

급성 국소 허혈성 뇌부종에 대한 Mannitol과 Methylprednisolone의 방어효과

이화여자대학교 의과대학 신경외과학교실

신 규 만

= Abstract =

The Protective Effect of Mannitol and Methylprednisolone in the Acute Focal Cerebral Ischemia in Cats

Kyu Man Shin

Department of Neurosurgery, College of Medicine, Ewha Womans University

It is the purpose of the this experimental study to investigate the protective effect of pretreatment of mannitol and methylprednisolone(MP) on the changes of the high-energy metabolites (nucleotides ; derivatives of adenosine, guanosine, uracil and cystosine) and adenylate energy charge in the brain tissue of the cats. The experimental animals were divided into three groups. Group I was the sham control groups that the postorbital approach was performed but no occlusion of MCA. Group II was the recirculation group that of 2-hour recirculation after the occlusion of the middle cerebral artery(MCA) via the postorbital approach. Group III was that of pretreatment of the combination of mannitol(29mg/kg) and MP(3mg/kg) at 30 minutes before occlusion of the MCA and then every one and a half hours during the 5-hour occlusion and 2-hour recirculation.

The experimental results are as follows.

1) Adenosine derivatives : In group III ATP was significantly increased to 622.9% , ADP significantly increased to 154.81% , AMP reduced 68.05% and total adenosine nucleotides increased to 103.63% of the values of group II.

2) Adenylate energy charge(E.C.) : In group III E.C. was recovered to 82.66% and increased to 206.66% of the values of group II.

3) Guanosine derivatives : In group III GTP was significantly increased to 554.03% , GDP increased to 96.61% and GMP reduced to 62.71% of the values of the group II.

4) Uracil derivatives : In group III UTP and UDP was significantly increased to 470.37% , and 300.64% respectively and UMP was reduced to 91.7% of values of group II.

5) Cytosine derivatives : In group III CTP was increased to 133.33% , CDP reduced to 90.0% and CMP increased to 119.03% of values of group II.

These above results suggested that pretreatment of mannitol and MP have a protective effect on the acute focal cerebral ischemia when given prior to the onset of the ischemia by the stabilization of the energy regulation and maintenance of a higher level of adenylate E.C.

서 론

실제 임상에서 심장 정지, 심한 속(shock), 뇌 또는 뇌주막하 출혈, 뇌 외상 및 종양으로 인한 두개내압 상승등 많은 질환들은 정상적으로 뇌대사기능을 유지할 수 없을 정도로 뇌혈류를 감소시켜 뇌 허혈상태를 초래한다. 뇌혈류가 임계치이하로 감소하면 허혈상태의 뇌조직내 ATP상실, $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ 운반기능 부전으로 Na^+ , K^+ 이온들의 누출로 세포외강내 K^+ 의 축적이 발생되고 유산증가, Ca^{2+} 세포내 유입, 세포막의 탈분극 및 세포외강의 축소등으로 악화되어 궁극에는 세포막이 파손되어 허혈상태의 뇌세포들은 비가역적 손상상태로 된다¹⁴⁾.

그간 실험보고들에 의하면 허혈로 인한 병리생리학적 변화는 2단계의 혈류량의 역치에 따라 이루어진다고 한다. 즉, 허혈 혈류역치(ischemic flow threshold)의 제 1단계에 이르면 energy대사장애로 ATP가 고갈되어 신경세포 접합부의 과립들대로 신경전달물질을 유지시키지 못하여 신경전달물질 상실로 신경세포 연결전달이 억제되나, 이때까지는 혈류공급이 개선되면 호전될 수 있는 가역적 상태이다. 제 2단계 역치까지 혈류가 감소되면 고-energy인산염들이 고갈되어 세포내 ion들의 균형은 유지되지 못하여 궁극에는 신경세포막 파손까지 초래되는 비가역적 손상상태로 빠지고 만다.

실제 임상에 있어서 ischemic flow threshold는 매우 중요한 의의가 있다. 신경연접전달 기능부전이 발생시키는 제 1단계 역치직상의 뇌혈류량에서는 신경기능수행 장애가 나타나며, 신경세포손상이 초래되는 제 2단계 역치이하의 뇌혈류량에서는 뇌경색이 초래된다. 따라서 뇌혈류량이 이상의 양단계 사이로 유지될때는 혈류장애가 있는 뇌조직내의 기능적으로는 비활성적이나 조직의 생명력이 유지된 소위 명암선반영 새(zone of penumbra)가 존재하게 된다¹⁾. 따라서 주요 뇌혈관의 폐쇄로 발생한 급성 국소허혈성 뇌졸중 환자에서 혈류를 재통시켜 국소

혈류량을 증가시키는 치료의 목적은 이러한 penumbra부위를 경색발생으로 부터 수호하는 데 있다.

특히, 뇌는 무게가 신체의 체중의 2%에 불과하나 뇌혈류량은 심박출량의 약 15%, 그리고 산소 소모량은 신체 총산소소모량의 약 20%로 고도의 대사작용을 유지하므로⁵⁾ 허혈상태에 대하여 매우 민감하다. 더욱이 현재까지 급성적으로 허혈성 뇌졸중이 발생한 환자에서 아직도 뇌의 비가역적 손상으로 부터 뇌를 보호하는 치료방법은 명확히 정립되어 있지 않다.

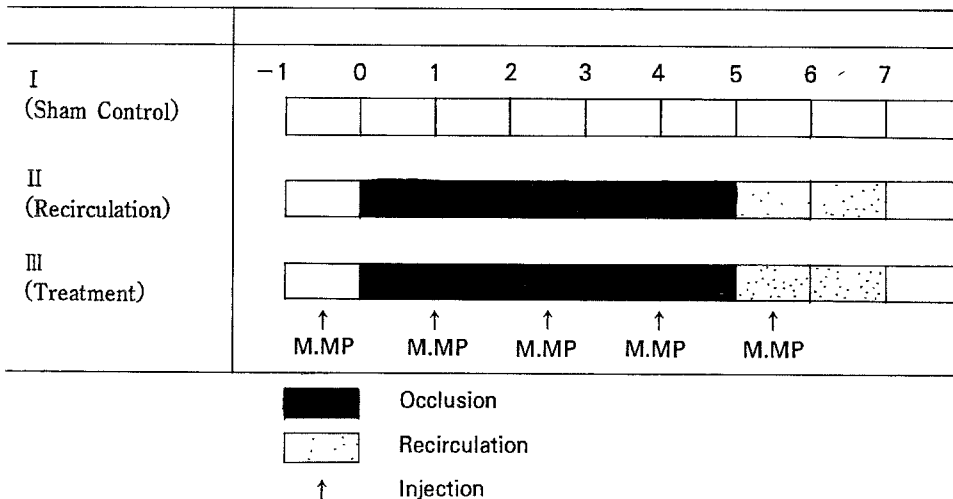
저자는 중대뇌동맥을 3시간 및 5시간 폐쇄하고 2시간 재관류시킨 실험모형을 이용하여 고삼투질 농도에 의한 탈수⁶⁾⁻⁹⁾, 고용적성 혈액희석⁷⁾⁸⁾¹⁰⁾¹¹⁾ 및 혈액점성 감소¹²⁾의 약리작용으로 특히 허혈초기에 발생하는 세포독성부종에 유효한 20% mannitol과 허혈발생 개시전에 투여하면 허혈세포로부터 arachidonic acid유리를 방어하고¹³⁾ 또 혈액-뇌관문 안정화⁴⁾ 약리작용으로 허혈부종 후기에 발생하는 혈관인성 부종에 유효한 steroid제제인 methyl prednisolone(MP)을 고양이의 중대뇌동맥 폐쇄 30분전에 각각 mannitol(2 gm/kg)과 MP(30 mg/kg)를 정주한 후 1시간 30분마다 반복투여한 후 뇌조직내의 energy화합물인 nucleotides함량의 변화를 관찰한 결과를 연구분석하여 급성 허혈성 뇌졸중 환자에서 비가역적 뇌손상으로 부터 뇌를 방어에 공헌할 목적으로 본 실험을 수행하였다.

실험재료 및 방법

실험동물은 체중 3.5~4.0kg의 성숙한 잡종고양이 25마리로 하였으며 Ketamine hydrochloride 15 mg/kg을 근육주사한 전신마취상태에서 실험대 위에 고정후 기관절개부를 통하여 분당 20회로 호흡을 유지하였으며 고양이의 체온을 36.8°C로 유지시키면서 실험중 동맥혈내의 산소 및 이산화탄소분압을 측정하면서 Berkelbach v. d. Sprenkel 등¹⁵⁾이 고안한 후안와 접근법에 의하여 좌측 안각의 5 mm 후방 안와돌기 위의 피부를 절개후 안면신경의 안와분지를 이동시

킨 후 안윤근을 근막과 근육으로부터 분리하여 내측으로 분리한 후 상하의 안와돌기들과 관골공의 상부 절반을 제거하였다. 천측두근 일부를 절제 후 측두근 심부 앞부분을 측두골로부터 이동시켜 하악골의 구상돌기에 인접된 부위에 절제 안와근막내의 눈과 측상방의 누선과 안근막주위의 안와주위 지방으로 구성된 안와내용물의 측방부를 완전히 시야에 노출시킨 후 안와주위 지방내에서 안근막을 절개되지 않도록 주의하면서 눈을 부드럽게 견축하고 익돌근의 내측부를 접형골익으로부터 이동시키면, 안와열과 시신경공을 골막하로 접근할 수 있다. 시신경공의 상부위의 골막을 제거후 전기천공기를 이용하여 시신경공의 측상부를 약 6mm 크기의 골절제술을 시행한 후 경막을 절개 후 뇌지주막을 조심스럽게 박리하여 경동맥과 중대뇌동맥을 확인 후 중대뇌동맥 기시부를 5×1.7mm 크기의 heifetz협자로 협자술을 시행하여 혈류를 차단시켰었다. 중대뇌동맥협자술 시행을 제외하고 상이와 같이 시술한 실험동물들을 수술대조군(sham control)으로서 제 1군으로 하였으며 3시간 및 5시간 동안 중대뇌동맥 폐쇄후 2시간 재관류시킨 실험동물들은 재관류군으로서 각각 제 II-a군 및 II-b군으로 나누었으며 체중 Kg당 2gm의 mannitol 및 30mg의 M.P.을 동맥폐쇄전 30분에 첫 정주한 후 1시간 30분간격으로 동맥폐쇄 및 재관류시킨 동안 병합으로 나누어 3시간 폐쇄후 2시간 재관류 시행한 재관류시행한 군을 III-b군으로 분류하였다(표 1).

Table 1. Experimental group



1. Nucleotides의 측정

25마리 고양이의 두피를 완전박리후 2.25cm²크기의 정사각형 모양으로 골절제술을 시행한 후, 약 1gm의 뇌조직을 적출 즉시 액체질소가 차있는 초자마쇄기속에 넣음으로서 급속냉각시킨 후 마쇄하여 분말을 만들었다.

조직분말 1gm에 5% PCA(perchloric acid) 1.5 ml를 가한 후 정량하였다. 이를 0°C에서 3분간 균등화시킨 후 5% PCA로 세척하여 0°C에서 30분간 방치후 원심분리관에 넣어 0°C에서 분당 10,000rpm으로 10분간 원심분리하였다. 상청액을 분리한 후 잔존한 압착결정에 조직용적에 해당하는 5% PCA를 가하였다. 이를 0°C에서 10분간 10,000rpm으로 원심분리하였다. 이때 얻어진 상청액을 전에 취한 상청액과 혼합하여 이중 2.5ml를 취하여 2M-KOH를 이용, pH가 7.0이 되도록 적정하였다.

다시 0°C 10,000rpm에서 5분간 원심분리후 상청액을 분리하여 sep-pak chromatography를 시행하였다. 본 연구에서 μ Bondapak C₁₈ column을 사용하였으며 Column은 매일 이차증류수와 70% mannitol로 세척한 후 70% methanol로 column을 채워두었다. 실험시행때 acetonitril과 PIC-A시약이 포함된 KH₂PO₄ 완충액(65nM, pH 3.2)으로 평형시켜야 한다. sepak용출액 20 μ l를 Hamilton syringe로 column에 주입하고 HPLC의 작동은 실온에서 실시하였다. 이때 유속은 1 ml/min, 1200 p.s.i.이었고 기록

Table 2. Levels of AMP, ADP, ATP and total adenylate

	AMP	ADP	ATP	Total Adenylate
Sham	3.17±0.65	7.05±0.34	14.52±0.83	24.74±4.71
5 O+2 R	6.26±1.76**	3.74±0.63****	1.57±0.25****	11.57±1.91***
5 O+2 R(M+MP)	4.26±0.11	9.53±0.25°°°°	9.77±0.95°°°°	23.56±2.54°°°°

Different from sham

**** P<0.001

*** 0.001<P<0.010

** 0.010<P<0.020

Different from recirculation group

°°°° P<0.001

Values, expressed as η mole/mg protein, are the means±S.D.

**** : Different from sham control with P<0.001

*** : Different from sham control with 0.001<P<0.010

** : Different from sham control with 0.010<P<0.020

°°°° : Different from recirculation group with P<0.001

Table 3. Levels of energy charge

	E.C.
Sham	0.75±0.03
5 O+2 R	0.30±0.05****
5 O+2 R(M+MP)	0.62±0.02

Different from sham

**** P<0.001

Values, expressed as η mole/mg protein, are the means±S.D.

**** : Different from sham control with P<0.001

기의 민감도 및 chart speed는 각각 10mV, 0.5cm/min이었으며 검출기의 파장은 254nm로 고정하고 a.u.f.s는 0.01이었다. Nucleotides함량의 단위는 뇌조직당 Lowry¹⁶⁾방법으로 단백질량을 정량하여 뇌단백 1mg당 η mole로 하였다.

실험 성적

각 실험군의 adenosine유도체들(derivatives)함량과 adenylate energy 대전(charge)(E.C)의 변화는 제 2, 3표 및 제 1, 2도에서와 같고 guanosine derivatives의 함량의 변화는 제 4표와 제 3도, cytosine derivatives의 변화는 제 5표와 제 4도 그리고 uracil derivatives는 제 6표와 제 5도에서와 같다.

1) Adenosine derivatives 함량

수술대조군(제 I군)의 ATP는 14.52±0.83η mole/mg protein, ADP는 7.05±0.34η mole/mg protein, AMP는 3.17±0.65η mole/mg protein 그리고 총 adenosine nucleotides는 24.74±4.17η mole/mg pro-

η mole/mg protein

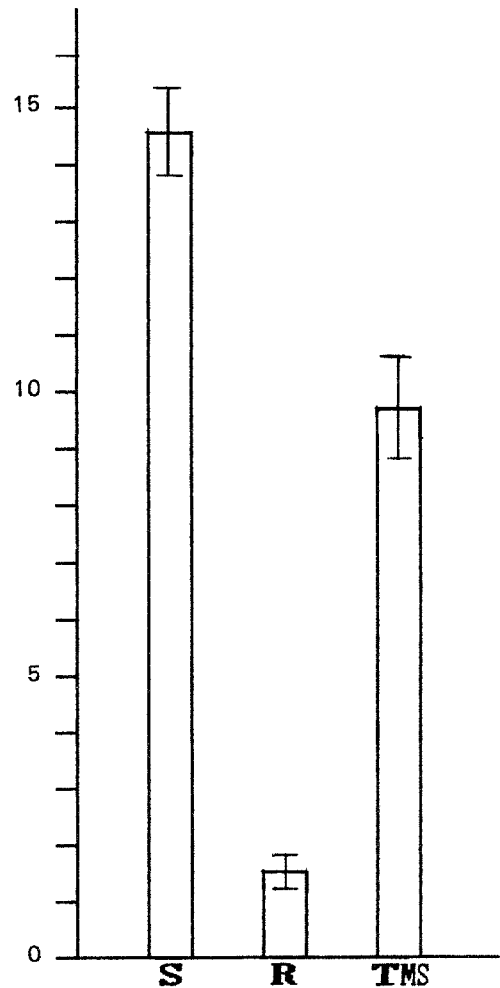


Fig. 1. Level of ATP.

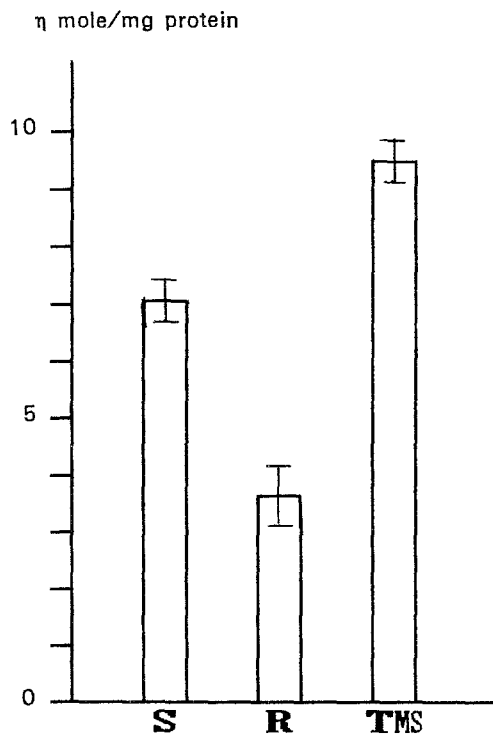


Fig. 2. Level of ADP.

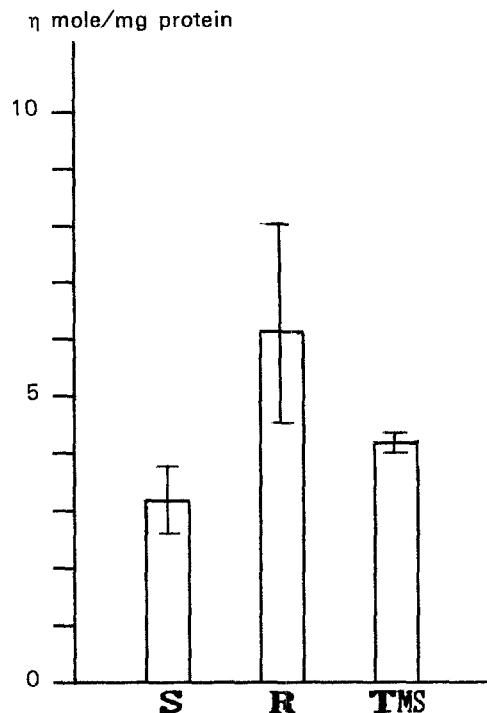


Fig. 3. Level of AMP.

Table 4. Levels of GMP, GDP, GTP

	GMP	GDP	GTP
Sham	0.32 ± 0.12	1.10 ± 0.54	10.17 ± 0.95
5 O+2 R	0.59 ± 0.13**	0.59 ± 0.19	1.61 ± 0.55****
5 O+ R(M+MP)	0.37 ± 0.16	0.57 ± 0.03	8.92 ± 1.28****

Different from sham

*** 0.001 < P < 0.010

** 0.010 < P < 0.020

Different from recirculation group

**** P < 0.001

Values, expressed as η mole/mg protein, are the means ± S.D.

*** : Different from sham control with 0.001 < P < 0.010

** : Different from sham control with 0.010 < P < 0.020

**** : Different from recirculation group with P < 0.001

Table 5. Levels of CMP, CDP, CTP

	CMP	CDP	CTP
Sham	4.23 ± 1.04	0.42 ± 0.26	0.44 ± 0.10
5 O+2 R	3.73 ± 0.79	0.30 ± 0.08	0.12 ± 0.03***
5 O+2 R(M+MP)	4.44 ± 0.61	0.27 ± 0.03	0.16 ± 0.04

Different from sham

*** 0.001 < P < 0.010

Values, expressed as η mole/mg protein, are the means ± S.D.

*** : Different from sham control with 0.001 < P < 0.010

tein이었다. 중대뇌동맥 5시간 폐쇄 후 2시간 재관류 한 제 II군에서 ATP, ADP는 제 I군보다 각각 89.2%,

46.96% 매우 유의있게 감소하였으며 AMP는 94.47% 유의있게 증가하였다. 총 adenosine nucleotides는 제 I군보다 53.24% 매우 유의있게 감소하였다.

중대뇌동맥 폐쇄 30분전부터 mannitol, MP를 첫 정주한 후 1시간 30분간격마다 반복 투여한 치료군(제 III군)에서는 ATP, ADP는 제 II군보다 각각 522.29%, 154.81% 매우 유의있게 회복함으로서 각각 제 I군의 67.28%, 254.81%에 해당되었으며 AMP는 제 II군보다 37.95% 감소하였으나 제 I군보다는 15.13

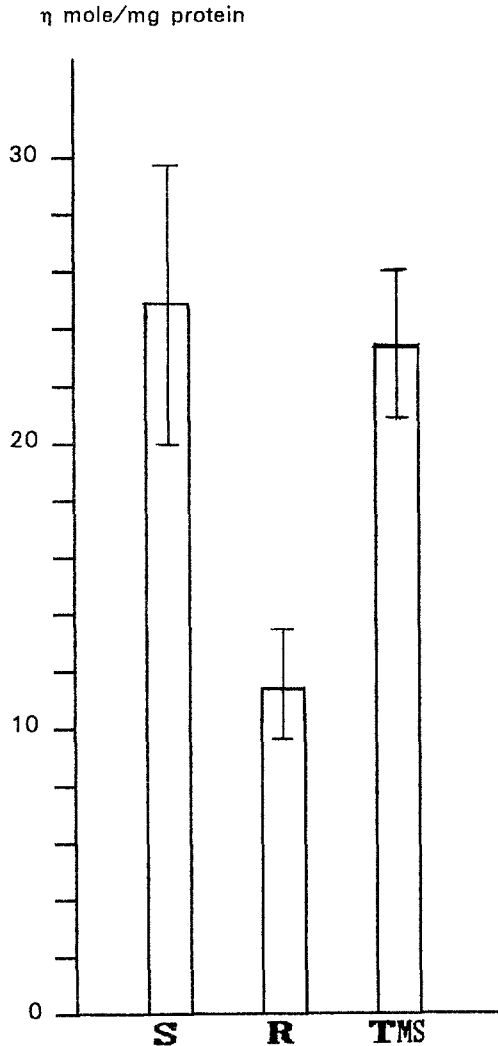


Fig. 4. Level of total adenylate.

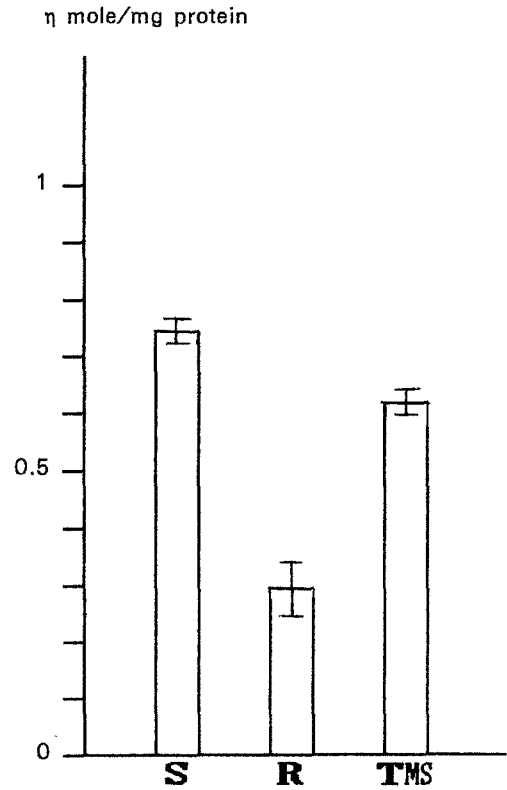


Fig. 5. Level of E.C.

Table 6 Levels of UMP, UDP, UTP

	UMP	UDP	UTP
Sham	0.43 ± 0.11	5.10 ± 0.65	1.94 ± 0.10
5 O+2 R	0.34 ± 0.08	1.55 ± 0.93****	0.27 ± 0.10****
5 O+ R(M+MP)	0.31 ± 0.07	4.66 ± 1.07 ^{ooo}	1.27 ± 0.53 ^{ooo}

Different from sham

**** P<0.001

Values, expressed as η mole/mg protein, are the means ± S.D.

**** : Different from sham control with P<0.001

^{ooo} : Different from recirculation group with 0.001<p<0.010

Different from recirculation group

^{ooo} 0.001<P<0.010

% 증가하였으나 의의는 관찰되지 않았다. 총 adenosine nucleotides는 제 II군보다 103.63% 매우 의의있게 증가하였으며 제 I군의 95.23%까지 회복을 보였다(표 2와 제 1, 2, 3,과 4도).

2) Adenylate E.C.의 변화

Energy대사의 기본적 조절척도인 adenylate E.C.는 ATP+ $\frac{1}{2}$ ATP를 AMP, ADP, ATP의 종합량으로 나누어 산출하였다.

제 I군에서 0.75 ± 0.03 , 제 II군에서는 0.30 ± 0.05 로 제 I군의 40.0%로 매우 의의있게 감소하였으며 제 III군에서는 제 I군의 82.66%까지 회복되었으며 제 II군보다는 106.66% 증가를 보였다(표 3과 제

5도).

3) Guanosine derivatives의 함량

제 I군의 GTP는 10.17 ± 0.95 η mole/mg protein이었으며 중대뇌동맥 폐쇄후 재관류시킨 제 II군에서는 제 I군보다 84.17% 매우 의의있게 감소하였고 제 III군에서는 제 I군의 87.70%까지 회복되었으며 제 II군보다는 454.03%나 의의있게 증가되었다. GDP는 제 II군에서 제 I군보다 46.37% 감소하였고 제 III군에서는 제 II군보다 3.39% 감소를 보였으나 의의성은 관찰되지 않았다. GMP는 제 II군에서 제 I군보다 84.37%의 의의있는 증가를 보였고 제 III군에서는 제 II군의 62.71%의 의의없는

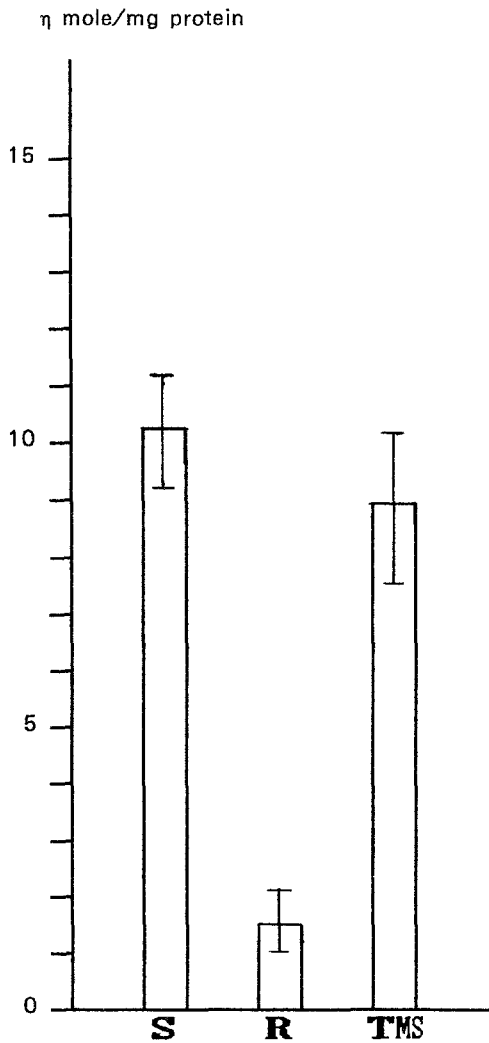


Fig. 6. Level of GTP.

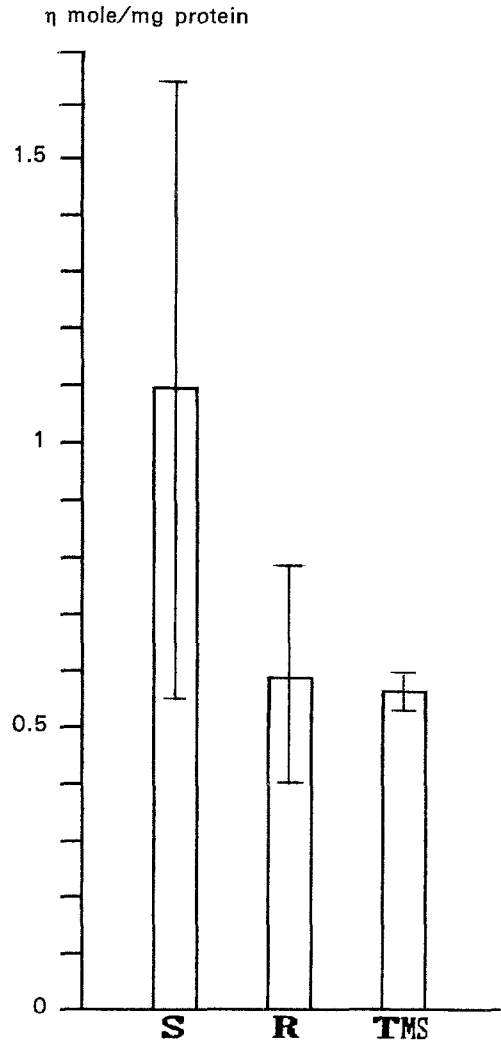


Fig. 7. Level of GDP.

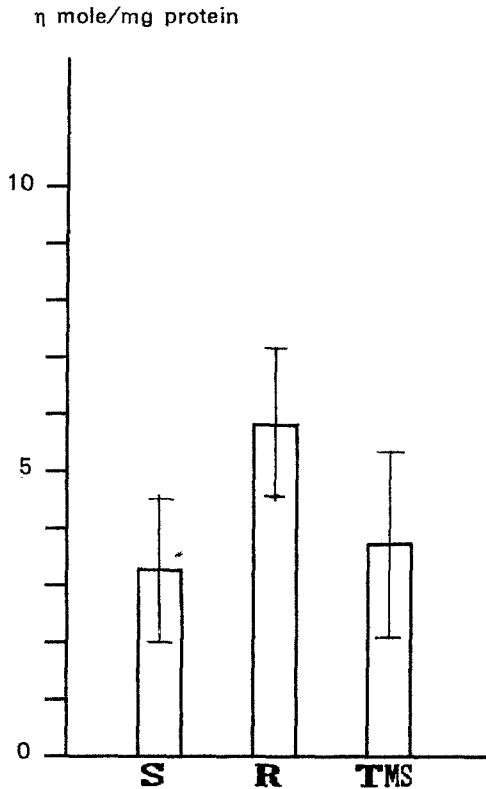


Fig. 8. Level of GMP.

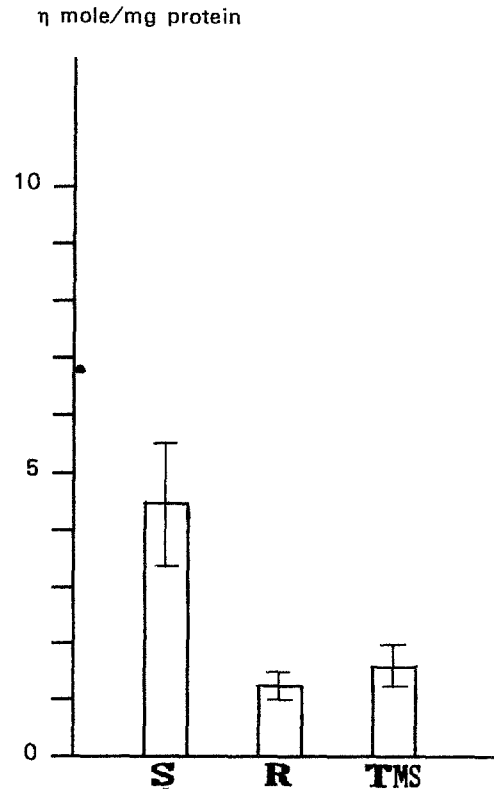


Fig. 9. Level of CTP.

감소를 보였다(표 4과 제 6, 7과 8도).

4) Cytosine derivatives

제 I군에서 CTP, CDP는 각각 0.44 ± 0.10 η mole/mg protein, 0.42 η mole/mg protein이었으며, 제 II군에서 CTP 및 CDP는 각각 제 I군보다 72.73%, 23.58%씩 감소를 보였으며, 제 III군에서는 제 II군보다 CTP는 33.33%, CDP는 10.00% 감소되었으나 통계학적 의의는 관찰되지 않았다. CMP는 제 II군에서 제 I군의 88.17%, 제 III군에서는 제 I군의 104.96%로 제 II군보다 19.03% 증가되었으나 역시 통계학적 의의는 관찰되지 않았다(표 5와 9, 10과 11도).

5) Uracil derivatives

제 II군에서 UTP, UDP는 제 I군의 13.91%와 30.39%로 매우 유의있게 감소하였으며 제 III군에서는 이들의 치들은 제 I군의 65.46% 및 91.37%로 제 II군보다 각각 370.37% 및 200.64% 유의있게 증가하였다. UMP는 제 III군에서 제 I군의 72.09

%로 감소, 제 II군보다 8.83% 감소를 보였으나 통계학적 의의는 없었다(표 6과 제 12, 13과 14도).

총괄 및 고안

완전 뇌허혈 발생후 즉시 뇌세포막 기능부전이 발생하나 임계시간내에 혈류가 재공급되면 뇌는 정상상태로 환원된다. 반면 국소 뇌허혈상태에서는 뇌세포막 기능부전은 허혈부위의 잔류관류량에 따라 결정된다. 더욱이 혈류량이 신경연접 전달기능부전을 초래시키는 ischemic-threshold¹⁷⁾와 세포막 손상을 초래하여 경색이 발생할 수 있는 ischemic threshold치 사이의 범위일 때는 기능적으로는 비활성화이나 생명력이 유지된 조직, 소위 zone of penumbra가 존재되고, 만일 적절히 혈류가 재공급되면 기능까지 정상으로 복귀된다. 실제 신경외과영역에서 급성적으로 뇌의 주요동맥폐쇄로 발생한 국소 허혈 뇌졸중 환자에서 뇌부종은 사망 및 허혈뇌졸중 환자에서 뇌부종은 사망 및 이환율의 중요 요소이다¹⁸⁾.

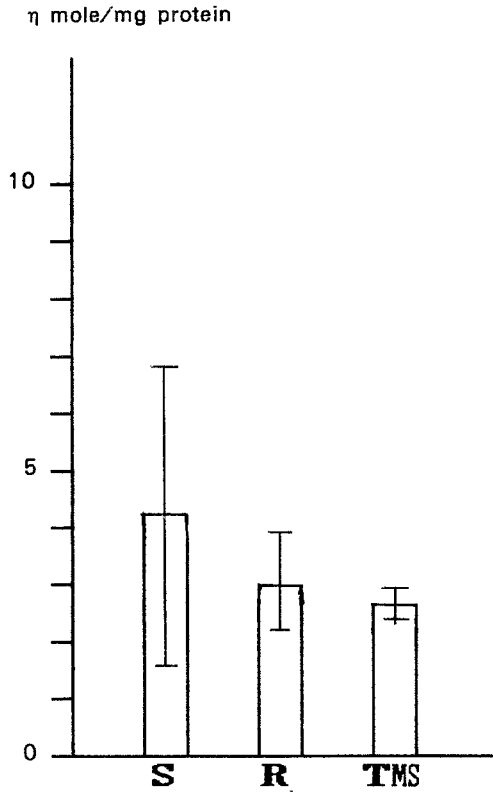


Fig. 10. Level of CDP.

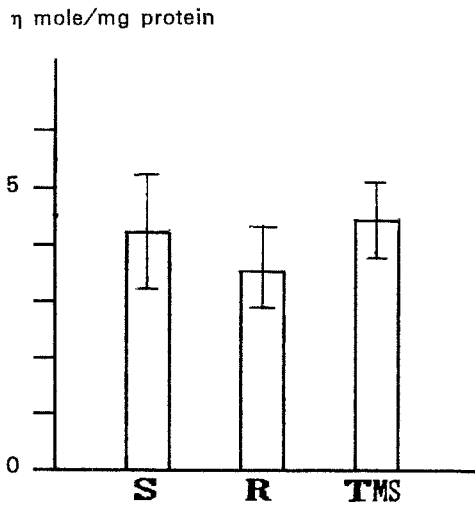


Fig. 11. Level of CMP.

그러므로 국소허혈상태에 세포막 기능부전의 ischemic threshold 이상치의 혈류를 재관류 시킴으로서 비가역적 뇌경색 방어에 공헌하고자 고양이의 중대 뇌동맥 폐쇄실험모형을 이용하여 급성 국소뇌허혈을

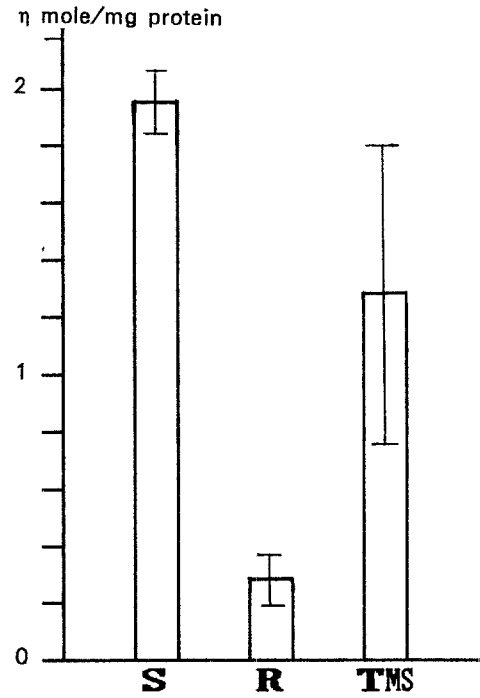


Fig. 12. Level of UTP.

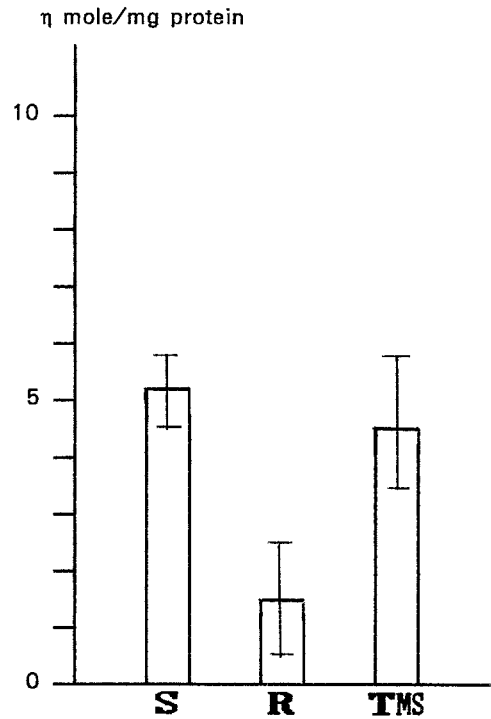


Fig. 13. Level of UDP.

η mole/mg protein

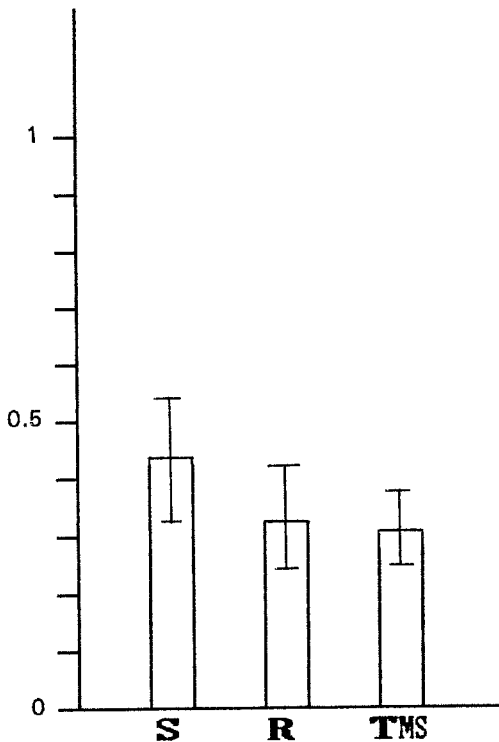


Fig. 14. Level of UMP.

유발시켰다.

뇌허혈을 연구하기 위한 실험모형은 경두개골을 통한 중대뇌동맥 폐쇄에 의하였다¹⁹⁾. 1966년 Sundt와 Waltz²⁰⁾는 안와후방 외경막접근법으로 고양이의 중대뇌동맥을 폐쇄시킨 실험모형을 개발했으나 동맥을 충분히 노출하기 위해서는 두개골 끝절 및 뇌압박은 가해야 하는 단점이 있었다. 이후 1970년 Hudgins와 Garcia²¹⁾는 Squirrel원숭이를 실험동물로 이용하여 경안와법을 개발하였으며 이후 O'Brien과 Waltz²²⁾는 고양이에서 상기방법을 개발시켜 연구하였다. 이 방법 또한 중대뇌동맥을 적절히 노출시키기 위하여 안와내용물을 제거하고 시신경을 전기소작시켜야 하므로 일측 눈의 시력 상실되는 단점이 있다.

저자는 Berkelback v. d. Sprenkel¹⁵⁾등이 고안한 후안와접근법을 이용하여 눈의 시력상실과 중대뇌동맥 폐쇄로 인한 시방사선 허혈로 인한 시력장애를 최소화하는 방법으로 연구하였다.

중대뇌동맥 폐쇄후 허혈의 심도는 중대뇌동맥의 혈액공급을 받는 국소부위가 제일 심하며 점차 병

소주위로 결국 정상 조직 부위까지 확대된다. 이와 같은 조직손상의 주요소는 뇌부종이며 이로 인하여 경천막 헤르니아 형성으로 개체는 사망하게 된다. 허혈성부종은 초기에는 세포독성부종, 후기에는 혈관인성부종의 연합으로 발생한다³⁾⁴⁾²³⁾²⁴⁾. 세포독성부종은 동맥폐쇄후 30분부터²³⁾ 시작하여 두세시간 계속되며 이후 혈관-뇌관문의 내피세포의 손상으로 모세혈관 투과성의 증가로 인하여 허혈후 3~6시간부터 혈관인성 부종으로 진행되어 비가역적 뇌조직의 손상이³⁾²³⁻²⁷⁾ 발생된다.

Tamura등²⁸⁾은 고양이의 중대뇌동맥을 2시간 폐쇄후 2시간 재관류 실험에서 혈류가 12ml/100gm/min이하에서 전뇌조직의 심한 조직학적 손상, 혈류의 12~15ml/100gm/min 범위내에서 일부 뇌조직의 손상을 보고하였으며 Little 등⁷⁻⁸⁾은 고양이의 중대뇌동맥을 3~6시간 폐쇄후 뇌피질 및 뇌피질하 부위의 큰 뇌경색 부위를 관찰하였으며 국내에서 Shin 등²⁹⁾ 및 Chang³⁰⁾ 등은 고양이의 중대뇌동맥 3시간 폐쇄 2시간 재관류실험에서 뇌경색면적률이 $68.95 \pm 14.81\%$ 이었으나 Adenylate, E.C.는 0.50 ± 0.05 로 유지되었음을 발표한 바 있다.

또 원숭이에서는 중대뇌동맥 폐쇄후 1~2시간내에 재관류하면 신경기능이 완전 회복하고 조직병리적 손상도 막았다고 한다⁴⁾. 이와같이 실험동물의 중중측부순환에 따른 국소 뇌혈류량의 감소범위에 따라 뇌조직의 손상은 다른 것으로 사료되나 이제까지 발표된 연구 보고들¹⁻⁴⁾¹⁴⁾²³⁾²⁴⁾에 의하면 고양이에서는 중대뇌동맥 폐쇄후 약 3~5시간 사이에 세포독성부종에서 혈관인성부종으로 이행된다고 사료된 근거에 의하여 본 실험연구에서 중대뇌동맥 폐쇄시간을 5시간으로 실시하였다.

Symon³²⁾은 원숭이의 중대뇌동맥 폐쇄이하부위는 정상혈압의 25~40%로서 정상혈류량의 25%까지 감소되었다는 사실은 중대뇌동맥 폐쇄후 energy대사 변동이 수시간에 걸쳐 점차적으로 발생하므로 뒷받침한다. 실험상 고양이에서 뇌경색을 초래시키는 뇌혈류량의 임계치는 20ml/100gm/min범위라는 보고를 미루어 보아 본 실험에서 뇌혈류량을 측정하지 못하였으나 고양이 개체의 측부순환정도에 따라 다르나 대체로 혈류량은 상기치의 범주로 사료된다.

허혈로 인한 뇌조직의 손상은 단일과정이 아니고 일련의 생화학적 단계과정 즉 ischemic-cascade과정

을 따라 진행하여 발생하므로 현재까지 단일약제만으로는 뇌를 허혈상태로 부터 방어할 수 없는 실정이다.

본 연구자는 고삼투질 농도⁶⁻⁹⁾에 의한 탈수, 고용적성 혈액회색⁷⁻⁸⁾¹⁰⁻¹¹⁾ 그리고 혈액점성의 감소¹²⁾의 약리작용으로 허혈로 인한 성세세포돌기들의 부종⁷⁻⁸⁾³³⁻³⁶⁾으로 인한 모세혈관협착⁷⁻⁸⁾에 의한 미세순환 폐쇄를 부종감소, 혈류유동개선으로 측부순환을 촉진시켜 허혈부위의 혈류량을 증가시키는 기전으로 허혈성 부종초기의 세포독성부종에 유효한 mannitol과 허혈상태 개선전에 투여하면 허혈세포로부터 arachidonic산의 유리의 억제에 의한 약리작용으로 혈관-뇌관문을 안정화시켜 특히 혈관인성부종에 유효하다고¹³⁻¹⁴⁾²⁹⁾ 알려진 steroid제제인 MP를 허혈성 뇌부종 치료제로 선택하여 연구하였다.

고-energy phosphate(~P) 주 원천은 사립체내에서의 산화적 인산화, 당분해작용과 구연산회로이다. 특히 뇌의 ATP는 혐기성과 호기성 대사를 통해 생산된다. 세포외세포질에서 발생하는 일련의 대사반응중 포도당은 혐기성대사로 2분자의 유산으로 분해되면서 2분자의 ATP를 생산하나 포도당의 호기성대사로 산출된 호성포도염은 사립체내에서 효소들에 의하여 이산화탄소와 수분으로 산화대사를 통하여 36분자의 ATP가 생산된다. 사실은 energy 생산은 압도적으로 산화적 작용에 의한다는 것을 의미한다.

본 실험에서 중대뇌동맥 5시간 폐쇄후 2시간 재관류후에도 ATP는 수술대조군인 제 I군의 10.8%로 회복되지 않았다. ATP부족에 대한 긴급대처대사로 adenylate kinase의 활성이 증가하여 ADP는 ATP합성에 쓰인 결과로 I군의 53.04%로 감소되었다.

이상과 같은 결과로 미루어보아 고양이의 중대뇌동맥을 5시간 폐쇄하면 잔존된 혈류량은 세포막손상에 해당되는 허혈성억제에 도달한 것을 암시하며, 이로 인하여 사립체내의 산화적 인산화작용이 중지되어 ATP의 급격한 손실로 세포막에 부착된 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATPase}$ 활성의 저하로 세포내 Na^+ 와 수분이 증가하고 또 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ 활성의 저하로 세포질내 Ca^{2+} 농도가 증가하며 혐기성 당원질 분해로 유산량이 증가되어 더욱 허혈성 손상을 가속시킨다. 세포질내 Ca^{2+} 의 증가는 phospholipase A_2 를 활성화하여 세포막의 유리지방산을 유리시켜³⁷⁾ prostaglandins,

leukotrienes와 유리기들을 생산하여³⁸⁾ 종국에는 야기시킨다.

Komatsumoto 등²⁾은 고양이의 중대뇌동맥 2시간 폐쇄후 4시간 재관류 시행후 ³¹P-핵자기공명기를 이용한 energy대사측정 실험에서 동맥폐쇄 첫 20분 동안 ATP의 변화는 관찰되지 않았으나, 조직내 산소는 6.2~6.3으로 저하되었다고 보고한 바, 이는 1972년 Siesjo³⁹⁾등이 뇌관류 감소후 유산소증이 energy장애보다 선행한다는 보고들과 일치함은 향후 허혈성 부종 실험에서 조직내 산소와 energy대사장애 정도에 따른 뇌조직 손상에 대한 연구가 더 요할 것으로 사료된다.

본 실험연구에서 중대뇌동맥 5시간 폐쇄후 2시간 재관류 결과 AMP는 제 II군의 197.47%로 증가를 보인 사실은 ATP부족으로 Adenylate Kinase의 활성증가로 2 ATP→ATP+AMP에 의한 기전으로 설명된다. AMP는 ATP소실이 발생하면 더욱 ATP생성을 도모하기 위하여 대사의 이화작용을 증가시키는 대사의 신호로 작용한다⁴⁰⁾. 특히 뇌조직내 ATP 고갈시에는 응급적으로 energy저장상태의 creatine phosphate가 creatine kinase의 활성증가로 ATP를 보충하나 이 기전만으로 회복되지 못할 때는 뇌 energy근원인 당원을 분해한다. 현재까지는 당원분해에 대한 대사의 유발기전은 명백치 않으나 뇌조직내 Epinephrine의 증가로 Adenylate cyclase의 활성으로 cyclic AMP(C-AMP)가 증가하여 당원분해를 증가시키고 포도당은 ADP양에 의해 조절되는 phosphofructokinase 활성의 증가로 포도당은 pyruvate NADH, α -Ketoglutarate로 뇌사립체내에서 구연산회로를 거쳐 ATP를 생성하나, 이상의 ATP재합성과정으로 뇌사립체내 저장된 산소는 다 소모하여 더 이상의 energy합성대사는 중지하고 만다.

본 실험에서 동맥폐쇄전 30분부터 2gm/kg의 mannitol, 30mg/kg MP를 처음 정주후 1시간 30분마다 반복투여하므로써 이 약제들의 혈중농도를 유지하면서 5시간 폐쇄후 재관류시킨 결과 ATP는 제 I군의 67.28%까지 회복되었으며 II군에 비해 522.29%나 의의있게 증가되었고 ADP도 제 I군의 135.31%로 회복하고 제 II군보다 154.81%나 의의있게 증가하였으며 ATP, ADP의 고-energy양의 증가로 AMP양은 제 II군보다 31.95% 감소한 결과를 관찰되었고 또 총 adenosine nucleotides함량도 제 II군

보다 103.63% 의의있게 증가하여 제 I군의 95.23%로 회복되었다. Energy대사의 기본적 조절 척도인 E.C.도 치료군인 제 III군에서 제 II군보다 106.66% 증가한 0.62 ± 0.02 로서 제 I군의 8.66%까지 회복되었다.

이상과 같이 ATP량의 회복으로 nucleoside diphosphate kinase에 의해 GTP, UTP와 CTP량도 각각 I군의 87.70% 의의있게, 51.81% 그리고 62.71%로 회복됨으로서 뇌조직을 허혈상태로부터 방어하였다.

Schmidt-Kastner 등⁴¹⁾ 고양이의 완전 허혈상태 실험을 통한 실험에서 재관류후 energy phosphate 농도가 회복된 군에서는 뇌전도의 활성도 회복함을 관찰하였으나 Horikawa은 허혈상태후 30분 재관류로 즉각 energy는 정상으로 회복하여도 뇌전도의 활성도는 1~2시간후에 회복되었다고 이견을 보여 아직도 energy함량회복과 뇌기능의 회복관계는 명확히 밝혀져 있는 실정이 향후 완전 허혈상태와 국소 허혈상태의 energy대사 차이 또 최근 개발된 ³¹P 핵자기공명은 국소 자기공명 분광사측정기를 이용하여 동맥 폐쇄후 장기간 동안 국소의 energy대사 변동과 뇌기능의 변화에 대한 연구를 추구하여야 될 것으로 사료된다.

결 론

뇌 energy대사는 무엇보다도 세포막 전위차를 유지에 필요한 ATP를 공급하며, 그의 신경의 전달을 위하여 신경전달 물질생산 및 유지에 쓰인다. 뇌혈류가 정지되면 산화인산화작용이 중지되어 사립체의 ATP의 상실이 발생되면 creatine Kinase 및 Adenylate kinase 활성으로 또 phosphofructokinase 활성의 증가 및 norepinephrine증가로 c-AMP가 증가하여 당원분해작용을 촉진시키나, 이러한 대상적 뇌산화작용의 증가로 사립체에 저장된 산소가 다 소모되어 혐기성 당분해작용으로 유산산증이 되어버리고 만다.

뇌 energy가 고갈되면 $\text{Na}^+ \cdot \text{K}^+ \text{-ATPase}$ 활성이 저하되어 세포막간의 ion들의 안정화를 취하지 못할 뿐만아니라 세포내로 Ca^{2+} 유입 증가로 phospholipase A₂작용에 의하여 arachidonic acid, docasabexanoic acid등과 같은 불포화 지방산의 생산을 증가시켜

사립체의 cytochrome oxidase활성을 억제시키고 세포막 단백질의 분자산소에 의한 유리기의 발생으로 인한 지질과산화작용으로 세포막이 손상되고, 이후 점차진행되면 혈액-뇌 관문의 손상으로 혈장, 단백질이 뇌조직내로 유출이 증가되어 결국 비가역적 뇌조직의 손상이 발생된다.

이와같이 허혈로 인한 뇌손상은 일련의 단계적과정으로 진행하여 발생하므로 저자는 허혈성 초기에 발생하는 세포 독성 부종치료에 유효한 mannitol과 뇌허혈개시전에 투여하면 arachidonic acid유리를 방지하여 혈액-뇌관문이 안정화로 혈관인성부종에 유효한 methylprednisolone을 허혈발생 30분전에 첫 정주한후 1시간 30분마다 추가 정주한 실험방법으로 중대뇌동맥을 5시간 폐쇄후 2시간재관류한 실험모형을 이용하여 이 약제들의 급성국소허혈성 부종발생의 방어효과를 연구하기위해 H.P.L.C.를 이용하여 nucleotides 측정과 energy대사의 기본조절척도인 adenylate energy charge치들의 변화를 분석 검토하여 다음과 같은 의의있는 결과를 얻었다.

1) Adenosine derivatives함량의 변화

수술대조군인 제 I군의 ATP, ADP, AMP 및 총 adenosine nucleotides 함량은 각각 $14.52 \pm 0.83 \eta$ mole/mg protein, $7.05 \pm 0.34 \eta$ mole/mg protein, $3.17 \pm 0.65 \eta$ mole/mg protein과 $24.74 \pm 4.71 \eta$ mole/mg protein이었다. 중대뇌동맥 5시간재관류 2시간 재관류한 제 II군의 ATP, ADP, AMP 및 총 adenosine nucleotides함량은 각각 제 I군의 10.8%, 53.04%, 197.47% 및 46.76%로서 ATP, ADP와 총 adenosine nucleotides함량의 의의있는 감소와 AMP의 의의있는 증가를 보였다. Mannitol과 MP치료군인 제 III군에서 ATP는 제 I군의 67.28%까지 회복하여 제 II보다 522.9%의 의의있는 증가, ADP는 제 I군의 135.31% 증가로 제 II군보다 145.81% 의의있는 증가, AMP는 제 I군의 134.48%로 제 II군보다는 31.95% 감소를 그리고 총 adenosine nucleotides량은 제 I군의 95.23%로 제 II군보다 103.63%의 의의 있는 증가를 보였다.

2) Guanosine derivatives함량의 변화

제 I군의 GTP, GDP 및 GMP는 각각 $10.17 \pm 0.95 \eta$ mole/protein, $1.10 \pm 0.54 \eta$ mole/protein 그리고 $0.32 \pm 0.12 \eta$ mole/protein 이었다. 제 II군에서는 GTP와

GDP 각각 제 I 군의 15.83%, 53.63% 의의있는 감소, GMP는 제 I 군의 184.37%로 의의있는 증가를 보였고, 제 III군에서 GTP, GDP 및 GMP는 각각 제 I 군의 87.70%, 51.81% 및 115.62%였으며 제 II군 보다는 각각 454.03%, 3.39% 의의있는 증가와 37.29% 감소를 보였다.

3) Cytosine derivatives 함량의 변화

제 I 군의 CTP, CDP 및 CMP는 각각 0.44 ± 0.10 η mole/protein, 0.42 ± 0.26 η mole/protein, 그리고 4.23 ± 1.04 η mole/protein 이었다. 제 II 군의 CTP, CDP 및 CMP는 각각 제 I 군의 27.27%, 71.42% 및 88.17%이었으며, 제 III군에서는 CTP는 제 I 군의 36.36%이나 제 II군보다 33.33% 증가, CDP는 제 I 군의 64.28%로 제 II군의 90.0%이었으나 의의가 없었으며, CMP는 제 I 군의 104.06% 증가로 제 II군보다 19.03% 의의있는 증가를 보였다.

4) Uracil derivatives 함량의 변화

제 I 군의 UTP, UDP 및 UMP는 각각 1.94 ± 0.10 η mole/protein, 5.10 ± 0.65 η mole/protein 그리고 0.43 ± 0.11 η mole/protein 이었다. 제 II 군의 UTP, UDP 및 UMP는 각각 제 III군에서 UTP는 제 I 군의 65.46%로 회복하여 제 II군보다 370.47% 의의있는 증가, UDP는 제 I 군의 91.37%로 제 II군보다 200.64%의 의의있는 증가를 보였으며, UMP는 제 I 군의 72.09로 제 II군보다 8.83% 감소를 보였다.

5) Adenylate E.G.의 변화

제 I 군은 0.75 ± 0.01 , 제 II군에서는 0.30 ± 0.05 로 제 I 군에 비해 40.0% 감소, 그리고 제 III군은 0.62 ± 0.02 로 제 I 군의 82.66%로서 제 II군보다 106.66% 회복을 보였다.

이상의 결과와 같이 허혈개시전 mannitol과 MP의 병합투여로 급성 허혈성 국소 뇌부종으로 인한 energy대사변동에 대하여 고 energy유지 및 E.C.의 증가로 급성 국소 뇌허혈성 뇌부종 방어작용에 유효함이 관찰되었다. 그러나 향후 energy대사와 조직 병리검사 관계 및 뇌전도검사등을 통한 뇌기능간의 회복상태를 특히 개체간의 중대뇌동맥 폐쇄후 잔존된 혈류량에 따라 더 추구하여야 할 것으로 사료되는 바이다.

References

- 1) Astrup J : *Energy-requiring cell functions in the ischemic brain. Their critical supply and possible inhibition in protective therapy.* J Neurosurg 1982 ; 56 : 482-497
- 2) Komatsmoto S, Nioka S, Greenberg JH, Yoshizaki K, Subramanian VH, Chance B, Reivich M : *Cerebral energy metabolism measured in vivo by ³¹P-NMR in middle cerebral artery occlusion in the Cat-Relation to severirity of stroke.* J Cereb Blood Flow Metabo 1987 ; 7 : 557-562
- 3) Osterholm JL : *Pathophysiological consequences of brain ischemia neurosurgery 1st ed, edited by wilkins RH and rengachary SS.* New York, St. Lois, San Francisco, Auckland, Bogota, Guatemala, Hamburg, Johannesburg, Lisbon, London, Madrid, Mexico, Montreal, New Delhi, Panama, Paris, San Juan, Sâa Paulo, Singapore, Sydney, Tokyo, Toronto, McGraw-Hill Book Co 1985 ; 2 : 1185-1188
- 4) Siesjö BK : *Cerebral circulation and metabolism.* J Neurosurg 1984 ; 60 : 883-908
- 5) Youmans JR : *Cerebral blood flow in clinical problems.* In Neurological Surgery, Saunders. Philadelphia 1982 ; 2 : 786
- 6) Cantu RC, Ames A III : *Experimental prevention of cerebralvasculatureobstruction produced by ischemia.* J Neurosurg 1969 ; 30 : 50-54
- 7) Little JR : *Modification of acute focal ischemia by treatment with mannitol and high-dose dexamethasone.* J Neurosurg 1978 ; 49 : 517-524
- 8) Little JR : *Modification of acute focal ischemia by treatment with mannitol.* Stroke 1978 ; 9 : 4-9
- 9) Sundt TM, Waltz AG, Sayre GP : *Experimental cerebral infarction : Modification by treatment with hemodiluting, hemoconcentrating, and dehydrating agents.* J Neurosurg 1967 ; 26 : 46-56
- 10) Crowell RM, Ollsson Y : *Impaired microvascular filling after focal cerebral ischemia in the monkey. Modification by treatment.* Neurology 1972 ; 22 :

- 11) Fischer FG : *Impaired perfusion following cerebrovascula stasis. Arch Neurol* 1973 ; 29 : 361-366
- 12) Burke AM, Quest DO, Chien S, Cerri C : *The effects of mannitol on blood viscosity. J Neurosurg* 1981 ; 55 : 550-553
- 13) Hiff JT : *Cerebral protection. J Neurosurg* 1986 ; 65 : 579-591
- 14) O'Brien MD : *Ischemic cerebral edema. Vascular disease of the central nervous system 2nd ed. Edited by ross russell RW, Edinburgh, London, Melbourne, New York, Churchill Livingstone* 1983 ; 6 : 128-138
- 15) Berkelbach van der Sprenkel JW, Tulleken CAF : *The postorbital approach to the middle cerebral artery. Stroke* 1988 ; 19 : 503-506
- 16) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randal RJ : *Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem* 1951 ; 193 : 265-275
- 17) Astrup J, Siesj BK, Symon L : *Thresholds in cerebral ischemia—the ischemic penumbra. Stroke* 1981 ; 12 : 723-725
- 18) Plum F : *Brain Swelling and edema in cerebrovascular disease. Arnmnd* 1961 ; 41 : 318-348
- 19) Waltz AG, Owen CA Jr, Shaw DA : *Experimental occlusion of the middle cerebral artery : Its determination using phosphorus -32-labeled erythrocytes. Neurology (Minneap)* 1965 ; 15 : 491-498
- 20) Sundt TM Jr, Waltz AG : *Experimental cerebral infarction : Retro-orbital, extradural approach for occluding the middle cerebral artery. Proc Mayo Clin* 1966 ; 41 : 159-168
- 21) Hudgins WR, Garcia JH : *Transorbital approach to the middle cerebral artery of the squirrel studies. Stroke* 1970 ; 1 : 1-7-111
- 22) O'Brien MD, Waltz AG : *Transorbital approach for occluding the middle cerebral artery without craniectomy. Stroke* 1973 ; 4 : 201-206
- 23) Meyer FB, Anderson RE, Thoralf BS, Sundt JR TM, Yaksh TL : *Treatment of experimental focal cerebral ischemia with mannitol. J Neurosurg* 1987 ; 66 : 109-115
- 24) Spetzler R, Nehls DG : *Cerebral protection against ischemia, cerebral blood flow. Edited by wood JH. 1st ed. New York, St. Louis, San Francisco, Auckland, Bogotá, Hamburg, Lisbon, London, Mexico, Milan, Montreal, New Delhi, Panama, Peris, San Juan, São Paulo, Singapore, Sydney, Tokyo, Toronto, McGraw-Will Book Co* 1987 ; 41 : 651-676
- 25) Klato I : *Neuropathological aspect of brain Edema. J Neuropathol Exp Neurol* 1967 ; 26 : 1-14
- 26) Mrsuja BB, Lust WD, Mrsula BJ, Passonneau JV, Klatzo I : *Post-ischemic changes in certain metabolites following ploronged ischemia in the gerbil cerebral cortex. J Neurochemistry* 1976 ; 26 : 1099-1103
- 27) Kleihues P, Kobayashi K, Hossman KA : *Ischemia and infarction caused by occlusion of the middle cerebral artery. Acta Neuropathol* 1971 ; 18 : 89-102
- 28) Tamura A, Asano T, Sano K : *Correlation between rCBF and histological changes following temporary middle cerebral artery occlusion. Storke* 1980 ; 11 : 487-493
- 29) Shin KM, Park DB, Kim SH : *The protective effect of mannitol, steroid, phenytoin and barbiturates on experimental acute focal cerebral ischemia. The Ewha Med J* 1988 ; 11 : 105-119
- 30) Jang IT, Kim SH, Park DB, Han JS : *The effect of methylprednisolone on energy metabolism in acute experimental ischemia. J K Neurosurg Society* 1987 ; 16 : 217-234
- 31) Hosmann KA : *Treatment of experimental cerebral ischemia. J Cereb Blood Flow Metabol* 1982 ; 2 : 275-297
- 32) Symon L : *A comparative study of middle cerebral pressure in dogs and macaques. Journal of Physiology* 1967 ; 191 : 449-465
- 33) Chiang J, Kowada M, Ames A III, Wright RL, Majno G : *Cerebral ischemia : III. Vascular changes. AM J Pathol* 1968 ; 52 : 455-476
- 34) Little JR : *Microvascular alterations and edema in focal cerebral ischemia, in Dynamics of Brain Edema, H Pappius, W Feindel(eds). New York, Springer-Verlag* 1976 ; 236-243
- 35) Little JR, Kerr FWL, Sundt TM Jr : *Microcirculatory obstruction in focal cerebral ischemia : An elect-*

- ron microscopic investigation in monkeys. Stroke* 1976 ; 7 : 25-30
- 36) Little JR, Kerr FWL, Sundt TM Jr : *Significance of neuronal alterations in developing cortical infarction. Mayo Clin Proc* 1974 ; 49 : 827-837
- 37) Siesjö BK : *Cell damage in the brain : A speculative synthesis. J Cereb Blood Flow Metab* 1981 ; 1 : 155-185
- 38) Chan PH, Fishman RA : *Brain edema : Induction in cortical slices by polyunsaturated fatty acids. Science* 1978 ; 201 : 358-360
- 39) Siesjö BR, Folbergrova J, MacMillan V : *The effect of hypercarpnea upon intracellular PH in the brain, evaluated by the bicarbonate-carbonic acid method and from the creatine phosphokinase equilibrium. J Neurochem* 1971 ; 19 : 2483-2495
- 40) Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW : *Bioenergetics and the metabolism of carbohydrates and lipids 21th ed. Norwalk, Connecticut/Sa Mateo, California, 1988 ; 11 : 93-99*
- 41) Schmidt R-Kastner, Hossmann KA, Ophoff BG : *Relationship between metabolic recovery and the EEG after prolonged ischemia of cat brain. Stroke* 1986 ; 17 : 6 : 1164-1169