M)로 혈관을 전수축시킨 다음 혈관내피세포 의존성 이완제 Ach ($10^{-10} \sim 10^{-5}$ M)과 혈관 내피세포 비의존성 이완제 SNP ($10^{-11} \sim 10^{-5}$ M)의 용량반응곡선을 구하였다.

5) 흉부 대동맥 절편의 cGMP 정량

흉부 대동맥 절편에 95% O_2 -5% CO_2 혼합가스를 공급해 주면서 Krebs 용액에서 30분간 안정화시키고 혈관조

직은 바로 액체질소에 넣어 반응을 정지시켰고, -76°C 에 보관한 후 조직을 RIPA (radio-immunoprecipitation assay) 완충액에 넣어 균질화시킨 다음 4°C , 13,000 rpm에서 15분간 원심 분리하였고, 상층액을 3회 추출하여 단백질정량 kit (Biorad protein Assay, Biorad Laboratories, Inc., USA)로 정량하고 Speed-vac 농축기로 농축하였다. cGMP측정은 방사면역 분석법(radioimmunoassay)을 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 시료와 표준물질에 50 mM sodium acetate 완충용액(pH 4.8)으로 최종 용적이 $100\ \mu\text{L}$ 가 되게 첨가하고, 1 : 1,000으로 희석한 cGMP 항체 $100\ \mu\text{L}$ (Calbiochem-Novabiochem, Co., USA)와 ^{125}I 가 결합된 cGMP $100\ \mu\text{L}$ (10,000 cpm per $100\ \mu\text{L}$, specific activity 2,200 Ci/mM, Dupont New England Nuclear, Wilmington, DE, USA)를 함께 넣은 후 4°C 에서 24시간 반응시켰다. 항체와 결합하지 않은 free- ^{125}I -cGMP는 charcoal을 이용하여 원심 분리한 후 상층액은 γ -counter를 이용하여 방사능을 측정하였다. 조직내의 cGMP의 양은 pmol/mg protein로 표현하였다.

6) 쥐 대동맥에서 real time PCR을 이용한 eNOS mRNA 발현 양상

심장의 IRI 유도 3일 후 SHAM과 AMI군에서 흉곽 절개 후 5~6 cm의 흉부대동맥을 적출하여 액체질소에 넣어 반응을 정지시켰다. 혈관조직으로부터 RNA 추출은 easy-spin™ Total RNA extraction kit (Intron, Korea)를 이용하였고, Nano-drop (Nano-drop technologies, USA)을 사용하여 정량 하였다. First-strand cDNA 합성을 위해 추출한 RNA $1\ \mu\text{g}$ 을 사용하였으며, 187 bp eNOS cDNA와 229 bp β -actin cDNA는 eNOS primer (accession number: AF-085195, forward sequence (5'-3'), GTATTGATGCTCGGGACTGCA, reverse sequence, CGCTGCCTATAGCCCGCGTA)와 229 bp β -actin primer (accession number: NM-031144, forward sequence (5'-3'), GGTCGAGTCCGCGTCCAC, reverse sequence, CTTCTGACCCATACCCACCATC)를 제작한 다음 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis kit (#K1622, Fermentas, USA)를 사용하여 역전사 반응으로 합성하였다. Real time PCR에 의한 PCR의 정량은 $10\ \mu\text{L}$ 의 iQ™ SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, USA), $20\ \text{pmole}/\mu\text{L}$ 의 oligonucleotide primers와 $5\ \mu\text{L}$ 의 cDNA 용액을 사용하여 Rotor-gene 6000 (Corbett life science, Australia) 분석기를 사용 하였다. 증폭 조건은 초기변성(predenaturing, 95°C for 5 min)후 55 cycles의 변성(denaturing, 95°C for 30 s), primer의 결합(annealing, 65°C for 30 s)과 연장(elongation, 72°C for 30 s)을 하였으

Table 1. Hemodynamic parameters

	SHAM	AMI
Number of rats	6	6
Heart rate (HR, bpm)		
Preoperative HR	259±7	246±20
Postoperative HR	260±13	259±15
Systolic blood pressure (SBP, mmHg)		
Preoperative SBP	127±8	118±10
Postoperative SBP	105±3	102±5
Diastolic blood pressure (DBP, mmHg)		
Preoperative DBP	80±6	75±10
Postoperative DBP	66±2	66±3

Values are mean±SEM. SHAM=Sham-operated; AMI=Acute myocardial infarction.

며 형광 분석은 72°C 에서 하였다.

7) 시약과 통계 분석

실험에 사용된 PE, Ach, SNP, L-NAME, indomethacin 등은 Sigma사(Sigma, St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며 그 외 모든 시약들은 일급 시약을 사용하였다. 각각 측정치는 평균값±표준오차로 나타내었다. KCl, PE, Ach과 SNP의 누적농도에 따른 혈관 반응 정도는 최대 반응의 50% 수축 혹은 이완시키는 누적농도(EC₅₀)를 산출한 후 음의 상용대수(-logEC₅₀, pEC₅₀)로 나타내었으며 최대 수축 혹은 최대 이완반응을 최대효과(maximal effect, E_{max})로 정의 하였다. 혈관 반응도는 ANOVA후 Bonferroni법으로 사후검정을 시행하였고 두 군간의 비교는 t-test로 하였으며, p값이 0.05 이하일 때를 유의성이 있는 것으로 판별하였다.

결 과

SHAM군과 AMI군의 평균 체중은 각각 $335\pm 10.06\ \text{g}$ 과 $339\pm 9.46\ \text{g}$ 이었고, 평균 심장의 무게는 $1.05\pm 0.02\ \text{g}$ 과 $1.08\pm 0.02\ \text{g}$ 이었으며, 평균 좌심실무게는 $0.71\pm 0.02\ \text{g}$ 과 $0.73\pm 0.02\ \text{g}$ 으로 두 군간 차이가 없었다($p>0.05$). AMI군에서 허혈 재관류 손상 후 평균 심근 경색 정도는 위험지역(risk area)의 $44.5\pm 1.02\%$ 였으며 좌심실 전체의 $21.3\pm 0.62\%$ 였다 (Fig. 1). 두 군간 수술 전, 후의 심박수 및 혈압은 유의한 차이가 없었다(Table 1).

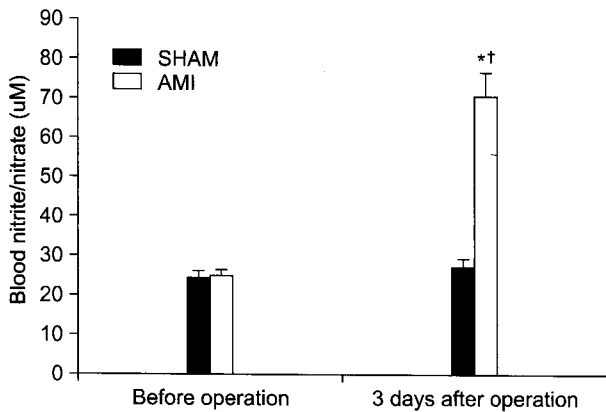


Fig. 3. Nitrite/nitrate concentrations in plasma samples before and 3 days after operation. Postoperative nitrite/nitrate concentration in AMI groups significantly increased as compared with SHAM rats (n=6). * $p < 0.05$ for difference between SHAM and AMI groups. Data are mean \pm SEM.

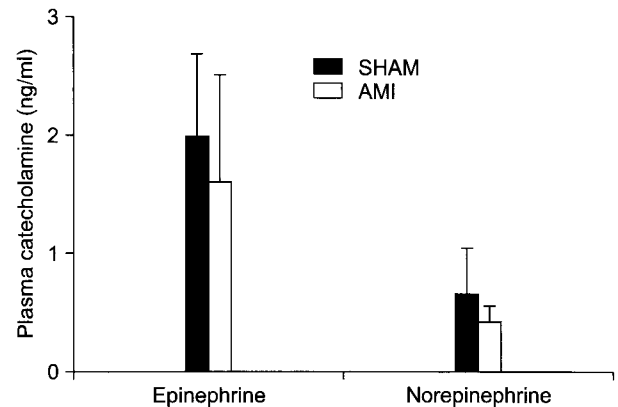


Fig. 4. The concentration of epinephrine and norepinephrine in sham-operated (SHAM) or acute myocardial infarction (AMI) rats (n=5). There were no differences between two groups. Data are mean \pm SEM.

Table 2. pEC₅₀ and Emax to KCl, phenylephrine, acetylcholine and SNP obtained from the aortas of SHAM and AMI rats with E(+) or without endothelium E(-)

	SHAM		AMI	
	E(+)	E(-)	E(+)	E(-)
KCl				
EC ₅₀ (mM)	31.6 \pm 3.0	26.2 \pm 2.8	30.9 \pm 3.3	25.3 \pm 4.8
Emax (g)	4.1 \pm 0.1	4.6 \pm 0.2	3.1 \pm 0.3 [†]	4.2 \pm 0.2*
Phenylephrine				
pEC ₅₀	7.45 \pm 0.06	7.91 \pm 0.04*	7.21 \pm 0.06 [†]	7.74 \pm 0.08*
Emax (g)	4.2 \pm 0.1	5.5 \pm 0.2*	3.3 \pm 0.2 [†]	4.5 \pm 0.2 [†] *
Acetylcholine				
pEC ₅₀	7.98 \pm 0.0	—	7.30 \pm 0.13 [†]	—
Emax (%)	-70 \pm 8.3	—	-56 \pm 3.9	—
SNP				
pEC ₅₀	8.08 \pm 0.20	7.51 \pm 0.14	8.02 \pm 0.21	7.26 \pm 0.11
Emax (%)	-102 \pm 1.67	-104 \pm 1.20	-102 \pm 1.41	-103 \pm 1.24

*= $p < 0.05$ compared with E+ rats; [†]= $p < 0.05$ compared with SHAM rats; SHAM=Sham-operated; AMI=Acute myocardial infarction; E(+)=Endothelium-intact aortic rings; E(-)=Endothelium-denuded aortic rings; SNP=Sodium nitroprusside.

1) 혈장 nitrite/nitrate 정량

AMI군에서 심장의 IRI 후 3일째 측정된 혈장 nitrite/nitrate 농도는 수술전이나 SHAM군과의 비교시 약 2.5배 증가되었다($p < 0.05$) (Fig. 3).

2) 혈장 catecholamine 농도

수술 후 혈장 epinephrine과 norepinephrine의 농도는

SHAM군과 AMI군의 비교시 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$) (Fig. 4).

3) 혈관 반응도 변화

SHAM군과 AMI군에서 KCl과 PE의 누적농도에 대한 혈관수축반응은 Table 2와 Fig. 5와 같았다. AMI군의 E(+)절편과 E(-)절편에서의 KCl 농도반응곡선(Fig. 5A)은 SHAM군과 비교시 반응곡선을 우측으로 이동시켰지만 약제에 대한 민감도(sensitivity)를 나타내는 EC₅₀의 비교에서

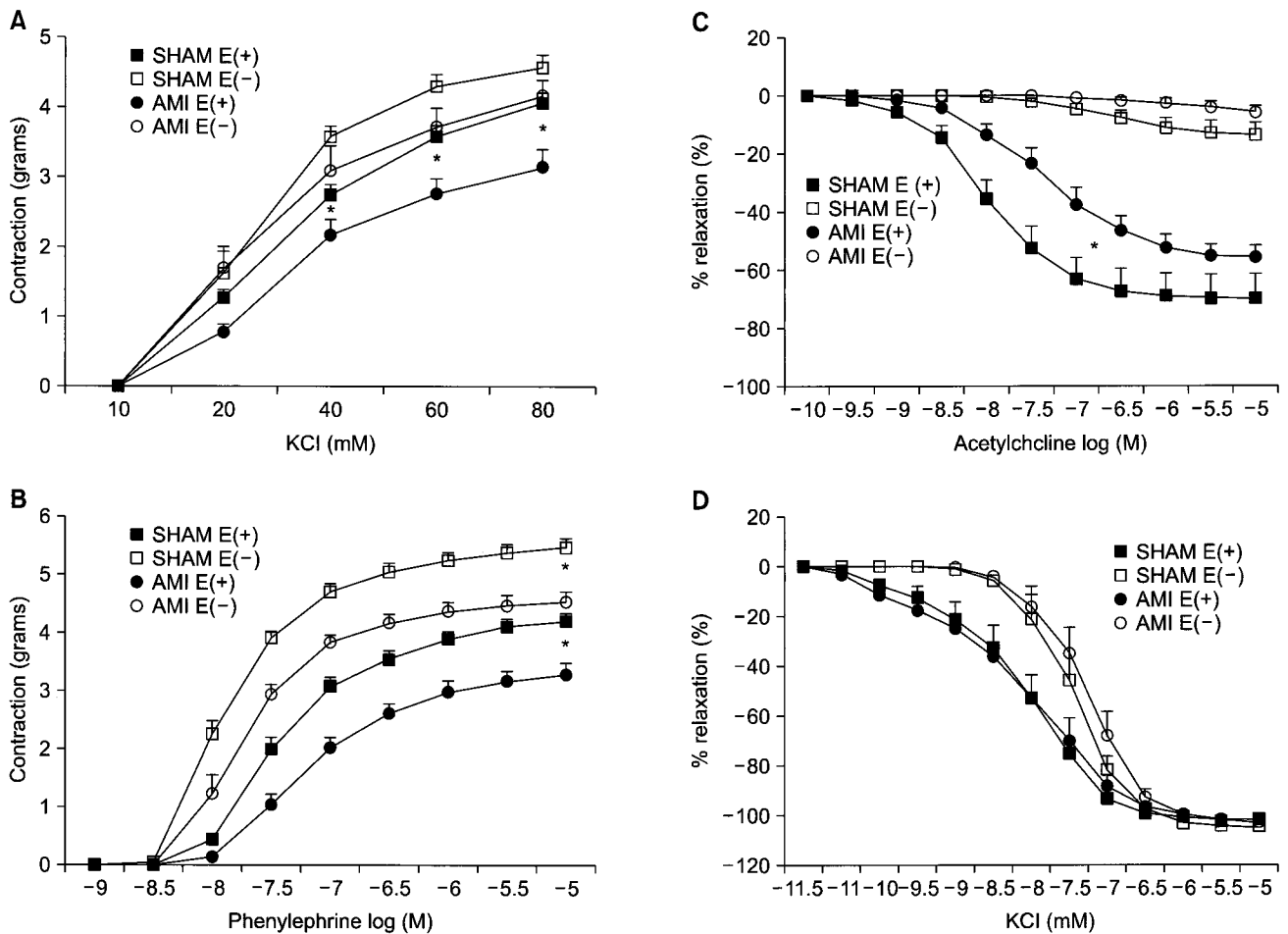


Fig. 5. Cumulative dose-response curves for KCl (A), phenylephrine (B), acetylcholine (C) and SNP (D) in endothelium-intact E(+) and endothelium-denuded E(-) aortic rings from AMI and SHAM rats (n=6~8). pEC₅₀s of phenylephrine and acetylcholine in AMI rats were significantly decreased as compared with SHAM groups. *p<0.05 compared with sham-operated rats. SHAM=Sham-operated; AMI=Acute myocardial infarction; SNP=Sodium nitroprusside.

는 유의성은 보이지 않았다. 그러나 최대 수축 정도를 나타내는 E_{max}의 비교에서는 AMI군의 E(+)절편에서 SHAM군의 E(+)절편보다 유의하게 낮았다(p<0.05). PE에 대한 누적농도반응곡선(Fig. 5B)에서 AMI군의 E(+)절편의 약제에 대한 민감도(pEC₅₀)와 E_{max}가 SHAM군 E(+)절편과 비교시 유의하게 떨어졌다(p<0.05). AMI군의 E(-)절편에서는 PE에 대한 수축제 민감도 감소가 저명하지 않았지만 E_{max}는 SHAM군보다 유의하게 떨어졌다(p<0.05). 내피세포 의존성 혈관이완제인 Ach의 누적농도 혈관이완 반응곡선은 Fig. 5C와 같았으며 AMI군의 E(+)절편의 약제에 대한 민감도가 SHAM군 E(+)절편과 비교시 유의하게 떨어졌지만(p<0.05) E_{max}는 두 군간 차이가 없었다. 내피세포 비의존성 혈관이완제인 SNP의 누적농도 혈관이

완 반응곡선(Fig. 5D)에서 AMI군 E(-)절편의 민감도가 SHAM군보다 떨어졌지만 통계적 유의성은 없었으며 E_{max}는 두 군간 큰 차이가 없었다. 또한 AMI군에서 내피의존성 혈관수축에 대한 민감도 감소원인을 알아보려고 시행한 추가 실험에서 비선택적 nitric oxide synthase 억제제인 L-NAME으로 처리한 E(+)절편은 대조군에 비해 민감도와 E_{max}를 유의하게 상승시켰지만(p<0.05), cyclooxygenase 억제제인 indomethacin은 효과가 없었다(p>0.05) (Fig. 6).

4) 흉부 대동맥 절편의 cGMP 정량

심장의 IRI 3일째 흉부 대동맥 절편에서 방사면역분석법으로 측정된 cGMP량은 Fig. 7과 같았다. AMI E(+)군의 수술 후 3일째 대동맥 cGMP 농도가 SHAM E(+)군과 비

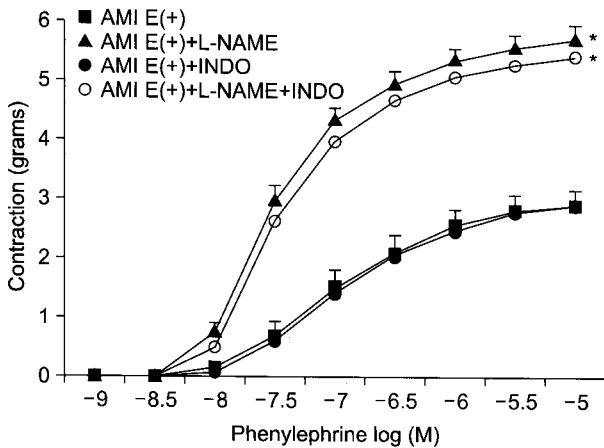


Fig. 6. Cumulative dose-response curves for phenylephrine in endothelium-intact E(+) aortic rings from AMI rats untreated or treated with L-NAME or indomethacin (n=6). L-NAME caused a leftward shift where as indomethacin did not ($p < 0.05$) in phenylephrine dose-response relationships in endothelium-intact aortic rings of AMI rats (n=7). $*=p < 0.05$ compared with AMI E(+) rats. E(+)=Endothelium-intact aortic rings; AMI=Acute myocardial infarction; INDO=Indomethacin.

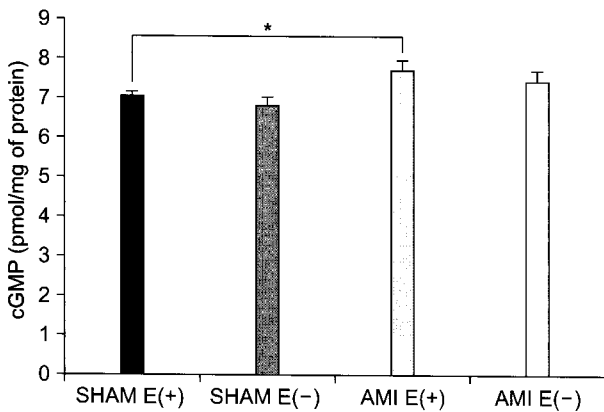


Fig. 7. cGMP levels in aortic segments from sham-operated (SHAM) and acute myocardial infarction (AMI) rats (n=8). cGMP levels in AMI group was slightly increased as compared to SHAM group. $*=p < 0.05$ for difference between SHAM and AMI groups. SHAM=Sham-operated; AMI=Acute myocardial infarction; E(+)=Endothelium-intact rings; E(-)=Endothelium-denuded rings.

교시 7.73 ± 0.25 (pmol/mg of protein)와 7.04 ± 0.13 (pmol/mg of protein)으로 의미 있게 증가되었다($p < 0.05$).

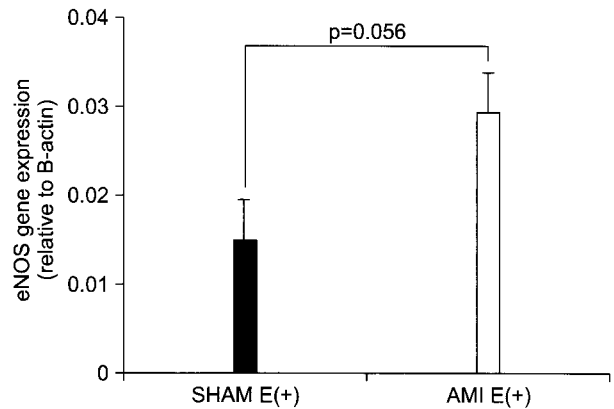


Fig. 8. Quantitative eNOS expression by real time PCR in SHAM and AMI rats (n=5). eNOS expression in AMI group was increased 1.6 times than SHAM group. Data are mean \pm SEM. SHAM=Sham-operated; AMI=Acute myocardial infarction; E(+)=Endothelium-intact rat thoracic aorta.

5) 쥐 대동맥에서 real time PCR을 이용한 eNOS 유전자 발현 양상

eNOS 유전자의 발현은 전반적으로 β -actin보다 아주 적게 나타났다. AMI E(+)군에서의 eNOS 유전자 발현은 SHAM E(+)군에 비해 약 1.6배 높게 나타났지만 통계적 유의성은 얻을 수 없었다($p=0.056$) (Fig. 8).

고 찰

IRI 후 3일째 흰쥐 흉부 대동맥 혈관 반응성의 변화와 그 기전을 알아보고자 시행한 연구결과 AMI군에서 eNOS 발현증가에 의한 NO 생성 증가와 이로 인한 NO-cGMP 신호전달체계의 상향 조절(up-regulation)이 혈관수축 및 혈관이완 반응성 감소의 원인임을 알 수 있었다.

심장의 IRI 후 NO의 대사산물인 nitrite/nitrate 혈중치가 증가한 것은 NO의 생성이 증가되었음을 나타내며 AMI군에서의 결과는 다른 보고들과 일치하였다[8,12,18]. AMI군에서 SHAM군보다 약 2.5배 nitrite/nitrate치가 증가한 것은 NOS의 활성증가와 NOS에 의한 NO의 생성이 증가되었음을 나타낸다. Sartorio 등[8]은 IRI 후 3일된 쥐에서 혈장 nitrite/nitrate치의 증가와 꼬리동맥(rat tail arterial bed)에서 iNOS 발현 증가를 관찰하였고 iNOS의 선택적 억제제인 S-methylisourea (SMT)에 의해 nitrite농도가 부분적으로 감소하는 것을 보고 혈관반응도의 변화 원인을 iNOS의 발현 증가 때문이라고 했다. 또한 그들은 eNOS 발현 정도를

측정하지 않았지만 iNOS 억제제 SMT에 의해서도 IRI 후 nitrite 농도 증가를 완벽하게 차단할 수 없었던 것은 eNOS에 의한 NO생성이 동반되었기 때문이라고 했다. 본 연구에서는 NOS의 아유형(subtype)에 대한 실험에 초점을 두지 않아 iNOS에 대한 실험을 추가로 시행하지 않았지만 패혈증 초기에 eNOS활성에 의해 iNOS발현이 유도될 수 있다는 최근의 보고에 근거하면 iNOS의 관련성을 완전히 배제할 수는 없었다[19].

본 연구에서 나타난 PE에 대한 반응 저하성(hypo-responsiveness)은 NO-cGMP나 cyclooxygenase 신호전달체계와 과분극 인자(endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF)와 같은 혈관내피세포 유리물질과 관련이 있을 수 있다[20]. 이를 구체적으로 알아 보기 위해 NOS 억제제 L-NAME 10^{-4} (M)과 cyclooxygenase 억제제인 indomethacin 10^{-5} (M)을 전처치하고 실험한 결과 L-NAME 10^{-4} (M) 투여시만 감소된 PE 수축반응을 역전시킬 수 있었다. 이는 AMI군에서 내피세포에서 유리되는 가장 중요한 혈관이완물질이 NO이며 α_1 -아드레날린성 혈관수축 반응성 감소가 NO-cGMP 신호 전달체계의 상향조절과 관련이 있음을 나타낸다. 이러한 가설에 근거하여 추가적으로 시행한 실험에서 AMI군에서 eNOS발현과 기저상태의 cGMP수준의 증가를 확인할 수 있었다. 흥미로운 점은 AMI후 eNOS의 발현증가와 혈관수축반응의 감소를 보인 본 실험 결과들은 쥐의 AMI 유도 후 iNOS의 발현증가와 혈관수축반응의 증폭을 보이고 있는 다른 실험 결과들과 좋은 대조를 보이고 있다는 점이다. 즉 장간막 동맥이나 꼬리 동맥과 같은 저항성 혈관을 이용한 실험에서는 혈관 조직 내에서의 iNOS발현 증가와 PE에 대한 혈관수축반응이 증폭되었다[8,21]. 이러한 혈관들에서 혈관수축반응이 증폭되는 이유로 AMI 후 내피세포에서 eNOS 발현감소, NO의 생성에 필요한 기질과 cofactor의 부족, 그리고 ROS에 의한 NO 파괴로 인해 혈관 평활근의 NO 생체이용률의 감소가 그 원인이라고 하였다[8-10,21]. 혈관수축반응이 혈관에 따라 이러한 차이를 보이는 점은 아직까지 잘 알려지지 않고 있으나 실험방법과 사용한 혈관종류의 차이 때문으로 생각된다.

본 연구에서 사용한 KCl은 PE과는 달리 수용체 비의존성 혈관수축제로서 주로 탈분극(depolarization)에 의해 전압의존성 칼슘 채널을 열어 Ca^{2+} 의 세포내 유입을 초래하여 혈관을 수축시킨다. AMI군에서 KCl에 의한 수축 감소성과 최대 수축능의 감소가 PE 수축 반응과 거의 유사하게 나타난 점은 IRI후 혈관수축제에 대한 반응성 감소가

α -아드레날린성 수용체의 자체 문제와는 관련이 없음을 간접적으로 나타낸다[22]. 혈관수축제에 대해 저반응성은 NO 공급약물을 일시적 주입 후 쥐에서 관찰되고 있으며 [23] NO공급약물로 전처치한 대동맥 혈관절편에서 저혈압이나 기저 장력의 변화 없이도 저반응성이 나타나며, 혈관내피 세포 제거시에도 이런 현상이 지속된다고 알려지고 있다[24]. 또한 Ohashi 등[11]은 eNOS 과발현 유전자 마우스에서 KCl과 PE 혈관 반응성이 본 실험과 같이 감소되었다고 했다. 이들 보고와 본 연구결과를 종합하면 AMI 후 eNOS-cGMP 신호전달체계의 상향조절에 의한 혈관 수축능 감소는 충분히 가능성이 높은 기전이라고 판단된다.

본 연구에서 AMI군에서의 Ach 혈관이완 반응성 감소현상은 몇몇 유사한 모델에서의 다른 실험결과들과 일치하였다[5,8,17]. IRI 후 혈관 내피세포 기능이상(endothelial dysfunction)은 Ach에 대한 반응성 감소현상으로 좁게 정의할 수 있는데 직접적인 내피세포 손상에 의한 NO 분비 감소나 ROS에 의한 NOS 억제로 인하여 혈관 평활근의 NO 생체 이용률 감소 등의 원인으로 일어난다고 알려져 있다 [8,10,25]. 그러나 본 연구의 결과에 따르면 이러한 원인에 의해 Ach에 대한 이완 반응이 감소했을 가능성은 낮아 보이며 eNOS-cGMP 신호전달체계의 상향조절로 인한 혈관 평활근의 NO 반응 저하가 그 원인이라고 생각된다. 이는 eNOS발현증가와 내피세포의존성 혈관이완 반응성 감소가 함께 나타날 수 있다는 다른 보고들과[14,26] 일치된 결과로 증가된 NO형성과 NOS발현증가가 반드시 혈관이완기능을 향상시키지는 않는다는 사실을 나타낸다. eNOS 발현 증가시 Ach 반응성 감소 현상은 NOS 아유형의 각각의 효과를 알아 보기 위해 유전자조작을 가한 eNOS 과발현 마우스 실험에서 저명하게 나타나고 있다. Yamashita 등[12]은 eNOS 과발현 마우스를 이용한 혈관 이완 반응성 실험에서 생성된 NO에 의해 sGC발현은 증가하지만 sGC 활성화도는 오히려 감소함으로 인해 Ach에 대한 이완 반응성 감소가 일어나며 cGMP분해 과정은 관련이 없었다고 했다. 본 연구에서는 NO와 cGMP사이의 중간 과정에 있는 sGC활동성과 cGMP분해과정에 대해서는 조사하지 않았지만 Ach의 혈관이완 반응성 결과가 eNOS 과발현 마우스 결과와 거의 일치됨을 볼 때 sGC의 활동성 감소가 본 연구의 Ach 혈관 이완 반응성 감소의 원인으로 추정된다.

최근 Zhen 등[27]은 사람의 관상동맥 내피세포 *in vitro* 실험에서 아주 높은 ROS에 노출된 내피세포는 24시간 후 조직손상이 일어나지만 조직손상을 일으키지 않는 농도

에 노출된 내피세포는 eNOS발현과 eNOS활성을 증가시켰다고 했다. 즉 ROS의 직접적인 효과에 의해서 eNOS가 증가될 수 있음을 나타내는 논문들에 근거하면[27,28] 본 연구에서처럼 심장의 IRI 후 초기의 대동맥은 심장에서 만들어진 ROS에 의해 직, 간접적으로 eNOS발현이 증가될 가능성이 있지만 본 실험결과로서는 이 가설을 구체적으로 증명할 수 없었다. 본 실험은 Sartorio 등[8]이 AMI 3일 후에도 혈관 반응성 변화가 올 수 있다는 보고에 근거하여 AMI 3일 후 시행하였지만 AMI후 어느 시점에서 혈관 반응성의 변화가 일어나는지에 대해서는 추가적인 연구가 필요하리라 생각된다.

본 연구에서 심장의 급성 허혈 재관류 손상후 eNOS발현 증가가 있었지만 AMI군에서 혈압 및 심박수는 대조군과 큰 차이를 보이지 않았다. 일차적인 원인으로 심근경색크기(좌심실의 21.3%)가 작았기 때문으로 생각되지만 IRI후 여러 가지의 보상기전에 대한 역 보상기전이 일어났을 가능성도 있다[21]. IRI 후 보상기전으로 나타날 수 있는 epinephrine과 norepinephrine치를 측정하였지만 차이는 발견할 수 없었다. 본 실험에서의 또 다른 한계로는 real time PCR법으로 쥐의 대동맥에서 eNOS 발현 정도가 다소 낮게 나타났다는 점이다. 이는 다른 방법의 다른 방법의 유전자 조작으로 새로운 접근이 필요하리라 생각된다.

결 론

IRI 후 3일째 쥐의 흉부대동맥에서 혈관반응 변화와 그 기전을 알아보고자 시행한 연구결과 AMI군에서는 NO의 대사산물인 혈장 nitrite/nitrate치가 상승하였고 eNOS 발현 증가 및 기저상태의 cGMP증가로 보아 NO-cGMP 신호전달체계가 상향 조절(up-regulation)되어 있음을 알 수 있었고 이러한 상태에서는 수용체 비의존성 혈관수축제인 KCl과 α_1 -아드레날린성 수용체 의존성 혈관수축제인 PE의 수축 반응이 감소되고 혈관내피의존성 혈관이완제인 Ach 혈관 이완 반응이 감소됨을 알 수 있었다. eNOS의 발현증가의 원인이 산화스트레스인지 역보상 기전의 하나인지에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Hansen PR. Myocardial reperfusion injury: experimental evidence and clinical relevance. Eur Heart J 1995;16:734-40.
2. Hess ML, Kukreja RC. Myocardial stunning. J Card Surg 1994;9:382-6.

3. Jeroudi MO, Hartley CJ, Bolli R. Myocardial reperfusion injury: role of oxygen radicals and potential therapy with antioxidants. Am J Cardiol 1994;73:2B-7B.
4. Zweier JL, Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. Cardiovasc Res 2006;70:181-90.
5. Kaiser L, Spickard RC, Olivier NB. Heart failure depresses endothelium-dependent responses in canine femoral artery. Am J Physiol 1989;256:H962-7.
6. Ceiler DL, Nelissen-Vrancken M, De Mey JG, Smits JF. Role of basal nitric oxide synthesis in vasoconstrictor hyporeactivity in the perfused rat hindlimb after myocardial infarction: effect of captopril. Cardiovasc Res 1999;43:779-87.
7. Valgimigli M, Merli E, Malagutti P, et al. Endothelial dysfunction in acute and chronic coronary syndromes: evidence for a pathogenetic role of oxidative stress. Arch Biochem Biophys 2003;420:255-61.
8. Sartório CL, Pinto VD, Cutini GJ, Vassallo DV, Stefanon I. Effects of inducible nitric oxide synthase inhibition on the rat tail vascular bed reactivity three days after myocardium infarction. J Cardiovasc Pharmacol 2005;45:321-6.
9. Xia Y, Zweier JL. Superoxide and peroxynitrite generation from inducible nitric oxide synthase in macrophages. Proc Natl Acad Sci USA 1997;94:6954-8.
10. Kuzkaya N, Weissmann N, Harrison DG, Dikalov S. Interactions of peroxynitrite, tetrahydrobiopterin, ascorbic acid, and thiols: implications for uncoupling endothelial nitric-oxide synthase. J Biol Chem 2003;278:22546-54.
11. Ohashi Y, Kawashima S, Hirata K, et al. Hypotension and reduced nitric oxide-elicited vasorelaxation in transgenic mice overexpressing endothelial nitric oxide synthase. J Clin Invest 1998;102:2061-71.
12. Yamashita T, Kawashima S, Ohashi Y, et al. Mechanisms of reduced nitric oxide/cGMP-mediated vasorelaxation in transgenic mice overexpressing endothelial nitric oxide synthase. Hypertension 2000;36:97-102.
13. Lauer N, Suvorava T, Rütther U, et al. Critical involvement of hydrogen peroxide in exercise-induced up-regulation of endothelial NO synthase. Cardiovasc Res 2005;65:254-62.
14. Bauersachs J, Bouloumié A, Fraccarollo D, Hu K, Busse R, Ertl G. Endothelial dysfunction in chronic myocardial infarction despite increased vascular endothelial nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase expression: role of enhanced vascular superoxide production. Circulation 1999;100:292-8.
15. Schrier RW, Abraham WT. Hormones and hemodynamics in heart failure. N Engl J Med 1999;341:577-85.
16. da Cunha V, Stefanon I, Mill JG. Role of nitric oxide in mediating cardiovascular alterations accompanying heart failure in rats. Can J Physiol Pharmacol 2004;82:372-9.
17. Teerlink JR, Clozel M, Fischli W, Clozel JP. Temporal evolution of endothelial dysfunction in a rat model of

- chronic heart failure*. J Am Coll Cardiol 1993;22:615-20.
18. Pinto VD, Cutini GJ, Sartório CL, Paigel AS, Vassallo DV, Stefanon I. *Enhanced beta-adrenergic response in rat papillary muscle by inhibition of inducible nitric oxide synthase after myocardial infarction*. Acta Physiol 2007;190:111-7.
 19. Connelly L, Madhani M, Hobbs AJ. *Resistance to endotoxic shock in endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) knock-out mice: a pro-inflammatory role for eNOS-derived NO in vivo*. J Biol Chem 2005;280:10040-6.
 20. Vanhoutte PM, Mombouli JV. *Vascular endothelium: vasoactive mediators*. Prog Cardiovasc Dis 1996;39:229-38.
 21. Miller AA, Megson IL, Gray GA. *Inducible nitric oxide synthase-derived superoxide contributes to hyperactivity in small mesenteric arteries from a rat model of chronic heart failure*. Br J Pharmacol 2000;131:29-36.
 22. Stassen FR, Willemsen MJ, Janssen GM, DeMey JG. *Alpha 1-adrenoceptor subtypes in rat aorta and mesenteric small arteries are preserved during left ventricular dysfunction post-myocardial infarction*. Cardiovasc Res 1997;33:706-13.
 23. da Silva-Santos JE, Terluk MR, Assreuy J. *Differential involvement of guanylate cyclase and potassium channels in nitric oxide-induced hyporesponsiveness to phenylephrine in endotoxemic rats*. Shock 2002;17:70-6.
 24. Terluk MR, da Silva-Santos JE, Assreuy J. *Involvement of soluble guanylate cyclase and calcium-activated potassium channels in the long-lasting hyporesponsiveness to phenylephrine induced by nitric oxide in rat aorta*. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2000;361:477-83.
 25. Bauersachs J, Bouloumié A, Mülsch A, Wiemer G, Fleming I, Busse R. *Vasodilator dysfunction in aged spontaneously hypertensive rats: changes in NO synthase III and soluble guanylyl cyclase expression, and in superoxide anion production*. Cardiovasc Res 1998;37:772-9.
 26. Bouloumié A, Bauersachs J, Linz W, et al. *Endothelial dysfunction coincides with an enhanced nitric oxide synthase expression and superoxide anion production*. Hypertension 1997;30:934-41.
 27. Zhen J, Lu H, Wang XQ, Vaziri ND, Zhou XJ. *Upregulation of endothelial and inducible nitric oxide synthase expression by reactive oxygen species*. Am J Hypertens 2008;21:28-34.
 28. Vaziri ND, Wang XQ. *cGMP-mediated negative-feedback regulation of endothelial nitric oxide synthase expression by nitric oxide*. Hypertension 1999;34:1237-41.

=국문 초록=

배경: Nitric oxide (NO)-cGMP 신호전달체계의 상향 조절(up-regulation)이 급성심근경색 3일 후 흰쥐의 혈관반응성의 변화에 관여한다고 알려져 있으나 그 기전에 대해서는 명확히 규명되지 않았다. 대상 및 방법: 좌전하행관상동맥을 30분간 폐쇄한 후 급성심근경색을 유도한 군을 AMI군으로, 동일한 모의 수술(sham operation)을 하였으나 관상동맥을 폐쇄하지 않은 군을 SHAM군으로 하였다. AMI 혹은 SHAM 수술 3일 후 흰쥐의 대동맥 고리절편(내피를 보존한 대동맥 절편을 E(+), 내피를 제거한 대동맥 절편을 E(-))에서 phenylephrine (PE), KCl, acetylcholine (Ach) 및 sodium nitroprusside (SNP)에 대한 농도-반응 관계를 측정하였다. AMI군의 E(+) 대동맥 절편에서 PE의 농도-반응 관계를 NO synthase (NOS) 억제제인 N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)와 cyclooxygenase 억제제인 indomethacin으로 각각 전처리한 대동맥 절편과 비교하였다. 혈장 nitrite/nitrate 농도는 Griess reaction으로 측정하였고, 방사면역 분석법을 이용한 흉부 대동맥 절편의 cGMP정량과 real time PCR을 이용한 endothelial nitric oxide synthase (eNOS) mRNA 발현양상 측정을 하였다. 결과: AMI군에서의 심근경색의 평균 크기는 21.3 \pm 0.62%였다. AMI군에서 심박수와 수축기 및 이완기 혈압은 의미 있는 변화가 없었다. E(+)와 E(-) 대동맥 절편에서 PE와 KCl에 대한 수축반응의 민감도는 AMI군 대동맥 절편에서 의미 있게 감소하였다(p<0.05). L-NAME은 이러한 수축반응을 완전하게 역전시켰으나 indomethacin은 효과가 없었다(p<0.05). 또한 AMI군에서 Ach에 대한 이완반응의 민감도가 의미 있게 감소하였다(p<0.05). AMI군에서 SHAM군에 비해 혈장 nitrite/nitrate 농도(p<0.05), 기저 cGMP 농도(p<0.05), 및 eNOS mRNA 발현양상(p=0.056)이 증가하였다. 결론: 이상의 결과들로 보아 eNOS의 발현 증가와 NO-cGMP 신호전달체계의 상향조절이 급성심근경색 3일 후 흰쥐 흉부대동맥에서의 수축 및 이완 반응성 감소의 원인으로 생각된다.

- 중심 단어 : 1. 허혈/재관류
2. 산화질소
3. 혈관내피
4. 혈관반응