

심근 허혈-재관류 손상에 미치는 β 아드레날린성 수용체 봉쇄약물의 영향

계명대학교 의과대학 약리학교실 및 의과학연구소

박창교 · 이성룡 · 김수경

서 론

허혈-재관류에 대한 연구가 광범위하게 진행되어 있지만 장기 손상에 대한 기전은 확실치 않으며 아직도 많은 부분이 해명되어 있지 않은 상태이다. 허혈시에 심근내 high-energy 인산 함량은 감소되고 젖산은 증가하며, action potential 기간이 단축되고 부정맥이 발생된다(Wissner, 1974; Thandroyen et al, 1983). 그러나 심근 허혈에 의한 심장기능의 자율신경계 조절의 이상에 대한 명확한 생화학적 기전은 아직 밝혀져 있지 않다(Susanni et al, 1989). 심근허혈시 심장의 β adrenergic 수용체의 수가 증가되고 cyclic AMP 함량이 증가한다는 보고(Mukherjee et al, 1979)와, β adrenoceptor 신호전달계는 심근손상에 의해 장애를 일으키지 않았다는 상반된 보고가 있다(Fu et al, 1992). 심근허혈시 자율신경계 β adrenoceptor의 작용으로 cyclic AMP가 축적되어 심근 수축의 이상 즉 부정맥을 발생시킨다고 하며 (Corr et al, 1978), 심근손상은 허혈-재관류 동안에 생성된 free radical과 lipase에 의해 세포막의 투과도가 변화하기 때문에 발생된다고 한다(Ferrari et al, 1991). 또한 심근허혈시 energy가 소진된 상태에서 중개자에 의해 정상 수송 방향과 반대로 세포외로 유리된 과량의 catecholamine은 심근경색과 유사한 심근 세포 손상을 유발하여 심장손상을 일으킨다고도 한다(Wheatley et al, 1985; Richardt et al, 1990). Adriamycin은 심장독성이 있는 항암제로써, 심근세포 myofibrils의 감소, mitochondria의 팽창 및 Z-band의 와해 등 형태학적 변화를 일으키고 심장의 리듬이상을 초래하며(Lampidis et al, 1980) 또한 actin 함량의 감소도 초래하는데 이것이 수축기능 이상과 관련이 있다고 생각하지만(Lewis and Gonzalez,

1986), adriamycin의 심장독성은 세포막의 지질과 산화와 세포손상을 일으키는 oxygen free radical에 의해 일어나는 것으로 알려져 있다(Doroshow, 1983; Ogura et al, 1991). 한편 adriamycin은 매우 강력한 항암제의 하나이지만 심장독성이 있어 그 임상적 유용성은 점점 감소하고 있다. 그러나 체내에는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase, catalase 등의 free radical scavenger에 의하여 oxygen free radical에 의한 심장손상이 보호된다(Doroshow et al, 1980; Jolly et al, 1984). 이 연구에서는 adriamycin에 장기간 노출되어 free radical에 의한 손상을 받은 심장에 β adrenoceptor 관련 약물을 전처치하여 이를 약물의 허혈-재관류 손상에 미치는 영향을 알아보고자, lactate dehydrogenase(LDH) 활성도를 측정하여 허혈에 의한 심근세포의 손상정도를 확인하고(Murphy et al, 1982) 지질과산화로 인한 세포손상을 알아보기 위해 malondialdehyde(MDA) 함량을 측정하였으며 심장보호 효과를 알아보고자 SOD의 활성도를 측정하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험군

실험동물은 동일 장소에서 3주 이상 동일한 사료로 사육한 체중 300g 내외의 Sprague-Dawley종의 수컷 흰쥐를 사용하였다. Adriamycin(1mg / kg / day, i. p.) 처치는 4주간 실시하였으며 실험군은 metoprolol, acebutolol 및 atenolol(각각 1×10^{-3} M 및 3×10^{-3} M) 전처치군으로 나누었다. Saline(0.85%) 처치군을 대조군으로 하였으며 각 실험군 당 6마리 내외의 흰쥐가 사용되었다.

혈액응고를 막기 위해 heparin(500U / 100g, i. p.)을 주사하고 30분 후에 단두하여 희생시킨 후, 즉

시 심장을 적출하여 차가운 Krebs-Henseleit 완충용액에 담구고 Langendorff 방법에 의한 관류장치에 대동맥을 연결하여 5% CO₂와 95% O₂ 혼합가스로 포화된 37°C의 Krebs-Henseleit 완충용액(120mM NaCl, 20mM NaHCO₃, 4.63mM KCl, 1.2mM MgSO₄, 1.17mM KH₂PO₄, 2.5mM CaCl₂, 8mM Glucose)을 80cm 높이의 수압하에서 10ml/min의 일정속도로 관류되도록 하였다. 적출한 심장을 30분간 안정시킨 후 상기 약물 metoprolol, acebutolol 및 atenolol 1ml를 허혈 실시전 관류액과 함께 3분간 전처치하였다. 허혈상태는 관류액을 60분간 차단하고 질소 가스로 포화된 glucose가 없는 Krebs-Henseleit 완충용액에 담구어 유발시켰으며, 그 이후 다시 재관류를 실시하여 0, 3, 5, 10, 15 및 20분에 심장을 통해 흘러 나온 관류액을 각각 채취하였다.

2. Lactate dehydrogenase(LDH) 활성도의 측정

관류액에 유리되어 있는 LDH 활성도를 측정하여 심근손상의 지표로 삼았으며 LDH의 활성도는 Eiken Chemical Company의 LDH kit를 사용하였으며 spectrophotometer로 파장 570nm에서 흡광도를 측정하여 결정하였다.

3. Malondialdehyde(MDA) 함량의 측정

Thiobarbituric acid 방법(Buege and Aust, 1978)을 이용하여 관류액 내의 MDA의 농도를 측정하여 심근조직내의 지질파산화의 정도를 측정하였다. 관류액 2.4ml를 thiobarbituric acid-glacial acetic acid (1:1) reagent 0.6ml와 완전히 섞고 수조에서 60분간 가열하여 냉각시킨 후 spectrophotometer로 파장 535nm에서 흡광도를 측정하였다.

4. Superoxide dismutase(SOD) 활성도의 측정

심실근조직을 0.16M KCl이 포함된 0.2M tris(hydroxy-methyl) aminomethane(Tris)-HCl 완충용액(pH 7.4)으로 균질화 시켜서 0.5ml를 채취하여 Sun의(1988)의 방법에 의하여 0.3mM xanthine, 0.6 mM EDTA, 150 μM nitroblue tetrazolium, 400 mM Na₂CO₃, 및 albumin(1g/l)의 조성을 가진 SOD assay reagent 2.4ml와 잘 섞고 여기에 xanthine oxidase(167 U/l) 100 μl를 넣은 후 25°C 항온조에서 20분간 반응시켰다. 0.8mM의 CuCl₂ 1ml를 넣어 반응을 중단시킨 후 spectrophotometer로 파장 560nm에서 흡광도를 측정하여 표준치와 비교하

여 활성도를 결정하였다.

5. Protein 함량의 측정

관류액과 심근조직의 protein 함량은 bovine serum albumin을 표준으로 하여 Lowry 방법(Lowry et al, 1951)으로 측정하였다.

6. 통계학적 분석

측정한 자료는 평균 ± 표준오차로 표현하였으며 통계학적 분석은 Student's t-test를 이용하였고 p 값이 0.05 미만인 경우를 통계학적 의의가 있는 것으로 하였다.

결 과

1. Adriamycin의 영향

Adriamycin 4주간 처치군에서 LDH 활성도는 처치하지 않은 군에 비하여 전반적으로 증가의 경향을 보였으며 재관류 3, 10, 15 및 20분에 유의한 증가를 보였다(Table 1). Adriamycin 4주간 처치군에서 MDA 함량은 처치하지 않은 군에 비하여 전반적으로 증가의 경향을 보였으며 재관류 0, 3, 5 및 10분에 유의한 증가를 보였다(Table 2). SOD 활성도는 증가의 경향을 보였으나 통계학적으로 유의하지는 않았다(Table 3).

2. Metoprolol의 영향

1×10^{-3} M metoprolol 전처치군에서 LDH 활성도는 대조군에 비하여 전반적으로 감소의 경향을 보였으며 재관류 3분에 대조치 329.1 ± 70.6 unit/mg protein에 비하여 유의한 감소를 보였으며, 재관류 10분에서도 대조치 920.3 ± 95.1 unit/mg protein에 비하여 유의한 감소를 보였다. 3×10^{-3} M metoprolol 전처치군에서 LDH 활성도는 재관류 5분치는 대조치 348.3 ± 83.4 unit/mg protein에 비하여 유의한 증가를 보였다(Table 1, Fig. 1). 1×10^{-3} M 및 3×10^{-3} M metoprolol 전처치군에서 MDA 함량은 대조군에 비하여 유의한 변화를 보이지 않았다(Table 2, Fig. 1). 1×10^{-3} M 및 3×10^{-3} M metoprolol 전처치군에서 SOD 활성도는 대조군에 비하여 증가의 경향을 보였으나 통계학적으로 유의하지는 않았다(Table 3, Fig. 4).

Table 1. Effects of metoprolol, acebutolol, and atenolol on the LDH activity(unit/mg protein) in reperfusion injury of isolated rat heart after chronic adriamycin treatment

Pretreatment	Reperfusion period(min)						
	-60	0	3	5	10	15	20
Normal	112.7 ± 30.0	154.4 ± 49.6	103.2 ± 64.1	127.1 ± 82.0	235.2 ± 53.9	427.6 ± 87.6	543.6 ± 76.3
Control: Saline	68.8 ± 12.4	228.0 ± 38.1	329.1 ± 70.6 ^{††}	348.3 ± 83.4	920.3 ± 95.1 ^{††}	1042.0 ± 167.4 ^{††}	1169.8 ± 252.8 ^{††}
Metoprolol (1×10^{-3} M)	126.8 ± 30.4	158.9 ± 30.0	124.2 ± 26.4 [*]	194.8 ± 43.0	528.5 ± 14.0 ^{**}	660.2 ± 153.7	902.8 ± 82.2
Metoprolol (3×10^{-3} M)	99.4 ± 5.7	207.4 ± 8.7	378.5 ± 18.7	621.3 ± 29.5 [*]	883.9 ± 28.9	980.9 ± 80.9	1185.2 ± 88.8
Acebutolol (1×10^{-3} M)	102.0 ± 19.6	344.7 ± 71.3	325.3 ± 55.9	554.4 ± 112.1	820.3 ± 122.1	890.6 ± 99.0	897.2 ± 115.1
Acebutolol (3×10^{-3} M)	100.4 ± 13.2	209.2 ± 48.4	303.8 ± 11.7	360.8 ± 22.4	440.5 ± 70.2 ^{**}	548.8 ± 47.7 [*]	618.0 ± 34.2
Atenolol (1×10^{-3} M)	111.9 ± 20.7	203.5 ± 49.5	343.1 ± 75.1	402.9 ± 94.3	723.6 ± 129.9	994.7 ± 124.3	1044.4 ± 246.3
Atenolol (3×10^{-3} M)	96.5 ± 15.7	201.7 ± 26.0	373.1 ± 35.8	504.1 ± 48.2	859.9 ± 103.9	1059.8 ± 118.7	1142.0 ± 134.85

Values represent the mean ± S.E.M.

† Significantly different from normal group († : p < 0.05, †† : p < 0.01)

* Significantly different from control group (* : p < 0.05, ** : p < 0.01)

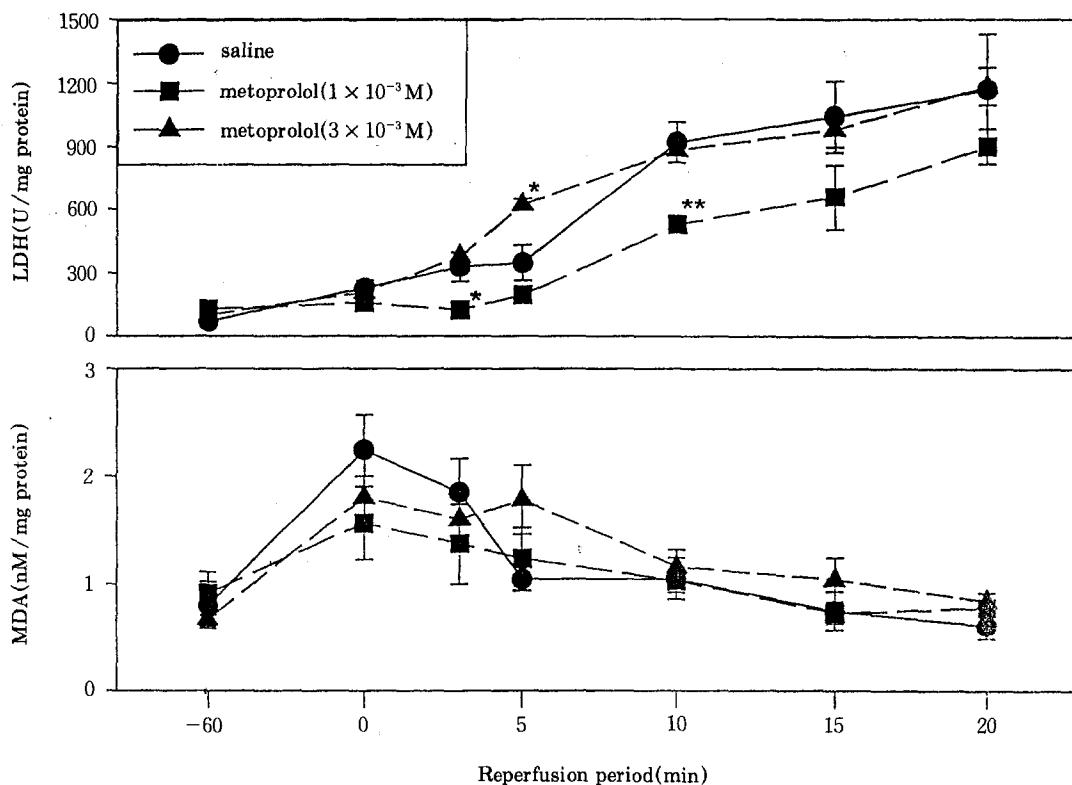


Fig. 1. Effect of metoprolol on the LDH activity and the MDA content in reperfusion injury of isolated rat heart after chronic adriamycin treatment. * : p < 0.05, ** : p < 0.01

Table 2. Effects of metoprolol, acebutolol, and atenolol on the MDA content(nM/mg protein) in reperfusion injury of isolated rat heart after chronic adriamycin treatment

Pretreat- ment	-60	Reperfusion period(min)					
		0	3	5	10	15	20
Normal	0.40 ± 0.09	1.10 ± 0.12	0.55 ± 0.15	0.45 ± 0.15	0.41 ± 0.14	0.62 ± 0.13	0.74 ± 0.21
Control: Saline	0.80 ± 0.22	2.24 ± 0.33 [†]	1.85 ± 0.31 ^{††}	1.04 ± 0.11 ^{††}	1.05 ± 0.19 ^{††}	0.75 ± 0.18	0.61 ± 0.12
Metoprolol (1×10^{-3} M)	0.91 ± 0.20	1.56 ± 0.34	1.37 ± 0.37	1.23 ± 0.29	1.03 ± 0.11	0.73 ± 0.10	0.78 ± 0.08
Metoprolol (3×10^{-3} M)	0.67 ± 0.07	1.80 ± 0.20	1.60 ± 0.26	1.78 ± 0.32	1.16 ± 0.16	1.04 ± 0.20	0.84 ± 0.08
Acebutolol (1×10^{-3} M)	0.88 ± 0.12	1.06 ± 0.15*	0.87 ± 0.25*	1.23 ± 0.33	1.16 ± 0.18	0.69 ± 0.09	0.64 ± 0.11
Acebutolol (3×10^{-3} M)	0.94 ± 0.12	1.72 ± 0.22	1.39 ± 0.33	1.59 ± 0.12	1.47 ± 0.21*	1.06 ± 0.24	0.80 ± 0.17
Atenolol (1×10^{-3} M)	0.71 ± 0.16	0.88 ± 0.11**	0.69 ± 0.20**	0.70 ± 0.16	0.76 ± 0.12	0.70 ± 0.12	0.49 ± 0.15
Atenolol (3×10^{-3} M)	0.95 ± 0.10	2.04 ± 0.16	1.81 ± 0.12	1.57 ± 0.25	1.33 ± 0.13	1.18 ± 0.17	0.96 ± 0.14

Values represent the mean ± S. E. M.

[†] Significantly different from normal group ([†]: p < 0.05, ^{††}: p < 0.01)

* Significantly different from control group (*: 0.05, **: p < 0.01)

Table 3. Effects of metoprolol, acebutolol, and atenolol on the SOD activity in reperfusion injury of isolated rat heart after chronic adriamycin treatment

Pretreatment	SOD activity (U/mg protein)
Normal	2.71 ± 0.49
Control: Saline	5.04 ± 0.91
Metoprolol	
1×10^{-3} M	5.99 ± 0.96
3×10^{-3} M	6.06 ± 0.66
Acebutolol	
1×10^{-3} M	5.69 ± 1.06
3×10^{-3} M	6.91 ± 0.66
Atenolol	
1×10^{-3} M	6.73 ± 1.24
3×10^{-3} M	7.57 ± 0.84

3. Acebutolol의 영향

3×10^{-3} M acebutolol 전처치군에서 LDH 활성도는 대조군에 비하여 전반적으로 감소의 경향을 보였으며 재관류 10분에 대조치 920.3 ± 95.1unit/mg

protein에 비하여 유의한 감소를 보였으며, 재관류 15분에서도 대조치 1042.0 ± 167.4unit/mg protein에 비해 유의한 감소를 보였다(Table 1, Fig. 2). 1×10^{-3} M acebutolol 전처치군에서 MDA 함량은 재관류 0분치는 대조치 2.24 ± 0.33nM/mg protein에 비하여 유의한 감소를 보였으며, 재관류 3분에서도 대조치 1.85 ± 0.31nM/mg protein에 비해 유의한 감소를 보였다. 3×10^{-3} M acebutolol 전처치군에서 MDA 함량은 재관류 10분에 대조치 1.05 ± 0.19nM/mg protein에 비하여 유의한 증가를 보였다(Table 2, Fig. 2). 1×10^{-3} M 및 3×10^{-3} M acebutolol 전처치군에서 SOD 활성도는 대조군에 비하여 증가의 경향을 보였으나 통계학적으로 유의하지는 않았다(Table 3, Fig. 4).

4. Atenolol의 영향

1×10^{-3} M 및 3×10^{-3} M atenolol 전처치군에서 LDH 활성도는 대조군에 비하여 유의한 변화를 보이지 않았다(Table 1, Fig. 3). 1×10^{-3} M atenolol 전처치군에서 MDA 함량은 대조군에 비하여 전반적으로 감소의 경향을 보였으며 재관류 0분치는 대조치 2.24 ± 0.33nM/mg protein에 비하여 유의한

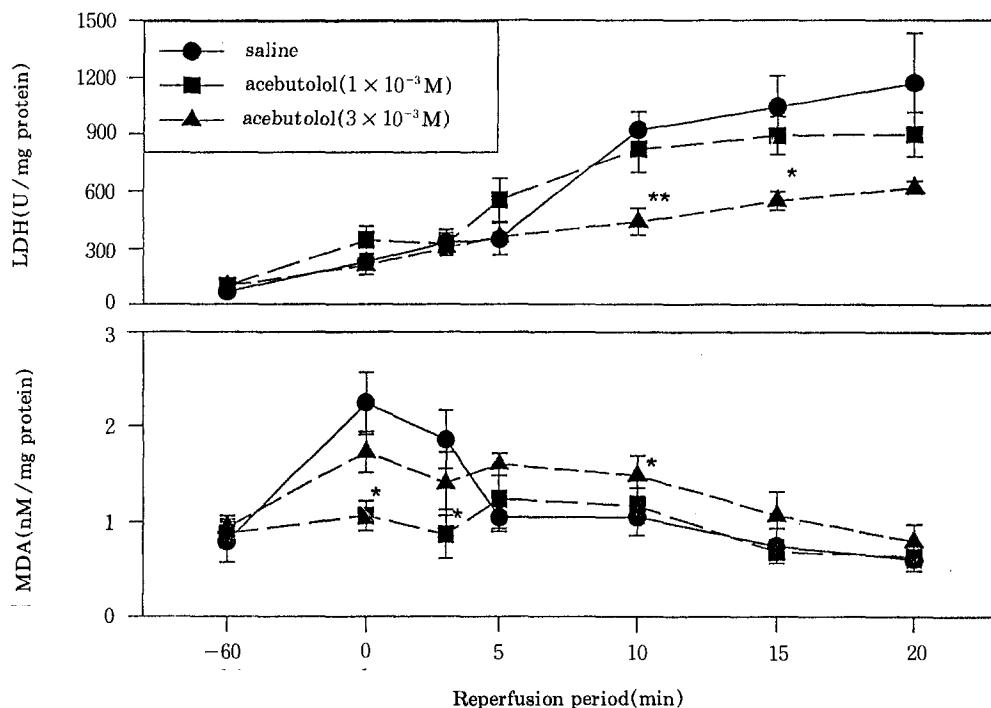


Fig. 2. Effect of acebutolol on the LDH activity and the MDA content in reperfusion injury of isolated rat heart after chronic adriamycin treatment. *: p < 0.05, **: p < 0.01

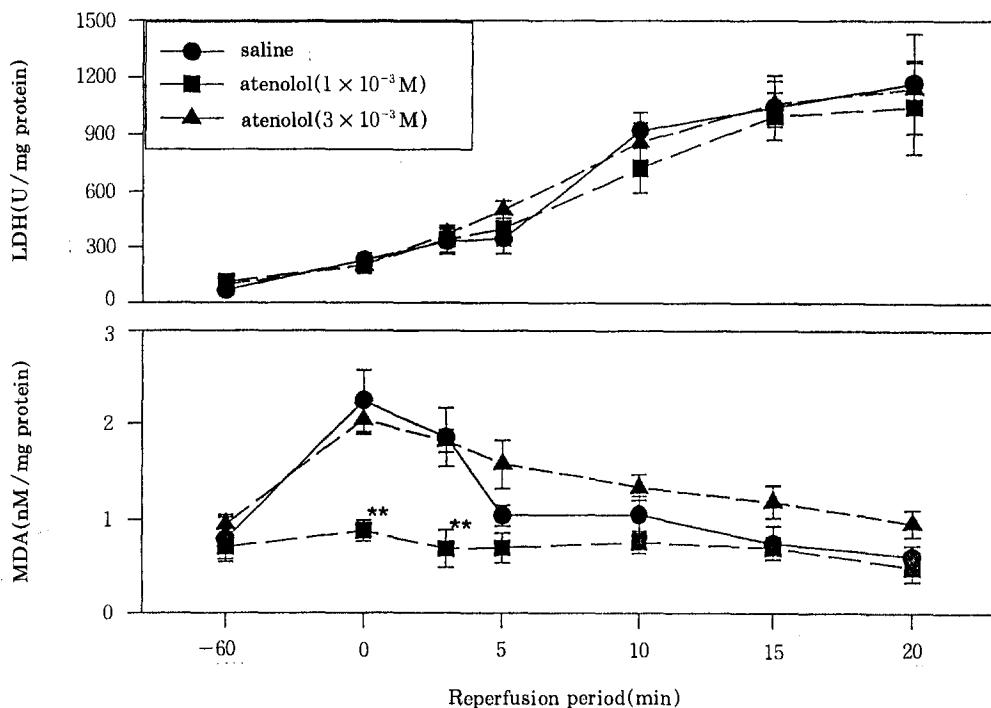


Fig. 3. Effect of atenolol on the LDH activity and the MDA content in reperfusion injury of isolated rat heart after chronic adriamycin treatment. **: p < 0.01

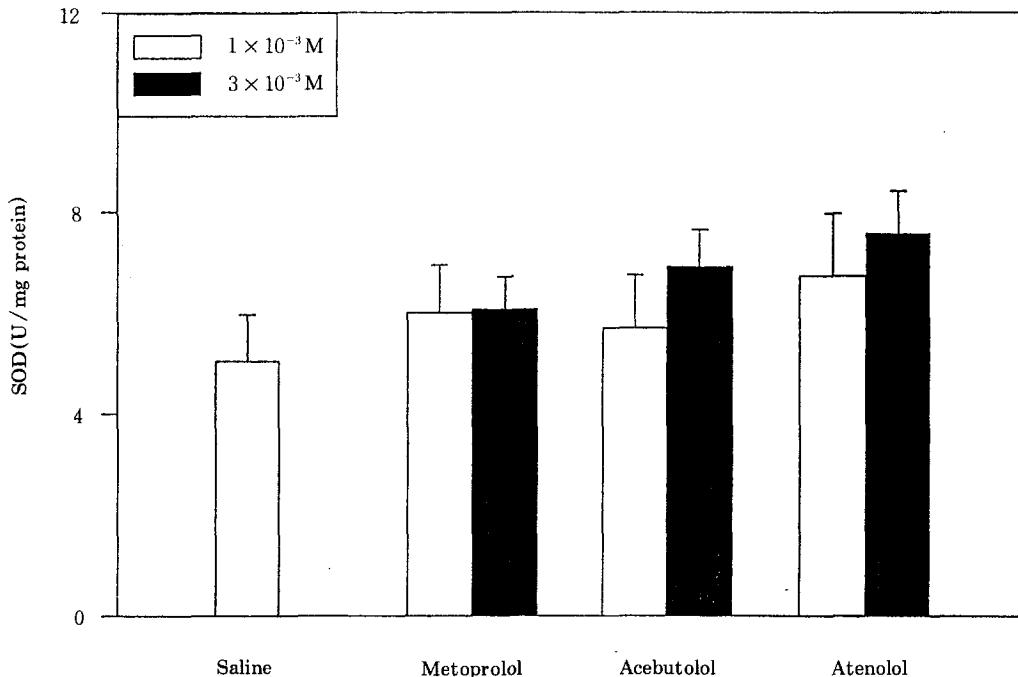


Fig. 4. Effects of metoprolol, acebutolol, and atenolol on the SOD activity in reperfusion injury of isolated rat heart after chronic adriamycin treatment.

감소를 보였으며, 재관류 3분에서도 대조치 $1.85 \pm 0.31 \text{nM}/\text{mg protein}$ 에 비해 유의한 감소를 보였다 (Table 2, Fig. 3). $1 \times 10^{-3} \text{M}$ 및 $3 \times 10^{-3} \text{M}$ atenolol 전처치군에서 SOD 활성도는 대조군에 비하여 증가의 경향을 보였으나 통계학적으로 유의하지는 않았다 (Table 3, Fig. 4).

고 찰

허혈 심장손상에 대해 β adrenoceptor 길항제의 보호 효과에 대한 연구는 다수 있다 (Thadani et al, 1979; Taylor et al, 1982; Malloy et al, 1986; Richardson et al 1990). 그 기전으로는 허혈에 의해 유리된 catecholamine에 의한 심부정맥의 억제 (Campbell and Parratt, 1983; Thandroyen et al, 1983), energy-sparing 효과, phospholipase A 활성화의 억제, 세포내 산성화 억제 (Malloy et al, 1986), calcium 유입의 증가 (Zwieten, 1993) 등 몇가지를 추측하고 있다. 그러므로 calcium 길항제, α adrenoceptor 길항제, 부정맥 치료제 등이 허혈 심근에서 치료적인 작용을 나타낸다고 한다 (Takeo et al, 1988; Takeo et al, 1989; Tanonaka et al, 1989). 세포내로

calcium의 유입 감소 (Ferry and Kaumann, 1987), α adrenoceptor에 의한 calcium 촉진의 봉쇄 (Sharma et al, 1983), 심근수축력과 coronary flow의 증가 (Edwards et al, 1989), 부정맥 발생의 억제 등의 작용기전으로 심장보호 효과가 나타난다고 하지만 아직 명확하지는 않다.

Catecholamine은 허혈과 재관류의 초기에 많은 양이 유리되므로 (Karwatowska-Krynska and Beresewicz, 1983) 이들 β adrenoceptor 길항제가 catecholamine에 대한 작용으로 심장보호 효과를 나타낼 수 있다고 생각되나, 이 실험의 조건에서 재관류 초기에는 이들 제제가 투여되지 않았으므로 재관류 손상에 대한 심장보호작용은 설명할 수 없다고 하겠다. 그러나 심근조직내 high-energy 인산치는 허혈-재관류에 의하여 감소되는데, 재관류시켰을 때 심근조직내 high-energy 인산치는 acebutolol에 의해서 허혈-재관류 손상을 받지 않은 군에 가깝게 회복되었지만 metoprolol과 atenolol에 의해서는 회복이 되지 않았다고 하는 보고가 있으며 (Takeo et al, 1990), 과량의 calcium이 mitochondria에서 ATP-dependent하게 uptake되어 high-energy 인산을 소진시키며 (Dhalla, 1976), phospholipase를 활성화시켜 지

질세포막손상을 유발한다고 한다(Das et al, 1986; Chiariello et al, 1987). 그런데 허혈에 의한 calcium 유입의 증가는 β adrenoceptor 길항제에 의해서 감소되며 이로 인해 calcium에 의한 세포손상이 억제된다고 한다(Takeo et al, 1990). 심근허혈은 심근의 high-energy 인산의 소진과 phospholipase A의 활성화로 세포막의 투과도에 변화를 일으키며 결국 sarcolemma의 파괴를 일으키는데 이러한 허혈-재관류에 의한 세포막 투과도의 변화도 β adrenoceptor 길항제에 의해서 억제된다고 한다(Buja and Willerson, 1981). 한편 재관류 동안에 증가된 oxygen free radical은 phospholipid가 풍부한 심근세포의 sarcolemma를 주로 침범하게 되므로 세포막 지질과산화에 의한 손상의 지표로 MDA 함량이 흔히 측정된다.

이 연구에서는 adriamycin을 장기간 처치하여 free radical에 의한 심근세포막의 지질과산화를 유발한 상태에서의 β adrenoceptor 길항제의 작용을 살펴보고자 하였으며 β adrenoceptor 길항제 중에서도 막안정화 작용을 가진 acebutolol과 이러한 작용이 없는 metoprolol과 atenolol을 사용하여 심장보호 효과를 비교, 검토해 보고자 하였다. LDH 활성도의 변동을 보아 1×10^{-3} M metoprolol을 투여하였을 때와 3×10^{-3} M acebutolol을 투여하였을 때 허혈과 재관류 동안 전반적인 심장보호 효과를 보였으며, metoprolol과 atenolol은 농도가 1×10^{-3} M에서 3×10^{-3} M로 증가 했을 때 오히려 LDH 활성도가 증가하여 심장보호 효과가 감약되었으나 acebutolol은 농도가 1×10^{-3} M에서 3×10^{-3} M로 증가함에 따라 LDH 활성도가 감소하여 심장보호 효과가 증대되었다. Saline 투여군과 비교했을 때 metoprolol, acebutolol, 및 atenolol 처치는 전반적으로 MDA 함량을 감소시켜 심장보호 효과를 나타내었으며 1×10^{-3} M acebutolol을 투여하였을 때와 1×10^{-3} M atenolol을 투여하였을 때 MDA 함량은 각각 재관류 0분과 3분에 의의 있는 감소를 보여 재관류 초기에 심장보호 효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 농도가 1×10^{-3} M에서 3×10^{-3} M로 증가 했을 때 오히려 MDA 농도가 증가되어 심장보호 효과가 감약되어 나타나므로 용량의존적 반응은 볼 수 없었다. LDH를 허혈에 의한 손상지표로, 또한 MDA를 재관류에 의한 지질과산화에 의한 손상의 지표로 본다면, β adrenoceptor 길항제 중에서 metoprolol은 허혈에 의한 손상에 보호의 경향을 나타내었으며 atenolol은 지질과산화에 의한 손상에 보호의 경향

을 나타내었다. 막안정화 작용이 있는 acebutolol은 허혈과 지질과산화에 의한 손상 모두에서 보호작용을 나타내고 있다. 이상의 결과로 보았을 때 허혈-재관류에 의한 심근손상에 있어서 심근세포막의 지질과산화 및 투과도 변화가 주요 인자로 생각되며 세포막의 안정화가 이를 방어하는데 필요하며 β adrenoceptor 길항제의 작용은 생성된 oxygen free radical에 대한 직접작용이 아니고 sarcolemmal membrane lipids와의 상호작용에 의하여 지질과산화를 억제하는 것으로 생각된다(Mak and Weglicki, 1988).

앞에서도 언급한 바와 같이 우리 체내에는 SOD, glutathione peroxidase, 및 catalase 등의 free radical scavenger가 있어 허혈-재관류시 생성된 oxygen free radical에 의한 심장손상에 대처할 수 있다. 이 실험에서 adriamycin을 장기간 투여한 환쥐에서 β adrenoceptor 길항제를 전처치하고 심근조직내 SOD 활성도를 측정하였는데 saline 투여군에 비하여는 1×10^{-3} M 및 3×10^{-3} M 농도 모두에서 증가의 경향을 나타내었으나 통계학적으로 유의하지는 않았다. Adriamycin에 의한 심근손상시 α -actin, myosin light chain 2, cardiac troponin I 등의 sarcomeric muscle gene의 mRNA 함량이 감소되며 이러한 adriamycin의 muscle-specific gene들에 대한 영향은 선택적이라고 한다(Ito H et al, 1990). 4주간의 adriamycin 투여는 SOD 생성에 관여되는 유전자의 표현에 변화를 초래했을 것으로 생각되며, β adrenoceptor 길항제의 전처치는 허혈-재관류에 의한 손상을 방어하는 SOD의 활성도를 증가시키는 것으로 판단되었다.

이 연구의 결과로, β adrenoceptor 길항제에 의하여 허혈-재관류에 의한 심장손상이 LDH 및 SOD 활성도와 MDA 함량변동으로 보아 억제되는 것으로 나타났으나, 과량의 β adrenoceptor 길항제는 오히려 손상을 가중시킬 수도 있는 것으로 나타났다. β adrenoceptor 길항제 중에서 막안정화 작용이 있는 acebutolol이 허혈과 세포막 지질과산화에 의한 심근손상에 보다 효과적인 것으로 사료되는 바이다.

요약

허혈-재관류에 대한 연구가 광범위하게 진행되어 있지만 손상에 대한 기전은 확실치 않은 상태이다. 더구나 심근 허혈에 의한 심장기능의 자율신경계 조절의 이상에 대한 명확한 생화학적 기전은 아직 밝

혀져 있지 않다. 허혈-재관류 동안의 심근손상인자인 oxygen free radical과 lipase에 의한다. 이 연구에서는 세포막의 투과도에 변화를 유발하고자 adriamycin을 이용하였다. Adriamycin은 매우 강력한 항암제이지만 심장독성이 있으며 그 기전은 세포막의 지질파산화와 세포손상을 일으키는 oxygen free radical에 의한다. 이 연구에서는 손상을 받은 심장에 β adrenoceptor 길항약제 중에서 막안정화 작용을 가진 acebutolol과 이러한 작용이 없는 metoprolol과 atenolol을 사용하여 심장보호에 대한 작용을 비교 조사해 보고자 하였다. 그리하여 LDH 활성도를 측정하여 허혈에 의한 심근세포의 손상정도를 확인하고 지질파산화로 인한 세포손상은 MDA 함량을 측정하여 알아보고 심장보호 효과의 변화는 SOD의 활성도로 측정하였다.

이 연구결과로, β adrenoceptor 길항제에 의하여 허혈-재관류에 의한 심장손상이 억제되었으며 과량의 β adrenoceptor 길항제는 오히려 손상을 가중시킬수 있는 것으로 나타났다. 또한 β adrenoceptor 길항제 중에서 막안정화 작용이 있는 acebutolol이 허혈과 세포막 지질파산화에 의한 심근손상에 보다 효과적인 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

- Buja LM, Willerson JT: Abnormalities of volume regulation and membrane integrity in myocardial tissue slices after early ischemic injury in the dog. *Am J Pathol* 1981; 103(1): 79-95.
- Buege JA, Aust SD: Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol* 1978; 52: 302-310.
- Campbell CA, Parratt JR: The effect of β -adrenoceptor blocking agents, with differing ancillary properties, on the arrhythmias resulting from acute coronary artery ligation in anaesthetized rats. *Br J Pharmacol* 1983; 79: 939-946.
- Chiariello M, Ambrosio G, Cappelli-Bigazzi M, et al: Inhibition of ischemia-induced phospholipase activation by quinacrine protects jeopardized myocardium in rats with coronary artery occlusion. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 241(2): 560-568.
- Corr PB, Witkowski FX, Sobel BE: Mechanisms contributing to malignant dysrhythmias induced by ischemia in the cat. *J Clin Invest*

- 1978; 61: 109-119.
- Das DK, Engelman RM, Rousou JA, Breyer RH, Otani H, Lemeshow S: Role of membrane phospholipids in myocardial injury induced by ischemia and reperfusion. *Am J Physiol* 1986; 251: H71-H79.
- Dhalla NS: Involvement of membrane systems in heart failure due to intracellular calcium overload and deficiency. *J Mol Cell Cardiol* 1976; 8: 661-666.
- Doroshow JH: Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. *Cancer Res* 1983; 43: 460-472.
- Doroshow JH, Locker GY, Myers CE: Enzymatic defenses of the mouse heart against reactive oxygen metabolites. *J Clin Invest* 1980; 65: 128-135.
- Edwards SJ, Rattigan S, Colquhoun EQ, Lockwood SC, Woodcock EA, Clark MG: α_1 -Adrenergic control of contractility and coronary flow in the perfused rat heart. *Am J Physiol* 1989; 256: H334-H340.
- Ferrari R, Ceconi C, Curello S, et al: Role of oxygen free radicals in ischemic and reperfusion myocardium. *Am J Clin Nutr* 1991; 53 (suppl 1): 215S-222S.
- Ferry DR, Kaumann AJ: Relationship between β -adrenoceptors and calcium channels in human ventricular myocardium. *Br J Pharmacol* 1987; 90: 447-457.
- Fu LX, Ilebekk A, Kirkeben KA, et al: Oxygen free radical injury and G_s mediated signal transduction in the stunned porcine myocardium. *Cardiovasc Res* 1992; 26: 449-455.
- Ito H, Miller SC, Billingham ME, et al: Doxorubicin selectively inhibits muscle gene expression in cardiac muscle cells in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4,275-4,279.
- Jolly SR, Kane WJ, Bailie MB, Abrams GD, Lucchesi BR: Canine myocardial reperfusion injury: its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Circ Res* 1984; 54: 277-285.
- Karwatowska-krynska E, Bereschewicz A: Effect

- of locally released catecholamines on lipolysis and injury of the hypoxic isolated rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1983; 15: 523-536.
- Lampidis TJ, Henderson IC, Israel M, Canellos GP: Structural and functional effects of adriamycin on cardiac cells in vitro. *Cancer Res* 1980; 40: 3,901-3,909.
- Lewis W, Gonzalez B: Anthracycline effects on actin and actin-containing thin filaments in cultured neonatal rat myocardial cells. *Lab Invest* 1986; 54(4): 416-423.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
- Mak IT, Weglicki WB: Protection by β -blocking agents against free radical-mediated sarcolemmal lipid peroxidation. *Circ Res* 1988; 63(1): 262-266.
- Malloy CR, Matthews PM, Smith MB, Radda GK: Influence of propranolol on acidosis and high energy phosphates in ischaemic myocardium on the rabbit. *Cardiovasc Res* 1986; 20: 710-720.
- Mukherjee A, Wong TM, Buja LM, Lefkowitz RJ: Beta adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in canine myocardium. *J Clin Invest* 1979; 64: 1,423-1,428.
- Murphy MP, Hohl C, Brierley GP, Altschuld RA: Release of enzymes from adult rat heart myocytes. *Circ Res* 1982; 51: 560-568.
- Ogura R, Sugiyama M, Haramaki N, Hidaka T: Electron spin resonance studies on the mechanism of adriamycin-induced heart mitochondrial damages. *Cancer Res* 1991; 51: 3,555-3,558.
- Richardt G, Lump U, Haass M, Schomig A: Propranolol inhibits non-exocytotic noradrenaline release in myocardial ischemia. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1990; 341: 50-55.
- Sharma AD, Saffitz JE, Lee BI, Sobel BE, Corr PB: Alpha adrenergic-mediated accumulation of calcium in reperfused myocardium. *J Clin Invest* 1983; 72: 802-818.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y: A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34(3): 497-500.
- Susanni EE, Manders T, Knight DR, Vatner DE, Vatner SF, Homcy CJ: One hour of myocardial ischemia decreases the activity of the stimulatory guanine-nucleotide regulatory protein G_s. *Circ Res* 1989; 65(4): 1,145-1,150.
- Takeo S, Tanonaka K, Matsumoto M, Miyake K, Minematsu R: Cardioprotective action of alpha-blocking agents, phentolamine and bunazosin, on hypoxic and reoxygenated myocardium. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 246(2): 674-681.
- Takeo S, Tanonaka K, Shimizu K, Hirai K, Miyake K, Minematsu R: Beneficial effects of lidocaine and disopyramide on oxygen deficiency-induced contractile failure and metabolic disturbance in isolated rabbit hearts. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 248(1): 306-314.
- Takeo S, Yamada H, Tanonaka K, Hayashi M, Sunagawa N: Possible involvement of membrane-stabilizing action in beneficial effect of beta adrenoceptor blocking agents on hypoxic and posthypoxic myocardium. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 254(3): 847-856.
- Tanonaka K, Matsumoto M, Minematsu R, Miyake K, Murai R, Takeo S: Beneficial effect of amosulalol and phentolamine on post-hypoxic recovery of contractile force and energy metabolism in rabbit hearts. *Br J Pharmacol* 1989; 97: 513-523.
- Taylor SH, Silke B, Lee PS: Intravenous beta-blockade in coronary heart disease. *N Engl J Med* 1982; 306(11): 631-635.
- Thadani U, Davidson C, Singleton W, Taylor SH: Comparison of the immediate effects of five β -adrenoceptor-blocking drugs with different ancillary properties in angina pectoris. *N Engl J Med* 1979; 300(14): 750-755.
- Thandroyen FT, Worthington MG, Higginson LM, Opie LH: The effects of alpha- and beta-adrenoceptor antagonist agents on reperfusion ventricular fibrillation and metabolic status in the isolated perfused rat heart. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1(4): 1,056-1,066.

- Wheatley AM, Thandroyen FT, Opie LH: Catecholamine-induced myocardial cell damage: catecholamines or adrenochrome. *J Mol Cell Cardiol* 1985; 17: 349-359.
- Wissner SB: The effect of excess lactate upon the excitability of the sheep purkinje fiber. *J Electrocardiol* 1974; 7(1): 17-26.
- Zwieten PA: Protective effects of calcium antagonists in different organs and tissues. *Am Heart J* 1993; 125(2): 566-571.

=Abstract=

Effects of β Adrenoceptor Blockers on Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Heart

Chang Gyo Park, M. D., Seong Ryong Lee, M. D., and Soo Kyung Kim, M. D.

Department of Pharmacology and Institute for Medical Science,
Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

The effects of β adrenoceptor blockers(metoprolol, acebutolol, and atenolol) on the biochemical changes occurring following ischemia(60min) and reperfusion(20min) were examined in the isolated Langendorff perfused rat heart after chronic adriamycin(1mg/kg/day, i. p. for 4wks) treatment. The purpose of this study was to investigate whether the protections of β adrenergic blockers would be involved in ischemia-reperfusion injury of chronic adriamycin treated rat heart. The β adrenoceptor blockers showed the decrease of lactate dehydrogenase(LDH) activity and malondialdehyde(MDA) content and the no significance of superoxide dismutase(SOD) activity. Metoprolol and atenolol exhibited the increase of LDH activity in dose dependent.

Our results indicate that the significant protection is not observed by increasing the doses of metoprolol, acebutolol, and atenolol and appear to be independence on the doses of β adrenoceptor blockers in chronic free radical injured rat heart. Acebutolol which has the membrane stabilizing activity shows relative protective effect on the cardiac damage comparing with metoprolol and atenolol.

Key Words: β adrenoceptor blockers, ischemia, reperfusion