

## 수유를 통한 Allopurinol 투여가 신생쥐의 장관막 허혈 및 재관류 손상에 미치는 효과

이화여자대학교 의과대학 외과학교실  
최 금 자

= Abstract =

### The Effect of Allopurinol via Breast-Feeding Route on the Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury of Neonatal Rats

Kum-Ja Choi

*Department of Surgery, College of Medicine, Ewha Womans University*

Hypoxia is one of the most common major stress to which a neonate exposed, and subclinical ischemic/hypoxic insults to the intestine has been implicated as playing a major role in the development of NEC. The exact mechanism leading to mucosal injury due to mesenteric ischemia-reperfusion have not been fully elucidated, yet there is an increasing body of evidence to suggest a role for xanthine oxidase(XO)- derived reactive oxygen metabolites. Allopurinol has repeatedly been demonstrated to be effective in decreasing reperfusion injury.

This study was designed to evaluate the protective effects of allopurinol via breast-feeding to suckling rats, in the setting of ischemia and reperfusion.

One-hundred forty Sprague-Dawley rat pups(one-week-old) received breast-feeding whose lactating mothers were bred on standard chow with allopurinol(2mg/100g) suspension water(experimental group) or tap water(control group) for 1 week. Eight rats(each 4 of experimentals and controls) were used to identify histologic finding of small bowel mucosa. Twelve rats(each 6 of experimentals and controls) were used to measure serum uric acid levels. Ninety-six rats (each 48 of experimentals and controls) were subjected to superior mesenteric vessels occlusion for 5, 10 or 20 min. to produce ischemic injury to the intestine. Segmental small bowel resections were performed in each 24 rats of control group and experimental group before and after reperfusion to histopathologic evidence of reperfusion injury. And the remaining 72 rats(each 36 of experimentals and controls) were observed for mortality after IRI for 1 month.

Serum uric acid  $1.93 \pm 0.64$ mg/dl of experimentals was significantly lower than  $7.32 \pm 1.18$ mg/dl of controls( $p < 0.005$ ). Bowel injury severity was more severe on longer period of mesenteric vascular occlusion in experimentals and controls. Mucosal injury severity was not different significantly between experimentals and controls with same period of mesenteric vascular occlusion, but after 30 min of reperfusion, severity of mucosal injury in experimentals was attenuated

than in controls, especially in the 5 min and 10 min occlusion of mesenteric vessels. All of death occurred in 3 days after IRI, and mortality was decreased from 69.4% in controls to 52.8% in experimental groups. Mortality was increased in case of longer period occlusion of mesenteric vessels but not significant statistically.

These results indicate that it is ability to transfer the effect of allopurinol to suckling rats via breast-feeding routes and the protective effects of allopurinol increases the survival rate after IRI.

## 서 론

허혈(ischemia)로 인한 조직손상은 허혈기(ischemic period)의 세포사망과 허혈후 재관류기(reperfusion period)에 xanthine oxidase(XO) 유도에 의해 반응하는 산소유리기(xanthine oxidase-derived reactive oxygen free radicals)에 의한 재관류손상(reperfusion injury)의 복합적인 결과이며<sup>1)</sup>, 대량의 손상은 hypoxia기 보다 오히려 산소분자(molecular oxygen)가 조직안으로 다시 유입되는 재관류기에 일어나게 된다<sup>2)</sup>. 이 때문에 허혈성조직손상의 예방에 관한 연구는 대부분 재관류손상을 감소시킬 수 있는 다양한 산소 유리기 제독제(free-radical scavengers)나 xanthine oxidase 억제제 등으로 집중되고 있다<sup>3)</sup>.

괴사성장염(necrotizing enterocolitis, NEC)은 생명을 위협하는 복부질환(life-threatening intra-abdominal condition)의 하나로 중환아실(neonatal intensive care unit, NICU) 신생아의 약 2~7%에서 발생하며, 대부분의 신생아 괴사성장염은 출생시나 생후 아주 일찍 발병한다<sup>4)</sup>. 비록 신생아 괴사성장염의 원인과 정확한 병인(pathogenesis)에 대하여는 아직도 논란이 되고 있지만, NEC의 발생에 대한 가장 믿을 만한 결정적인 pathway는 장점막 혈류의 감소이다. 즉 신생아가 가장 흔히 접하게 되는 주요 stress의 하나인 hypoxia는 내장혈관의 수축(splanchnic vasoconstriction)을 초래하여 내장 관류(perfusion)가 감소되며, 장점막의 허혈손상을 초래하고 세균이 침습하게 된다는 것이 일반적인 NEC의 기초 병태생리 발작(underlying pathophysiologic insult)으로 인식되고 있다<sup>5)6)</sup>. 또한 장간막 혈류를 일정시간 차단시키므로써 허혈성장질환 내지는 괴사성장염을 유발시킬 수 있다는 연구가 다수

보고되었다<sup>7)8)</sup>. 저자도 흰쥐를 대상으로 인위적인 장점막의 허혈손상을 유도한 바 있고, 또한 xanthine oxidase를 특이적으로 억제시키는 allopurinol을 장기간 구강투여하므로써 장점막의 허혈성 손상을 효과적으로 예방할 수 있을 뿐만 아니라 생존율을 향상시킬 수 있음을 보고하였다<sup>9)</sup>. 그러나 이러한 연구는 성숙쥐(adult rat)를 대상으로 한 것 뿐이며 신생쥐(neonatal rat)에게 ischemic insult를 유도하고 수유경로(breast-feeding route)로 투여한 allopurinol의 허혈성 손상에 대한 효과는 보고된 바 없다.

이에 저자는 출생후 초기에 허혈-재관류 손상에 대한 방어기전이 적용되어야 하는 신생아 괴사성장염의 예방에 관한 연구의 일환으로 수유에 의한 allopurinol suspension의 장기투여가 인위적인 혈류차단 및 재관류에서 수유중인 신생흰쥐(suckling white rat)의 장점막 허혈성손상에 미치는 영향을 알아보려고 본 연구를 계획하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

전 실험을 통하여 성별 구별없이 출생직후의 Sprague-Dawley종 흰쥐 140마리를 사용하였다. 실험을 위해 각쥐장마다 새끼를 낳은 어미쥐와 각각의 새끼쥐 10마리씩을 함께 넣고 시판 고형사료와 수도물로 사육하였다.

### 2. Allopurinol 투여방법

출산후 7일동안 각 쥐장의 일일 평균 물섭취량을 계측한 후 비투약군(대조군 70마리의 신생쥐를 수유하는 어미쥐)의 물병에는 매일 섭취할 수도물만 넣어주고 투약군(실험군 70마리의 신생쥐를 수유하는 어미쥐)의 물병에는 가루로 만든 Allopuri-

nal정<sup>R</sup>(유유산업 주식회사)을 매일 어미쥐의 체중 100g당 2mg씩 섞어서 allopurinol 현탁액을 만들어 7일동안 섭취하도록 하였다. 24시간 동안에 주어진 물을 전량 섭취하였을 때는 다음 1일간 섭취할 물을 임의로 증가시켜 주었으며 만약 24시간 동안에 주어진 물을 전량 섭취하지 않았을 경우에는 남은 양을 다음날 섭취시킬 물에 혼합해줌으로써 allopurinol의 7일간 섭취량이 전실험군에서 일정하도록 하였다.

### 3. 혈청요산치(serum uric acid) 측정

대조군과 실험군 각각 6마리씩을 가벼운 ether 마취하에서 복부 정중절개를 통하여 하대정맥에서 0.5~1.0ml의 혈액을 채혈한 후 Uricase법으로 측정하였다.

### 4. 장간막허혈증 유도

2와 같이 처치한 어미쥐의 젖으로 성장한 생후 15일된 수유중인 48마리 신생쥐(대조군과 실험군 각각 24마리, 체중 30~34g임)를 가벼운 ether흡입으로 마취를 유도한 후 Ketalar<sup>R</sup>주사액(유한양행)을 체중 100g당 3mg씩 복강내주사(intraperitoneal injection)하였다. 마취후 10% 베타딘액으로 흉복부 피부를 소독하고 약 1.0cm의 복부 정중절개로 개복하여 장을 배출시킨 후 atraumatic microvascular clamp(OSW Leibinger)로 상장간막동·정맥(superior mesenteric artery & vein)혈류를 그 기시부에서 5분, 10분 또는 20분간씩 차단시켰다.

### 5. 조직병리학적 검사

대조군과 실험군 양군에서 각각 허혈전(prior to ischemic insult), 혈류차단시간 5분, 10분, 20분씩 및 각각의 혈류차단시간에 따른 30분간의 재관류후

순차적으로 4마리씩 소장을 절제(sequential small bowel resection)하여 10% formalin 고정용액에 넣었다. 고정된 소장절편을 hematoxillin-eosin 염색후 광학현미경하의 장벽의 허혈손상정도를 Chiu등<sup>10)</sup>에 따라 등급 0~5로 분류하였다(Table 1).

### 6. 생존율(probability of survival) 결정

대조군 36마리와 실험군 36마리를 4.의 방법에 의하여 5분간, 10분간 또는 20분간씩 각각 12마리의 장간막혈류를 차단하였다가 압박검자를 풀고 장벽의 혈액순환이 회복되는 것을 육안으로 확인한 후 장을 복강내로 복귀시킨 다음 복벽을 000번 atraumatic silk 또는 dexion plus실로 단층 연결봉합하였다. 봉합된 수술창상에 10% 베타딘을 바르고 쥐가 마취에서 회복되는 것을 확인하여 어미가 있는 쥐장에 넣고 수유를 받도록하여 7일동안 사육하면서 매일 죽은 쥐의 수를 확인하였고 장간막혈류 차단술후 일주일째에 살아남은 쥐의 수를 각군에 대한 백분율로써 일주일생존율을 정하였다. 장기 생존율을 관찰하기 위하여 살아남은 실험동물은 수술후 30일까지 어미 14마리와 함께 시판 고형 사료와 수도물로 사육하였다.

실험결과에 대한 통계적 분석은 혈청요산치는 two-sample t-test로, 조직손상은 t-test와 chi-squared test로, 1주 및 30일 생존율은 chi-squared test로 검정하였다.

## 결 과

### 1. 혈청 요산치

대조군의 평균 혈청요산치는 7.32±1.18mg/dl이

Table 1. Grading system for ischemic lesions by chiu<sup>10)</sup>

| Histological grade | Description   |
|--------------------|---|
| 0                  | Normal villi  |
| 1                  | Development of subepithelial space at apex of villus : capillary congestion                                 |
| 2                  | Extension of subepithelial space with moderate separation of mucosa from lamina propria                     |
| 3                  | Extensive epithelial separation from lamina propria down the sides of the villi : ulceration at villus tips |
| 4                  | Denuded villi : dilated capillaries : increased cellularity of lamina propria                               |
| 5                  | Disintegration of lamina propria : hemorrhagic ulceration   |

고 실험군은  $1.93 \pm 0.64 \text{mg/dl}$ 로 실험군의 혈청요산치가 대조군보다 현저히 저하되었다( $p < 0.005$ ) (Table 2). 즉 allopurinol 현탁액을 섭취하는 어미 쥐로부터 장기간 수유를 받는 신생쥐의 혈중 allopurinol치는 충분히 전신적인 효과를 나타낼 수 있음을 알 수 있다.

## 2. 소장의 조직병리학적 소견(Table 3)

장의 허혈손상 정도에 대한 조직병리학적 관찰 결과는 chiu 등<sup>10)</sup>에 따라 등급을 정하여 각군의 평균치를 계산하였다.

혈류차단전의 장점막은 양군에서 정상적인 소견(grade 0)을 보여주고 있다. 혈류차단시간에 따른 장점막손상 정도를 보면 허혈기에서는 대조군이나 실험군 모두 혈류차단시간이 길수록 손상정도가 심하여지는 경향이었으나 30분간의 재관류후 취한 대조군에서는 혈류차단시간 5분군과 10분군이 동일하였고 20분군은 5분군보다 조직손상이 심하였다( $p < 0.1$ ). 실험군에서는 허혈기나 재관류기 모두 5분간 혈류를 차단하였던 것보다 20분간 차단하였을 때 손상심도가 심하였다( $p < 0.01, 0.025$ ). 그

Table 2. Serum uric acid levels

| Controls(mg/dl) | Experimentals(mg/dl) |
|-----------------|----------------------|
| 7.3             | 1.7                  |
| 7.6             | 0.8                  |
| 8.6             | 2.5                  |
| 6.5             | 2.1                  |
| 8.4             | 2.5                  |
| 5.5             | 2.0                  |
| Mean $\pm$ SD*  | 7.32 $\pm$ 1.18      |
|                 | 1.93 $\pm$ 0.64      |

\*Significant difference between groups at  $p < 0.005$ .

Table 3. Severity of ischemic/reperfusion bowel injury in control rats versus experimental rats

| Group            | Duration of vascular occlusion | Preischemic | Ischemic          | Reperfusion      |
|------------------|--------------------------------|-------------|-------------------|------------------|
| Control          | 5 min                          | 0           | 0.63 $\pm$ 0.75   | 1 $\pm$ 1.41*    |
| Series<br>(n=28) | 10 min                         |             | 1.25 $\pm$ 0.96   | 1 $\pm$ 1.41@    |
|                  | 20 min                         |             | 1.75 $\pm$ 1.50   | 2.75 $\pm$ 1.89* |
| Experimental     | 5 min                          | 0           | 0.50 $\pm$ 1.00** | 0.75 $\pm$ 1.50# |
| Series<br>(n=28) | 10 min                         |             | 1.00 $\pm$ 1.15   | 0.25 $\pm$ 0.50@ |
|                  | 20 min                         |             | 2.63 $\pm$ 0.75** | 3.0 $\pm$ 0#     |

\*Significant difference between two groups at  $p < 0.1$

\*\*Significant difference between two groups at  $p < 0.01$

#Significant difference between two groups at  $p < 0.025$

@Significant difference between two groups at  $p < 0.1$

러나 각각의 혈류차단시간에 따른 실험군과 대조군 사이의 조직손상을 비교하면 현저한 차이는 없었고 다만 5분과 10분동안 혈류를 차단시킨후 재관류시켰을 때 실험군의 조직손상이 대조군보다 경미하였다( $p < 0.1$ ).

## 3. 허혈손상후 사망율 및 생존율

장간막허혈 유도후 혈류 차단시간에 따른 대조군과 실험군의 1주동안에 죽은 쥐의 수를 관찰한 결과는 Table 4 와 같았다.

대조군의 사망율은 36마리중 25마리가 죽어서 69.4%이었으며, 장간막혈류차단시간에 따라 5분과 10분 차단군의 사망율은 66.7%이었고 20분 차단군은 75.0%로 혈류차단시간에 따른 사망율에 차이는 없었다( $p > 0.1$ ). 실험군은 36마리중 19마리가 죽어서 사망율은 52.8%이었고 혈류차단시간에 따른 사망율은 5분 차단군 41.7%, 10분 차단군 50.0%, 20분 차단군 66.7%로 혈류차단시간이 길수록 사망율이 증가하는 경향이였다. 대조군과 실험군의 사망율을 비교하면 실험군에서 낮았으며( $p < 0.1$ ), 혈류차단시간에 따른 대조군과 실험군 사망율의 비교에서도 실험군의 사망율이 낮았으나 통계적 의의는 없었다.

장간막허혈손상후 죽은 44마리의 쥐는 손상후 제 1일에 29마리(65.9%), 제 2일에 14마리(31.8%), 제 3일에 1마리(2.3%)가 죽었다. 손상후 4일 이후에 죽은 예는 한마리도 없었으며, 한달간 관찰한 결과 살아남은 실험군과 대조군 사이에 성장에 차이가 없었고 또한 allopurinol 현탁액을 식음하여 실험군을 수유한 어미쥐(7마리) 모두는 대조군을 수유

Table 4. Number of death during 7 days after ischemic bowel injury

| Group           | Duration of ischemic injury | Number of rats | Number of deaths on each day |      |     |     |     |     |     | Sum of death | Death rate (%) |
|-----------------|-----------------------------|----------------|------------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|--------------|----------------|
|                 |                             |                | 1st                          | 2nd  | 3rd | 4th | 5th | 6th | 7th |              |                |
| 대<br>조<br>군     | 5 min                       | 12             | 5                            | 3    | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 8            | 66.7           |
|                 | 10 min                      | 12             | 7                            | 1    | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 8            | 66.7           |
|                 | 20 min                      | 12             | 7                            | 2    | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 9            | 75.0           |
|                 |                             | 36             | 19                           | 6    | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 25           | 69.4*          |
| 실<br>조<br>군     | 5 min                       | 12             | 2                            | 3    | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 5            | 41.7           |
|                 | 10 min                      | 12             | 2                            | 3    | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 6            | 50.0           |
|                 | 20 min                      | 12             | 6                            | 2    | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 8            | 66.7           |
|                 |                             | 36             | 10                           | 8    | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 19           | 52.8*          |
| Total no. of    |                             |                | 29                           | 14   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 44           |                |
| daily deaths(%) |                             |                | 65.9                         | 31.8 | 2.3 | 0   | 0   | 0   | 0   |              | 61.1           |

\*Significant difference between two groups at  $p < 0.1$

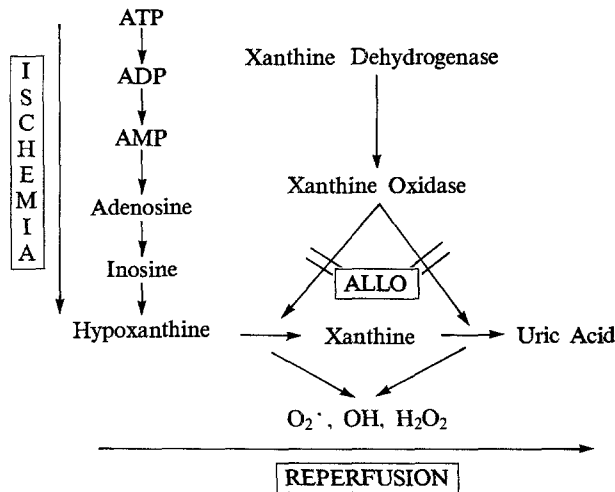


Fig. 1. Proposed mechanism for ischemia/reperfusion-mediated production of oxygen-derived free radicals by Vaughan<sup>16)</sup>.

한 어미쥐(7마리)와 특기할 만한 차이가 없었다.

## 고 안

신생아에서 응급개복수술의 가장 흔한 원인 중의 하나인 괴사성장염의 발생에는 xanthine oxidase (XO) system을 통한 허혈-재관류 손상(IRI, ischemia-reperfusion injury)이 중요한 역할을 하는 것으로 인식되고 있다<sup>5)11)</sup>. 즉 허혈시에는 조직의 ATP (adenosin triphosphate)가 파괴되어 hypoxanthine으로, xanthine dehydrogenase는 XO로 되는데 이때 재관류가 일어나면 XO는 hypoxanthine을 요산으로

전환시키며 과산화기( $O_2^{\cdot-}$ : superoxide radical)를 방출하여  $OH^-$ 와  $H_2O_2$ 를 형성하게 되고(Fig. 1) 이러한 독성 대사물은 전신적인 세포손상을 초래하여 다기관 기능장애(multiorgan dysfunction)를 유발하게 된다<sup>12)</sup>. 따라서 ischemic insult후의 장손상은 과산화유리기에 의한 세포막파괴(membrane damage)와, 지질과산화(lipid peroxidation) 및 세포사망(cell death)으로 설명될 수 있다<sup>13)-15)</sup>. 이 때문에 신생아가 흔히 접하게되는 hypoxia에서는 일시적인 장허혈후의 재관류가 장의 투과성 특징을 변화시켜서 장내세균이 림프관과 문맥순환(portal circulation)으로 이동할 수 있다고 하여 NEC의

병태생리로 주장하고 있다<sup>4)5)16)</sup>.

IRI의 방어기전에 대한 대부분의 연구에서는 XO 억제제(inhibitor)나 산소유리기 제독제(oxygen radical scavenger) 등으로 그 pathway를 방해하거나 생성된 radicals를 중화시키므로써 조직손상을 경감시키려 하고 있으며 allopurinol전처치가 장간막 허혈후 재관류손상을 예방할 수 있다는 것은 새로운 개념은 아니다. 그러나 그 허혈손상경감기전은 아직도 불명확하여 allopurinol의 XO에 대한 특이적 억제작용(inhibitory effect)이나<sup>17)·19)</sup> 또는 산소유리기 제독제로서의 작용으로 설명하고 있다<sup>20)</sup>.

Allopurinol의 허혈성조직손상 방어효과에 대한 대부분의 연구에서는 금기량을 경정맥으로 투약하였으나 최근에 Megison등<sup>21)</sup>은 안전한 양의 allopurinol 현탁액을 쥐에게 1일 1회씩 위관을 통해 장기간 투여하므로써 재관류손상에 의한 사망율을 감소시킬 수 있다고 하였고, 저자도 흰쥐에게 임상적으로 사용가능한 양의 allopurinol 현탁액을 일주일간 식음시키는 방법으로 투여하여 혈중요소산치의 현저한 저하는 물론 장간막의 허혈-재관류손상후 생존율도 효과적으로 증가시킬 수 있음을 보고한 바 있다<sup>9)</sup>.

본 연구결과에서도 성숙쥐(adult rat)에게 allopurinol 현탁액을 식음시켜서 얻은 결과와 마찬가지로 실험군에서 혈청요소산치가 대조군보다 현저히 낮았고( $p < 0.005$ ) 사망율도 allopurinol 투여군에서 낮았다( $p < 0.1$ ). 이는 신생흰쥐에게 수유를 통하여 allopurinol을 투여하므로써 기대하는 전신적인 약물효과를 충분히 얻을 수 있음을 나타낸다고 할 수 있다. 그러나 소장외 조직병리소견에서는 허혈기나 허혈후 30분간 재관류후의 조직이나 모두 허혈시간의 증가에 따라 조직의 손상심도가 증가하였으며 현저한 혈청요소산치의 저하가 유도된 allopurinol 투여군에서도 allopurinol 전처치로 기대되는 재관류후의 장점막손상에 대한 예방효과와는 달리 병리조직학적 소견에서는 대조군과 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 다만 대조군은 재관류후의 조직손상이 허혈기보다 좀더 심하였고 allopurinol 투여군에서는 재관류후의 손상정도가 약간 경미한 경향을 보였을 뿐이다. 그러나 사망율을 보면 대조군에서는 단 5분간의 허혈시간군에서도 66.7%의 사망율을 나타낸 반면 allopurinol로 전처

치한 실험군에서는 41.7%였고, 반치사허혈시간(LT<sub>50</sub>, lethal time 50%)은 대조군이 5분이내이었으나 실험군은 10분으로 연장되었다. 한편 저자의 미발표 연구결과에 의하면 신생쥐의 상장간막혈류를 30분간 차단하였을 경우에는 허혈손상 당일과 술후 제1일에 걸쳐 대조군과 실험군 전예가 죽었으며, 반치사허혈시간도 성숙쥐에서는 30~40분으로<sup>9)</sup> 신생쥐보다 길다. 또한 allopurinol에 의한 IRI방어효과는 성숙쥐에서는 혈류차단시간이 긴 경우에 현저하였으나 신생쥐에서는 5~10분간 혈류를 차단하였을 때 뚜렷하였다<sup>9)</sup>.

저자의 연구가 비록 조직의 투과력 변화를 관찰한 것은 아닐지라도 각각의 허혈시간에 따른 재관류 시간은 전실험을 통하여 30분으로 정하였다. 이는 무증상의(subclinical) IRI도 점막투과력을 의의있게 증가시키며 젓떨어진(weanling) 새끼동물과 신생동물에서는 30분간의 재관류후에 최고 투과력(maximal permeability)을 나타낸다는 보고에 근거하였다<sup>22)</sup>. 한편 Dalsing등<sup>23)</sup>은 젓떨어진 쥐에서 단 1분간의 상장간막동맥 폐쇄후 5분동안의 재관류후 취한 소장의 전자현미경소견에서도 미세용모(microvilli)의 상실과 점막표면의 괴양이 보이며 30분간의 재관류후에는 더욱 심한 장점막의 파괴를 보고하였다. 그러나 Chun등<sup>24)</sup>은 혈행역학적 교란(hemodynamic perturbation)에 대한 용모미세순환(villous microcirculation)의 연령별 반응(age-related response)연구에서 중등도의 일회 출혈에 의한 급성 장혈류감소에서는 미숙쥐(immature rat)가 성숙쥐(adult)보다 더 예민하지는 않다고 하였다. 즉 용모미세혈관해부와 장혈관조절기전의 미숙은 서로 다른 반응으로도 설명될 수 있다.

이상의 결과는 allopurinol의 IRI방어기전이 무엇이든 allopurinol전처치에 의한 재관류후의 장점막에 대한 기능적·형태학적 보호효과는 완전하지 못하며, 수유에 의한 allopurinol투여는 광학현미경으로 관찰될 수 있는 것 이상에서 기능적변화를 경감시키는 것으로 설명할 수 있겠다. 이는 Langer등<sup>22)</sup>이 경미한 IRI는 비록 조직학적 변화는 없을지라도 점막투과력이 조기에 일시적으로 상승된다고 한 것이나 Brown등<sup>25)</sup>이 미세혈관투과력은 조직소견보다 장손상의 더욱 예민한 측정이라고 한 것으로 설명할 수 있을 것이다. 또한 Horton<sup>26)</sup>과

Vaughan등<sup>16)</sup>은 최근에 소화관으로 투여한(enteral) allopurinol이 산소유리기들에 의한 세포의 투과력 변화를 방지하므로써 장점막의 보호효과를 나타낸다고 하였고(Fig. 1) Allan등<sup>27)</sup>은 allopurinol은 장조직의 adenine nucleotide양을 보존하므로써 high energy phosphate를 증가시켜 세포막기능을 유지할 수 있다고 하였다.

비록 NEC가 잘 알려진 인체 병리일지라도 간단하면서도 널리 인정받고있는 실험모형(model)은 아직 없다. 또한 신생쥐에서 장의 병변을 유도한 보고도 매우 드물다<sup>28)</sup>. 따라서 본 연구의 의의는 신생쥐를 대상으로 인위적인 장혈류 차단에 의하여 NEC의 병인으로 추정되고 있는 IRI를 유도한 것과 수유를 통한 안전한 양의 allopurinol투여가 혈청요소산치를 현저히 저하시킬 수 있을 뿐만아니라 일시적인 장간막혈류 차단후에도 생존율을 증가시킬 수 있음을 밝힌 것이다. 그러나 동일한 생화학적 효과를 제공할 수 있다는 것이 세포손상에 대하여도 똑같은 기능적·형태학적 방어효과를 가질 수 있는지를 밝히기 위하여서는 더 많은 병리조직 관찰과 더불어 전자현미경적 변화에 대한 연구가 계속되어야 할 것이다.

## 결 론

허혈-재관류 손상(IRI)은 신생아에서 생명을 위협하는 괴사성장염의 주병인으로 추정되고 있으며 allopurinol은 허혈성 손상을 경감시키는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 신생쥐에서 임상적용이 가능한 양의 allopurinol 현탁액을 수유를 통하여 1주일간 투여한 후 혈청요소산치와 인위적으로 상장간막혈류를 차단하여 유도한 장점막의 IRI에 대한 경감효과를 알아보기 위하여 Sprague-Dawley종 신생쥐 140마리를 allopurinol로 처치한 실험군(70마리)과 대조군(70마리)으로 나누어 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 대조군의 혈청요소산치는  $7.32 \pm 1.18$ mg/dl이었고, 실험군은  $1.93 \pm 0.64$ mg/dl로써 실험군에서 현저히 낮았다( $p < 0.005$ ).

2) 장조직의 손상정도는 허혈기나 재관류기 모든 조직에서 혈류차단시간이 길수록 손상정도가 심하

였다( $p < 0.1 \sim 0.025$ ). 그러나 각각의 혈류차단시간에 따른 실험군과 대조군 사이의 조직손상을 비교하면 뚜렷한 차이는 없었고 다만 혈류차단시간 5분과 10분후 재관류시킨 실험군의 조직손상은 대조군보다 경미하였다.

3) 허혈-재관류손상후 죽은 쥐는 전예가 손상후 3일 이내이었고, 사망율은 대조군이 69.4%, 실험군이 52.8%로 실험군에서 낮았다( $p < 0.1$ ). 혈류차단시간이 길수록 양군 모두 사망율이 증가하였으나 혈류차단시간에 따른 양군의 사망율에서 현저한 차이는 없었다.

이상의 결과에서, 안전한 양의 allopurinol을 신생쥐에게 수유에 의하여 투여하면 기대하는 약물효과를 얻을 수 있다는 것과 허혈-재관류 손상후 생존율을 증가시킬 수 있음을 알 수 있다. 그러나 allopurinol의 IRI방어기전을 알기 위하여서는 allopurinol로 전처치한 신생쥐에서 혈청요소산치의 감소가 허혈-재관류 손상시 세포손상에 대하여도 동일한 기능적·형태학적 방어효과가 있는지 계속적인 연구를 필요로 한다.

## References

- 1) McCord JM : Oxygen derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985 ; 312 : 159-163
- 2) Parks DA, Granger DN : Contribution of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol* 1986 ; 250 : 749-753
- 3) Finkelstein I, Toledo-Pereya LH, Castillo M, et al : Comparative analysis of pharmacological agents following small bowel ischemia. *Transplant Proc* 1988 ; 20 : 1043-1044
- 4) Amoury RA : Necrotizing enterocolitis. Cited from Aschcraft KW, Holder TM : *Pediatric Surgery*. 2nd ed Philadelphia, WB Saunders Comp. 1993 : pp341-357
- 5) Clark DA, Fornabio MD, McNeill H, et al : Contribution of oxygen-derived free radicals to experimental necrotizing enterocolitis. *Am J Pathol* 1988 ; 130(3) : 537-542
- 6) Kliegman RM, et al : Neonatal necrotizing enterocolitis : Pathogenesis classification, and spectrum of illness. *Curr Prob Pediatr* 1987 ; 17 : 213-217
- 7) Krasna IH, Howell C, Vega A, et al : A mouse model

- for the study of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 1986 ; 21(1) : 26-29
- 8) 김동윤 · 김우기 : 흰쥐에서의 실험적 괴사성장염. *외과학회지* 1991 ; 40 : 521-528
  - 9) 최금자 : Allopurinol 현탁액 경구투여가 흰쥐의 인위적인 장관막허혈에서 장점막손상과 생존율에 미치는 효과. *이화의대지* 1992 ; 15 : 23-31
  - 10) Chiu CJ, McArdle AH, Bwown R, et al : *Intestinal mucosal lesion in low flow states. Arch Surg* 1970 ; 101 : 478-483
  - 11) Kosloske AM : *Surgery of necrotizing enterocolitis. World J Surg* 1985 ; 9 : 277-284
  - 12) Carrico CJ, Meakins JL, Marshall JC, et al : *Multiple-organ-failure syndrome. Arch Surg* 1986 ; 121 : 196-208
  - 13) Butterfield JD, McGraw CP : *Free radical pathology. Stroke* 1978 ; 9 : 443-445
  - 14) Mickelson AM, Buckingham ME : *Effects of superoxide radicals on myoblast growth and differentiation. Biochem Biophys Res Commun* 1974 ; 58 : 1079-1086
  - 15) Tappel AL : *Lipid peroxidation damage to cell components. Fed Proc* 1973 ; 32 : 1870-1874
  - 16) Vaughan WG, Horton JW, Walker PB : *Allopurinol prevents intestinal permeability changes after ischemia-reperfusion injury. J Pediatr Surg* 1992 ; 27 : 968-973
  - 17) Granger DN : *Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. Am J Physiol* 1988 ; 255 : H1269-H1275
  - 18) Boorstein JM, Dacey LJ, Cronenwett JL : *Pharmacologic treatment of occlusive mesenteric ischemia in rats. J Surg Res* 1988 ; 44 : 555-560
  - 19) Schoenberg MH, Fredholm BB, Haglund U, et al : *Studies on the oxygen radical mechanism involved in the small intestinal reperfusion damage. Acta Physiol Scand* 1985 ; 124 : 581-589
  - 20) Das DK, Engelman RM, Clement R, et al : *Role of xanthine oxidase inhibitor as free radical scavenger : A novel mechanism of action of allopurinol and oxypurinol in myocardial salvage. Biochem Biophys Res Commun* 1987 ; 148 : 314-319
  - 21) Megison SM, Horton JW, Chao H, et al : *High dose versus low dose enteral allopurinol for prophylaxis in mesenteric ischemia. Circ Shock* 1990 ; 30 : 323-329
  - 22) Langer JC, Sohal SS, Riddell RH : *Mild intestinal ischemia-reperfusion injury causes an early, transient increase in mucosal permeability in the rat. J Pediatr Surg* 1991 ; 26 : 502(abstr)
  - 23) Dalsing MC, Sieber P, Grosfeld JL, et al : *Ischemic Bowel : The protective effects of free-radical anion scavengers. J Pediatr Surg* 1983 ; 18 : 360-364
  - 24) Chun K, et al : *Intestinal villus microcirculatory response to hemorrhage in adult and immature rats. J Pediatr Surg* 1992 ; 27 : 322-328
  - 25) Brown MF, et al : *The effect of platelet activating factor and cocaine on small bowel : An evaluation of an isolated perfusion system. J Pediatr Surg* 1992 ; 27 : 394
  - 26) Horton JW : *Alterations in intestinal permeability and blood flow in a new model of mesenteric ischemia. Circ Shock* 1992 ; 36 : 134-139
  - 27) Allan G, Cambridge D, Lee-Tsang-Tan L, et al : *The protective action of allopurinol in an experimental model of hemorrhagic shock and reperfusion. Br J Pharm* 1986 ; 89 : 149-155
  - 28) Barlow B, Santulli TV, Heird WC, et al : *An experimental study of acute neonatal enterocolitis-The importance of breast milk. J Pediatr Surg* 1974 ; 5 : 587-592