

급성 허혈성 뇌부종으로 인한 뇌사립체 손상 및 Lipid Peroxidation 함량의 변화에 대한 Methylprednisolone의 효과

이화여자대학교 의과대학 신경외과학교실

신 규 만

= ABSTRACT =

The Effect of Methylprednisolone on the Changes of the Mitochondria and lipid Peroxidation in the Acute Focal Ischemic Cerebral Edem

Kyu Man Shin, M.D.

Department of Neurosurgery, College of Medicine, Ewha Womans University

It is the purpose of this study to evaluate the therapeutic effect of methylprednisolone (M.P.) in the acute phase of focal cerebral ischemic stroke. Acute focal cerebral ischemia was produced by transorbital occlusion of the left middle cerebral artery (MCA) with Heifetz clip under the operating microscope. The Experimental animals were divided into 3 groups. The occlusion group was that the acute focal ischemia was induced for 4-hour of the occlusion of the MCA only. The circulation group was that of 2-hour recirculation after acute focal ischemia. The treatment group was that of M.P. (15mg/kg) injection at 30 minutes after occlusion initially and at 90 minute interval. The sham control group was the cats with removal of the orbital contents without occlusion of MCA. Cytochrome oxidase activity (COA) and the lipid peroxidation LP were concentration determined. The results obtained were as the following. In the occlusion group, COA was reduced to 60.6% and LP increased to 167.0% of the sham control value, in the recirculation group COA reduced to 63.5%, LP increased to 140.6% of the sham control value. In the treatment group, COA was increased to 154.9% and LP decreased to 88.7% of the sham control value. Ultrastructures of the mitochondria were studied by electron microscopy in all groups. In comparison with the other experimental groups the shapes and numbers of the mitochondrial cristae and the whole mitochondria were preserved well relatively. The above results indicate that MP has beneficial effect in the management of the acute focal ischemia in the cat model of 4-hour occlusion of MCA with 2-hour recirculation.

서 론

뇌경색의 가장 근본적인 병리적 요소는 뇌조직에 대한 산소 및 포도당공급의 감소에 의한 것이므로 뇌경색의 근본적 치료는 비가역적 손상이 발생하기 전에 뇌혈류를 재개시켜야하는 데 있다.

뇌허혈상태로 인하여 뇌조직의 산소공급이 중단되면 뇌사립체의 산인산화작용이 즉시 중단되어 phosphocreatinine, ATP 등의 고-energy 화합물과 포도당 및 당원이 감소되고, AMP, ADP양은 증가되며, 부족한 ATP의 생산을 위하여 저장된 포도당의 무기성 당원질 분해작용이 발생하여 뇌조직은 유산염이 증가되며^{12,3)}, 이에 ATP 부족으로 세포내외의 이온들의 평형을 유지하는 데 중요한 역할을 담당하는 Na⁺ 펌프작용이 중지되어⁴⁾ 세포외액으로부터 Na⁺이 세포내로 유입됨과 함께 수분이 저류되어 뇌부종이 발생하게 된다. 또 ATP가 감소되면 세포내외의 Na⁺ 균형의 붕괴와 세포막에 부착되어 있는 Ca²⁺-ATPase 활성이 저하되어 Ca²⁺ 함량이 증가하여 유리지방산이 증가되어 사립체 및 세포의 손상이 발생된다⁵⁾. 그러나 이때 측부순환등으로 혈류가 재개되어 energy 대전이 정상으로 회복되면 Na⁺ 펌프작용이 재작동하여 뇌손상은 가역적으로 호전될 수 있다. 이와 같이 뇌허혈성 부종발생은 뇌 energy 대사와 밀접한 상호관계가 있다. 한편 뇌-혈관 관문장애로 인한 뇌부종 발생기전은 허혈상태시 내피세포의 축소로 뇌-혈관 관문의 투과성이 증가하여 수분 및 혈장내 삼출물의 증대로 발생된다. 이상의 기전들은 허혈성 뇌부종발생의 초기병인론으로 간주되어 진다. 최근 허혈성 뇌부종의 2차병리적 과정의 실험적 연구가 활발히 수행되고 있다. 특히 이 중에서도 허혈성 뇌부종발생후 세포피사로 생산되는 glutamate⁶⁾, 혈소판에서 유출되는 serotonin⁷⁾ 및 kallikrein-kininogen-kinin계⁸⁾의 이상이 비가역적 뇌손상에 대하여 미치는 영향들이다.

이상과 같이 뇌기능 유지에 필요한 절대적인 energy는 뇌사립체에서 생산되고, 또 허혈상태로 인한 신경조직손상에 대하여 Demopoulos 등^{9,10)}

은 허혈상태시 조효소에 의하여 발생한 유리기작용으로 인지질이 자가산화되어 비가역적 손상이 발생한다고 시사하였다.

이에 저자는 고양이 증대 뇌동맥 기시부를 급격히 폐쇄시키는 실험모형을 이용하여 실험적 뇌국소허혈성부종상태를 유발시킨 후, 뇌조직의 사립체기능의 지표인 cytochrome C oxidase 함량과 뇌사립체 미세구조 및 뇌허혈로 인한 유리기발생에 의한 지방과산화함량의 변화를, 세포 lysosome의 막을 안정화시켜 가수효소 유리억제¹¹⁾¹²⁾, 세포내 과도한 Ca²⁺ 유입방지¹³⁾, 혈관확장으로 조직내 혈류를 개선시켜 유산 및 부종의 감소¹⁴⁾¹⁵⁾, 지방세포들의 관입증가¹⁶⁾, 2, 3-diphosphoglyceric acid를 증가시켜 산소전달의 증가¹⁶⁾와 유리기반응을 억제하여 다불포화지방산의 과산화작용을 감소시키는 기전¹⁷⁾¹⁸⁾으로 중추신경계 손상을 방어, 치유시킬 수 있다고 알려진 합성부신피질 호르몬제제의 일종인 Methylprednisolone(MP)을 투여한 후 비교관찰하여, 향후 이 약제를 단독 또는 다른 뇌방어기전약제들과 병합하여 뇌졸중환자의 치료제로서 활용할 수 있는 가능성을 평가하기 위한 목적으로 본 실험을 수행하였다.

실험재료 및 방법

실험동물은 체중 3.0~4.5kg의 성숙한 잠종 고양이 24마리로 체중 kg당 ketamine hydrochloride 35 mg을 피하근주하여 전신마취한 상태에서 고양이 실험대위에 고정된 후 인공호흡기를 이용하여 분당 30회로 호흡을 유지하였으며, 실험중 동맥혈내의 산소 및 이산화탄소분압을 측정하였으며 고양이의 체온을 가열패드를 이용하여 36.8℃로 유지시켰다. 좌측 안검열을 약 0.5cm 절개하여 견인기로 상하안검을 넓게 벌린 후 안와내용물을 제거하고 수술현미경하에서 전기천공기를 이용하여 시신경공의 측상방에 5mm크기의 골절제술을 시행하여 뇌경막을 노출시켰다. 뇌지주막을 조심스럽게 박리하여 좌측 증대 뇌동맥의 기시부를 5×1.75mm크기의 heifetz협자로 협자술을 시행하여 혈류를 차단시켰다. 두개골 결손 및 뇌경막 절개 부

표 1. Experimental group

Group	No. of assays	Treatment
Sham Control	6	No MCA occlusion No Treatment
Occlusion Group	6	Only MCA occlusion for 4hrs
Recirculation Group	6	MCA occlusion for 4hrs + Recirculation for 2hrs
Steroid Group	6	MCA occlusion for 4hrs + Recirculation for 2hrs + IV injection of Methylprednisolone (15mg/kg)

위는 gelfoam으로 덮었고 안와는 Methylmetacrylate dental cement로 채웠다. 실험군은 3개의 아군으로 나누어, 첫째 4시간동안 중대뇌동맥혈류를 폐쇄시킨 폐쇄(occlusion)군, 둘째 4시간 폐쇄후 2시간 재관류시킨 군을 재관류(recirculation)군, 셋째 중대뇌동맥 폐쇄 30분 후부터 1시간 30분 간격으로 Methylprednisolone을 kg당 15mg으로 정맥 주사한 steroid군으로 분류하였으며, 좌측안구적출 후 시신경공부위의 골절제술만을 시행한 것을 수술대조(sham control)군으로 하였다(표 1).

1. Cytochrome Oxidase 활성치 측정

고양이의 두피를 완전바리후 두개골에 액체질소를 분무하여 -70°C로 급속냉각 고정시킨 후 뇌를 적출하여 시신경교차부와 뇌유두체부 사이를 관상모양으로 절개하여 뇌피질부와 뇌기저핵부위를 Hess와 Pope 등¹⁹⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. 절제한 뇌조직은 균등기를 사용하여 0.32mole sucrose용액으로 10% 균질용액을 만들었다. 이를 냉동원 침기로 6000g에서 10분간 원심분리하고 이의 상층액을 9000g에서 20분간 원심분리하여 사립체를 분리하였다. 0.75% sodium deoxycholate 용액으로 현탁시켜 효소용액을 만들었다. 2.5 mole reduced cytochrome-C가 되도록 0.05 mole sodium phosphate buffer(pH 7.1)에 용해시킨 후 sodium hydrosulfate를 0.01 mole이 되게 넣어준 후 3년간

흔들어준다. 이 완충된 cytochrome C 용액 0.65ml에 효소용액 0.05ml를 넣어 잘 섞은 후 분광측정기(Perkin-Elmer)를 사용하여 550 nm에서 3분간 주사하였다. 이때 oxidized cytochrome C의 molar 흡광계수는 0.87×10^4 , reduced cytochrome C의 molar 흡광계수는 2.80×10^4 으로 하였다. Cytochrome oxidase 활성체의 단위는 $\mu\text{mole/mg protein/hr}$ 수로서 표시하였다.

2. Lipid peroxidation 측정

사립체의 지질과잉산화를 위한 배양물질로 0.012 m mole Fe^{+++} , 2mole ADP, 0.3 mmole NADPH, 0.1 mole Tris-HCl buffer(pH 7.5) 및 사립체의 분설을 넣어 37°C에서 30분간 배양후 1ml를 취하여 TCA-TBA-HCl 시제 2ml를 첨가한 후 15분간 수욕중에서 끓이다 식힌 후 10분간 3000RPM으로 원심분리한다. 상층액을 취하여 지질과잉산화로 생성되는 Maloraldehyde양을 분광측정기(2000 Bauch and Lomb)를 사용하여 535nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 흡광계수는 1.56×10^5 으로 하였다.

3. 전자현미경적 미세구조 관찰방법

뇌조직을 karhovsky 고정액을 유주하여 1차 고정후, 절취된 조직편을 같은 고정액에 2시간 동안 다시 침적고정후 Millonig's phosphate buffer(pH 7.3)로 세척하여 1% osmium tetroxide로 고정하였으며 ethanol과 propylene oxide로 탈수하고 Epon 812로 포매하였으며 초미세절편도(ultramicrotome)로 세분한 후 광학현미경적 소견을 관찰한 후 부위를 선정하여 500~600 Å 두께의 가는 절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과형 전자현미경(H-600)으로 관찰하였다.

실 험 성 적

1. Cytochrome C oxidase활성도

본 연구의 각 실험군 및 수술대조군의 cytochrome 활성수치는 표 2 및 그림 1, lipid peroxidation 함량의 수치는 표 3 및 그림 2와 같다.

표 2. Cytochrome oxidase activity

Group	Cytochrome Oxidase (μ moles/mg protein/hr)
Sham Control	91.58 \pm 22.63
Occlusion Group	55.49 \pm 21.32
Recirculation Group	58.23 \pm 23.23
Steroid Group	105.30 \pm 26.96*

Each value represents mean \pm S.D. of 12 experiments
 * Significantly different from 4hr occlusion value 0.02 < p < 0.05

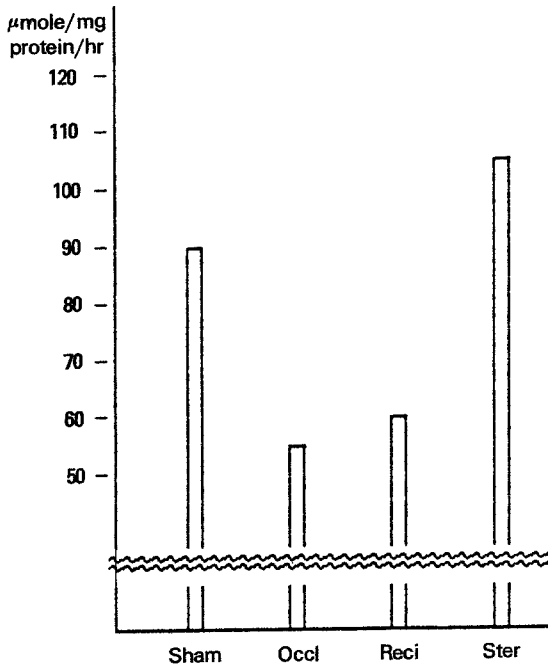


그림 1. Cytochrome oxidase activity.

실험 대조군의 cytochrome oxidase 활성치는 91.58 \pm 22.63 μ mole/mg protein/hr, 그리고 lipid peroxidation 함량은 3.91 \pm 0.44 nmoles of maloridialdehyde/mg protein/30min 이었다. 폐쇄군의 cytochrome oxidase 활성치는 55.49 \pm 21.32 μ mole/mg protein/hr, lipid peroxidation 함량은 6.53 \pm 2.12 nmoles of maloridialdehyde/mg protein/30min 로 각각 실험대조치의 60.6% 및 167.0%를 보였으며, 재관류군에서는 cytochrome oxidase 활성치는 실험대조군치의 63.5%로 58.23 \pm 23.23 μ mole/mg pro-

표 3. The concentration of lipid peroxidation

Group	Lipid Peroxide (n moles of maloridialdehyde/mg protein/30 min)
Sham Control	3.91 \pm 0.44
Occlusion Group	6.53 \pm 2.12
Recirculation Group	5.71 \pm 0.74
Steroid Group	3.47 \pm 1.06*

Each value represents mean \pm S.D. of 12 experiments
 * Significantly different from 4hr occlusion value 0.02 < p < 0.05

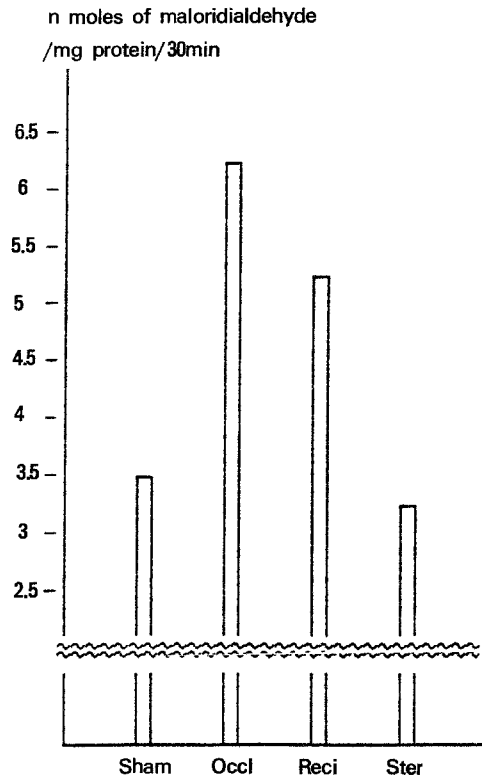


그림 2. The concentration of lipid peroxidation.

tein/hr, Lipid peroxidation 함량은 5.71 \pm 0.74 nmoles of maloridialdehyde/mg protein/30min로 실험대조군치의 146.0%로 증가하였고, steroid 치료군에서의 cytochrome oxidase 활성치는 105.30 \pm 26.96 μ mole/mg protein/hr, lipid peroxidation 함량은 3.47 \pm 1.66 nmoles of maloridialdehyde/mg protein/30min

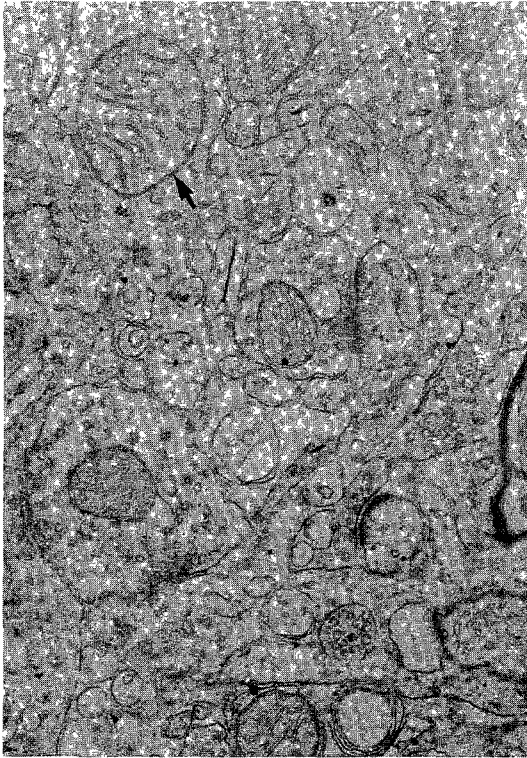


그림 3. Normal picture of mitochondria of sham control group.

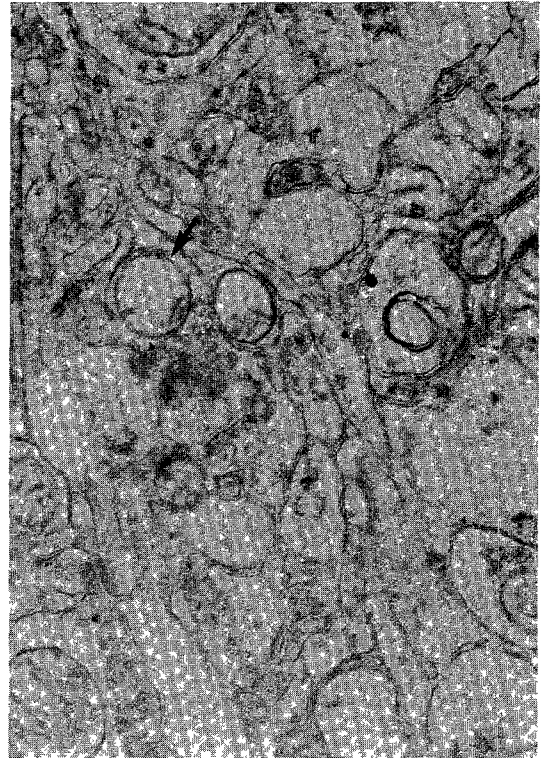


그림 4. Mild swollen mitochondria with peripherally placed cristae and absence of the mitochondrial granules.

로 각각 실험대조군치의 154.9%로 유의있는 증가와, 88.7%의 유의있는 감소를 보였다.

2. 사립체의 전자현미경적 미세구조 변화소견

실험대조군에서는 사립체의 내외막과 횡방향으로 놓인 능(crista)이 잘 관찰되며, 사립체간의 접합을 보여주었다(그림 3). 중대뇌동맥 폐쇄군에서는 전반적으로 사립체의 부종의 일반적 소견을 보이고 있어, 즉 사립체내의 능이 주변으로 전이됨과 동시에 위축되었으며 배열의 방향이 상실되었고(그림 4), 재관류군에서는 폐쇄군과 유사한 소견으로(그림 5) 세포핵 주위부의 사립체능들이 손상되어 투명한 양상을 보이며 핵은 손상되어 있었다.

MP치료군에서는 사립체의 부종을 보여주나 실험대조군에 비해서도 사립체능이 불완전 하지만 다른 실험군들보다는 잘 보존되어 변화소견이 경미하게 관찰되었다(그림 6).

총괄 및 고안

세계보건기구의 1983년 사망원인 질병률보고²⁰에 의하면 순환기계통질환으로 인한 사망은 전 사망률의 23%이며, 특히 경제력이 부강한 선진국들에서는 전 사망률의 48%가 순환기계통질환에 의한다고 한다. 이 계통의 질환별 사망률은 허혈성 심장질환이 21%, 뇌혈관계 질환이 13%이고, 기타 혈관계통의 질환이 14%였다고 한다. 이와같이 뇌혈관계 질환은 허혈성 심장질환에 이어 두번째로 심각한 성인의 순환계질환이다. 특히 오늘날 경제력의 성장과 더불어 평균수명의 연장으로 뇌출혈에 의한 사망수보다는 뇌경색증에 의한 사망률이 증가되고 있는 추세로서 뇌경색증은 오늘날 인류의 주요 성인병증의 하나로 등장하였다.

최근 뇌전산화단층촬영술, digital 감산 혈관조영술, 뇌핵자기공명술 및 positron 방출 단층촬영

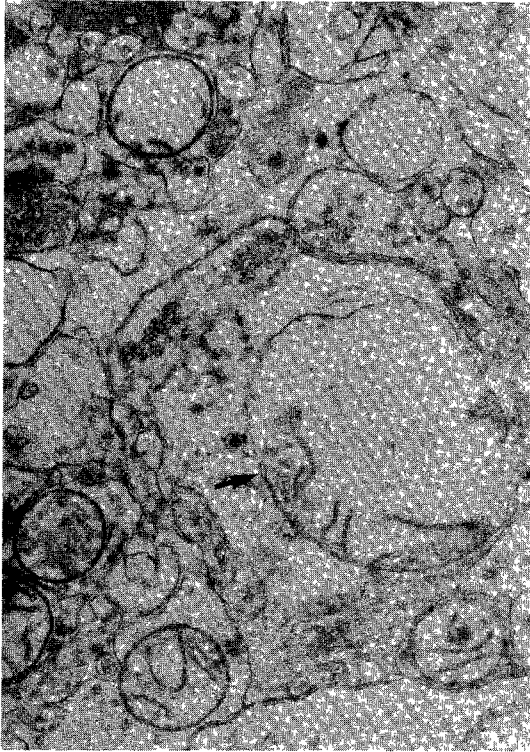


그림 5. Markedly swollen mitochondria with peripherally placed, disintegrating and disoriented cristae.



그림 6. Slightly swollen mitochondria, but relatively well preserved cristae in number and shape.

술도입으로 허혈성 뇌질환에 대한 실험 및 임상적인 연구가 진행되어 점차 양호한 치료결과가 보고 있으나, 아직도 급성기의 증상은 비슷할 지라도 개체간의 차이가 심하여 그 예후 또한 예측이 어려우며, 개체간의 변화가 심하다. 이미 1935년 Strully 등²¹⁾은 허혈성 뇌질환에 대한 외과적 치료를 보고하였으며, 경동맥 내막절제술은 30년전부터 수행되어왔고, 1967년 Yasargil²²⁾은 인체에서 상측두동맥과 중대뇌동맥 문합술의 성공으로 신경외과 영역에서는 허혈성 뇌질환에 대한 외과적 치료가 수행되고 있으나 아직도 그 성적 및 예후는 보조적 치료보다 월등하지 못한 실정이다.

뇌세포들은 대사적으로 균질하지 못하므로 저산소상태에 대한 뇌세포들의 감도는 다르다. 저산소증에 대해 신경세포가 가장 민감하며 다음으로 핏지신경교세포, 성상세포순이며, 소교세포가 저산소증에 가장 강하다²³⁾. 이러한 사실은 신경세포가 신경교세포들보다는 대사작용이 왕성함을 의

미한다. 그러나 신경세포들 간에서도 대사활성도는 달라 저산소증 및 저혈당증에 대하여 특히 손상받기 쉬운 부위는 해마(hippocampus), 선조체(striatum), 방정중의 대뇌피질²⁴⁾로서 중 "선택적 취약성(selective vulnerability)"²⁵⁾이 높은 부위이다.

뇌 energy 대사에 대한 생화학적 연구는 Lowry에 의하여 연구되기 시작하였으며, 극히 최근에는 Siesjö²⁶⁾²⁶⁾ 및 Kogure 등²⁸⁾²⁹⁾의 업적이 괄목할 만하다.

뇌는 energy 저장능력이 적기 때문에 뇌허혈상태가 5분 내지 7분이상 지속되면 뇌세포의 ATP 함량은 무상태로 되어 뇌는 비가역적 손상이 발생한다는 사실은 명백히 알려져 있으나²³⁾, Hosmann과 Kleihues³⁰⁾가 보고한 바와 같이 완전허혈상태가 국소허혈상태에서 보다 재관류시 energy 대사가 덜 손상된다는 사실로 미루어보아 허혈로 인한 뇌신경세포들의 취약성은 전적으로 energy 공급의 고갈에 의한 것이라고만 설명될 수 없을

것으로 사료된다.

1970년대초 Demopoulos 등¹⁸⁾은 허혈로 인한 뇌 손상의 가장 중요한 기전은 유리기 유출에 의한 지방과산화작용에 의한 것이라고 시사하였다. 허혈상태가 시작되면 산소나 ATP함량이 저하되지만, 초기에는 Na^+ , K^+ -ATPase활성의 일시적인 증가로 Na^+ , Ca^{2+} 교환운반으로 Ca^{2+} 항상성은 유지되나 종국에 세포내 Ca^{2+} 양은 증가된다. 이와 더불어 저산소증은 뇌사립체의 산원(redox)이 감소하여 $[\text{H}^+]$ - $[\text{OH}^-]$ 경사도는 더 이상 유지되지 않아 Ca^{2+} 의 세포질속으로 유출이 증가되어 phospholipase A_2 효소를 활성화하여 세포막 인지질을 분해하여 유리지방산 즉 arachidonic acid 형성을 증가시키고³¹⁾ arachidonic acid는 prostaglandin 및 leukotrienes로 전환되어 혈관활성작용³²⁾으로 혈류량은 더욱 감소하게 되어 비가역적 손상을 야기시킨다. 또 허혈상태동안 ATP³³⁾ 부족으로 reacylation이 억제되어 유리지방산이 증가된다. 유리지방산은 ① 뇌사립체 호흡활성을 억제하여 산화인산화작용이 부족하게 되며, ② 뇌부종을 발생시키며³⁴⁾, ③ 유리기로 인하여 자가산화되어 alkyl기, alkoxy기, peroxy기 및 hydroperoxide 등으로 되거나 또는 지방과잉산화의 기질로 되어 즉 생리학적으로 활성물질로 변화되어 허혈성 뇌손상을 더 악화시킨다. 이러한 유리기들은 특히 재판류초기 즉 재산화기에 발생한다. 중대뇌동맥을 폐쇄시킨 실험동물에서 중대뇌동맥 영역의 혈류량은 정상의 20~50%가 유지되므로, energy 대사장애는 수 시간에 걸쳐 서서히 진행되고, 2~3시간 내에 재판류시키며 영구적인 병소는 방지될 수 있다.

따라서 본 실험에서 이용된 실험모형은 고양이의 우측 중대뇌동맥기시부를 4시간동안 급격히 폐쇄시킨 후 2시간 재판류시켜 불완전 허혈상태를 유발시킨 실험모형으로서, 인체에서 급성적으로 중대뇌동맥의 색전으로 인한 뇌경색발생환자에서 뇌손상발생기전을 연구함으로써 향후 치료에 공헌할 목적으로 본 실험을 수행하였다.

중대뇌동맥을 폐쇄한 실험군에서 지방과산화합량은 수술대조군의 그것보다 67.0% 증가하였으며

2시간동안 재판류시킨 군에서는 수술대조군보다 46.0% 증가되고, 폐쇄군보다는 12.6%감소하였다. 이러한 사실은 고양이의 중대뇌동맥을 4시간동안 폐쇄시키면 유리지방산의 형성이 증가되어 유리기반응으로 지방과산화작용이 증가되어 비가역적인 뇌손상이 유발됨이 시사되어지며, 또 재판류후엔 ATP생산이 증가되어 reacylation 활성의 증가와 유리지방산이 정맥계로 청정되어 유리지방산이 유리기반응의 기질로 사용되어져 지방과산화작용에 의하여 leukotiene, prostaglandin, thromboxane A_2 와 prostacyclin과 같은 eicosanoids 형성의 증가²⁴⁾로 유리지방산양이 감소되는 기전으로 시사된다.

본 실험의 cytochrome C oxidase활성치가 폐쇄군에서는 대조군의 그것에 비해 39.4% 감소하였으며, 재판류군에서는 대조군의 63.6%로 폐쇄군에 비하여 4.9% 증가하였다. 또 전자현미경적 사립체 미세구조 관찰결과 폐쇄군에서는 사립체의 심한 부종과 능들이 위축되어 사립체변방부로 전이되어 있었으며, 재판류군에서는 폐쇄군에 비해 크게 호전된 양상은 관찰되지 않았다.

이러한 사실은 허혈상태동안 형성된 arachidonic acid는 결국 유리기반응에 의하여 지방과잉산화작용등으로 사립체의 내막을 파괴시키고²⁴⁾ 또 유리지방산은 뇌사립체의 호흡활성을 억제시켜²⁴⁾ 산화인산화작용이 억제되는 악순환으로 뇌조직의 비가역적 손상이 발생됨을 시사한다. 그러나 이와 같이 생화학적 자료와 사립체 미세구조의 변화양상이 일치하지 않는 것은 마치 허혈상태후 재판류결과 뇌 energy대사변화치와 뇌기능의 지표인 전기생리학적 회복과 일치하지 않는 것과 흡사하며, 이것은 상당시간 재판류후에도 허혈상태동안 축적된 gamma-aminobutyric acid, alanine 및 ammonia와 같은 물질들이 남아있는 상태 또는 뇌 허혈상태후 부종발생의 직접적 원인인 유리기 및 유리지방산 증가뿐 만 아니라 2차적 병리기전인 세포괴사에 의하여 생산된 glutamate⁶⁾가 유리지방산증가와 함께 세포막의 Na^+ 에 대한 투과성을 증가시키는 기전, 혈소판에서 유리된 serotonin⁷⁾과 kallikrein-kininogen-kinin계⁸⁾에 의한 세포흡수

작용증가와 전모세혈관분절의 마비등이 함께 작용하는 것으로 사료되며, 향후 이 분야에 대해서는 더 연구가 이루어져야할 것이다.

Steroid는 뇌부종치료제로 1961년 Galiwch와 French³⁵⁾에 의하여 처음 쓰인 이래 현재까지 알려진 중추신경방어에 대한 steroid의 주약리작용은 세포막과 lysosomal막의 안정화로 뇌-혈관관문유지¹¹⁾¹²⁾, 뇌대사작용의 개선과 전해질의 이동의 영향으로 부종강소¹⁴⁾¹⁵⁾, 뇌척수액생성을 억제하여 두개내압감소³⁶⁾ 및 국소뇌혈류개선³⁷⁾³⁸⁾ 등에 의한 것이다.

중대뇌동맥 폐쇄후 30분에 MP 15mg을 정주후 4시간 폐쇄후 2시간 재관류시킬 때까지 1시간 30분마다 동량을 정주한 후 지방과인산화합유량은 수술대조군의 88.7%로 의의있게 감소하였으며, cytochrome C oxidase 활성도는 수술대조군의 114.9로 의의있게 증가하였고, 전자현미경을 통한 사립체 미세구조도 약간의 사립체 부종을 보여주나 사립체능 및 내핵들이 다른 실험군들에 비하여 잘 보존되어 있었다. 이와 같이 MP의 급성 국소허혈성 부종에 대한 생화학적 및 미세구조적 실험 data가 우수하게 인지되었으나, 전술한 MP 작용증 어느 기전에 의해서인지는 본 실험만으로 추구할 수는 없었고, 향후 더 뇌혈류측정, 신경생리학적인 뇌의 기능등을 종합하여 더 연구검토될 것으로 사료된다.

현재까지 뇌경색증의 치료제로 mannitol³⁹⁾, Pefluochemical²⁹⁾ 투여 또는 이를 병합투여⁴⁰⁾ 하거나, Calcium 수용차단제등⁴¹⁾⁴²⁾을 투여, Barbiturate 투여⁴³⁾⁴⁴⁾, phenytoin⁴⁵⁾⁴⁶⁾ 또는 Indomethacin 투여등의 뇌방어약제를 투여하여 뇌허혈성 부종 치료제의 효과에 대하여 평가, 권고하고 있으나 아직도 실험적으로 만족한 상태에 지나지 않고 있는 실정이다.

최근 Suzuki²⁴⁾는 삼투압성 이노제인 20% Mannitol 500ml에 Vitamin E(α -tocoperol) 500mg과 phenytoin 500mg이나 또는 phenytoin 대신 dexamethasone 50mg을 배합한 새로운 뇌방어 약제를 Sendai cocktail이라 명명한 후 많은 뇌경색 급성기에 투여하는 실험적 연구들에서 좋은 결과를 보

고하고, 실제 임상에서의 투여결과 어느 약제보다 좋은 결과를 얻었다고 보고하고 있어 주목이 되고 있다.

결 론

오늘날 순환기계통의 질환은 전체 사망율의 48%나 차지하여 이중 뇌혈관계질환은 이중 13%나 점유하고 있다. 인간의 평균수명의 연장과 더불어 뇌경색증으로 인한 사망률은 뇌출혈에 의한 사망률보다 증가되고 있는 추세로서, 뇌경색증은 인간의 건강을 해치는 중요한 병으로 등장하게 되었다. 또 뇌의 완전히혈상태보다 국소허혈상태는 더 심한 비가역적 뇌손상을 남긴다. 이에 저자는 고양이의 중대뇌동맥 기시부를 4시간동안 급격히 폐쇄시킴에 의한 급성 국소뇌허혈상태를 유발시킨 후 중대뇌동맥을 폐쇄시킨 폐쇄군, 폐쇄후 2시간동안 재관류시킨 재관류군, 그리고 MP(15mg/kg)를 투여한 치료군으로 나누어 과잉지방산화합량, Cytochrome C oxidase활성도와 사립체의 전자현미경학적 미세구조를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Cytochrome C oxidase 활성도와 lipid peroxidation 함량

실험대조군의 Cytochrome C oxidase 활성치는 $91.58 \pm 22.63 \mu\text{mole/mg protein/hr}$, 그리고 lipid peroxidation 함량은 $3.91 \pm 0.44 \text{ nmoles of maloridialdehyde/mg protein/30min}$ 이었다. 폐쇄군의 Cytochrome C oxidase 활성치는 $55.49 \pm 21.32 \mu\text{mole/mg protein/hr}$, lipid peroxidation 함량은 $6.53 \pm 2.12 \text{ nmoles of maloridialdehyde/mg protein/30min}$ 로 각각 실험대조치의 60.6% 및 167.0%를 보였으며, 재관류군에서는 Cytochrome C oxidase 활성치는 실험대조군치의 63.5%로 $58.23 \pm 23.23 \mu\text{mole/mg protein/hr}$, lipid peroxidation 함량은 $5.71 \pm 0.74 \text{ nmoles of maloridialdehyde/mg protein/30min}$ 로 실험대조군치의 146.0%로 증가하였고, Steroid 치료군에서의 Cytochrome C oxidase 활성치는 $105.30 \pm 26.96 \mu\text{mole}$

/mg protein/hr, lipid peroxidation 함량은 3.47 ± 1.66 nmoles of malondialdehyde/mg protein/30 min 로 각각 실험대조군의 154.9%로 유의있는 증가와, 88.7%의 유의있는 감소를 보였다.

2. 사립체의 전자현미경적 미세구조 변화소견

실험대조군에서는 사립체의 내외막과 횡방향으로 놓인 능(crista)이 잘 관찰되며, 사립체간의 접합을 보여주었다. 중대뇌동맥 폐쇄군에서는 전반적으로 사립체의 부종의 일반적 소견을 있어, 즉 사립체내의 능이 주변으로 전이됨과 동시에 위축되었으며 배열의 방향이 상실되었고, 재관류군에서는 폐쇄군과 유사한 소견으로 세포핵 주위부의 사립체능들이 손상되어 투명한 양상을 보이며 핵은 손상되어 있었다. MP 치료군에서는 사립체의 부종을 보여주나 실험대조군에 비해서도 사립체 능이 불완전하지만 다른 실험군들보다는 잘 보존되어 변화소견이 경미하게 관찰되었다.

이상의 사실들은 뇌허혈상태가 발생하면 유리지방산의 형성으로 유리기반응으로 인하여 지방과잉산화작용이 증가되어 사립체내막을 파괴, 호흡활성을 억제시켜 산인산화작용이 중지되어 비가역적인 뇌손상이 발생하는 것으로 사료된다. 재관류후에는 ATP 생산이 증가되어 reacylation활성이 증가하여 유리지방산이 청정되어져 유리기반응의 기질로 이용되어 leukotriene, prostaglandin, thromboxane A₂, prostacyclin과 같은 eicosanoids 형성이 증가되어 유리지방산양이 감소되어 지방과잉산화함유량의 감소 및 Cytochrome C oxidase활성도증가가 이루어지는 기전으로 시사되어진다.

그러나 재관류후에 생화학적 자료와 사립체 미세구조의 변화양상이 일치하지 않는 것은 재관류후에도 허혈상태동안 축적된 gamma-aminobutyric acid, alanine 및 ammonia와 같은 화학물질이 남아있음에 의하거나, 허혈상태후 부종발생의 직접적 원인으로 사료되는 유리기반응에 의한 유리지방산증가 뿐만 아니라, 2차적인 병리기전이 함께 작용하는 것으로 사료되어 이 분야에 대해 더 실험적 연구가 이뤄져야할 것으로 사료된다.

MP 투여후 지방과잉산화함량, Cytochrome C oxidase활성도등의 생화학적인 자료와 뇌사립체 미세구조 관찰결과가 우수하게 나타난 사실에 대해서도 이제까지 밝혀진 MP의 어느 작용기전에 의해서인지는 향후 뇌 혈류량 측정, 뇌 산소소비량 측정 및 신경생리학적인 뇌의 기능등을 종합 평가해야할 것으로 사료되는 바이다.

REFERENCES

- 1) Shaller CA, Jacques S, Shelen CH: *The pathophysiology of stroke. A review with molecular considerations, Surg Neurol, 1980;14:433-443*
- 2) Siesjö BK: *Ischemia. In: Siesjö BK (ed). Brain energy metabolism, Williams and Wilkins, Baltimore, 1979;453-526*
- 3) Siesjö BK: *Cell damage in the brain. A speculative synthesis, J Cereb Blood Flow Metab, 1981;1:155-185*
- 4) Astrup J, Sörensen PM, Sörensen HR: *Oxygen and glucose consumption related to Na⁺-K⁺ transport in canine brain Stroke, 1981;12:726-730*
- 5) Lazarewicz JW, Strosznajder J, Gromeck A: *Effects of ischemia and exogenous fatty acids on the energy metabolism in the brain mitochondria, Buff Acad Pol Sci Clin Sci, 1972;20:599-606*
- 6) Maier-Hauff K, Lange M, Shcuerer L et al: *Glutamate and free fatty acid concentrations in extracellular vasogenic edema fluid. In: Go KG (eds) Recent progress in the study and therapy of brain edema, Plenum, New York London, 1984;183-192*
- 7) Spatz M, Go KG, Klatzo I: *Monoamine neurotransmitter change vascular permeability in cerebral ischemia, Ann Neurol, 1980; 10:273-279*
- 8) Hirano A: *Fine structure of edematous encephalopathy. Adv Neurology, 1980; 28:83-97*
- 9) Demopoulos HB, Flamm ES, Seligman ML: *Antioxidant effects of barbiturates in model membranes undergoing free radical damage.*

- Acta Neurol Scand [Supp?], 1977;56: 152-153*
- 10) Demopoulos HB, Flamm ES, Seligman ML: *Membrane perturbations in central nervous system injury; theoretical basis for free radical damage and a review of the experimental data. In: Popp AJ (eds). Neural trauma, Raven Press, New York, 1979; 63-78*
 - 11) Busuttill RW, George WJ, Hewitt RL: *Protective effect of methylprednisolone on the heart during ischemic arrest. J Thorac Cardiovasc Surg, 1975;70:955-965*
 - 12) Santiago Delpin EA, Figueroa I, Lopez R: *Protective effect of steroids on liver ischemia. Am Surg. 1975;41:683-695*
 - 13) Bangham AD, Standish MM, Weissman G: *The section of steroids and streptolysin S on the permeability of phospholipid structures to cations. J Mol Biol, 1965;13:253-259*
 - 14) Emerson TE Jr, Bryan WJ: *Regional cerebral blood flow in endotoxin shock with methylprednisolone treatment. Proc Soc Exp Biol Med, 1977;156:378-381*
 - 15) Emerson TE Jr, Raymond RM: *Methylprednisolone in the prevention of cerebral hemodynamic and metabolic disorders during endotoxin shock in the dog. Surg Gynecol Obstet, 1979;148:361-366*
 - 16) Laha PK, Dujovny M, Barrionuevo PJ, Decastro SC, Hellstrom HR, Maroon JC: *Protective effects of methylprednisolone and dimethylsulfoxide in experimental middle cerebral artery embolotomy. J Neurosurg, 1978;49:508-516*
 - 17) Demopoulos HB, Flamm E, Ransohoff J: *Molecular pathology and CNS membranes. In Jöbsis FF (ed). Oxygen and physiological Function. 60th FASEB Annual Meeting. Dallas, Professional Information Library, 1977*
 - 18) Demopoulos HB, Milvy P, KaKari S: *Molecular aspects of membrane structure in cerebral edema, in Reulen HJ, Schurmann K (eds). Steroids and Brain Edema. Berlin/Heidelberg/New York, Springer-Verlag, 1972;29-39*
 - 19) Hess HH, Pope a: *Ultramicrospectrophotometric determination of cytochrome oxidase for quantitative histochemistry. J Biol Chem, 1953;204:295-306*
 - 20) World health statistics annual, WHO, Geneva, 1983
 - 21) Strully KJ, Hurwitt ES, Blankenberg HW: *Thrombo-endarterectomy. For thrombosis of the internal carotid artery in the neck. J Neurosurg, 1953;10:474-481*
 - 22) Yasargil MG: *Anastomosis between the superficial temporal artery and a branch of the middle cerebral artery. In: Yasargil MG (ed) Microsurgery applied to neurosurgery. Thieme, Stuttgart, 1969;105-115*
 - 23) Nordström CH and Siesjö BK: *Cerebral Metabolism, Youmans Neurological Surgery. 3rd ed. Philadelphia, London, Toronto, Mexico city, Sydney, Tokyo. W.B. Saunders Co, 1982;2:765-385*
 - 24) Suzuki J: *Treatment of Cerebral Infarction. Experimental and Clinical Study. Wien. New York. Springer-Verlag, 1987;1-380*
 - 25) Schade JP, McMenemy WH: *Selective Vulnerability of the Brain Hypoxemia. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1963*
 - 26) Siesjö BK: *Brain energy metabolism. John Wiley, New York, 1978*
 - 27) Siesjö BK: *Cell damage in the brain: a speculative synthesis. J Cereb Blood Flow Metab, 1981;1:155-185*
 - 28) Kogure K, Scheinberg P, Kishikawa H: *Adrenergic control of cerebral blood flow and energy metabolism in the rat. Stroke, 1979;10:179-184*
 - 29) Kogure K, Watson BD, Rusto R: *Potentiation of lipid peroxides by ischemia in rat brain. Neurochem Res, 1982;7:437-454*
 - 30) Hossmann, KA, Kleihues, P: *Reversibility of ischemic brain damage, Arch Neurol Chicago, 1973;29:375-382*
 - 31) Berridge MJ: *A novel cellular signaling system based on the integration of phos-*

- pholipid and calcium metabolism. In: Cheung WY (ed) Calcium and cell function. Academic Press, New York, 1982;III:1-36*
- 32) Wieloch T, Sjesjo BK: *Ischemic brain injury. The importance of calcium, lipolytic activities, and free fatty acids. Pathol Biol, 1982; 30:269-277*
 - 33) Bazan NG, Rodriguez de Turco EB: *Membrane lipids in the pathogenesis of brain edema: phospholipids and arachidonic acid, the earliest membrane components changed at the onset of ischemia. In: Cervos-Navarro J, Ferszt R (eds) Brain edema. Advances in neurology, 1980;197-205*
 - 34) Chan PH, Fishman RA: *Brain Edema: Induction in cortical slices by polyunsaturated fatty acid. Science, 1978;201: 358-360*
 - 35) Galicich JH, French LA, Melby JC: *Use of dexamethasone in treatment of cerebral edema associated with brain tumors. Lancet, 1961;81:46-53*
 - 36) Maxwell RE, Long DM, French LA: *The effects of glucosteroids on experimental cold induced brain edema. Gross morphological alterations and vascular permeability changes. J Neurosurg, 1971;34:477-487*
 - 37) Little JR: *Modification of acute focal ischemia by treatment with mannitol and dexamethasone. J Neurosurg, 1978;49: 517-524*
 - 38) Chan FH, Fishman RA: *Phospholipid degradation and the early release of polyunsaturated fatty acids in the resolution of brain edema. In: Go KG (eds) Recent progress in the study and therapy of brain edema. Plenum, New York London, 1984;193-203*
 - 39) Watanabe T, Yoshimoto T, Ogawa A: *The effect of mannitol in preventing the development of cerebral infarction. An electron microscopical investigation. No Shinkei Geka, 1979;7:859-866*
 - 40) Suzuki J, Yoshimoto T, Kodama N: *A new therapeutic method for acute brain infarction. Revascularization following the administration of mannitol and perfluorochemicals-a preliminary report. Surg Neurol, 1982;17:325-332*
 - 41) Edvinsson L, Brandt L, Anderson KE, Bengtsson B: *Effect of a calcium antagonists on experimental constriction of human brain vessels. Surg Neurol, 1979; 11:327-330*
 - 42) Fujisawa A, Matsumoto M, Matsujama T, Ueda H, Wanaka A, Yoneda S, Kimura K: *The effect of the calcium antagonist Nimodipine on the Gerbil model of experimental ischemia. Stroke, 1986;17(4):748-752*
 - 43) Smith AL, Hoff JT, Nielsen SL: *Barbiturate protection in acute focal cerebral ischemia. Stroke, 1974;5:1-7*
 - 44) Spetzler RF, Selman WR, Roski RA: *Cerebral revascularization during barbiturate coma in primates and humans. Surg Neurol, 1982;17:111-115*
 - 45) Artru AA, Michenfelder JD: *Cerebral protective, metabolic, and vascular effects of phenytoin. Stroke, 1980;11:377-382*
 - 46) Shiu GK, Nemoto EM, Nemmer J: *Dose of thiopental, pentobarbital and phenytoin for maximal therapeutic effects in cerebral ischemic anoxia. Crit Care Med, 1983;11: 452-459*