혈관 내피세포 기능 평가에서 내피세포의존성 혈관확장반응의 초기반응이 일어나기까지의 시간과 내피세포의존성 혈관확장반응의 비교

계명대학교 의과대학 내과학교실
이상준 · 이동욱 · 김기식 · 이인규

Comparison of the Lag Time to Initiation of Flow-Mediated Vasodilation to Endothelium-Dependent Vasodilation in the Early Diagnosis of Endothelial Dysfunction

Sang-Jun Lee, MD, Dong-Wook Lee, MD, Kee-Sik Kim, MD and In-Kyu Lee, MD
Department of Internal Medicine, Keimyung University Dongsan Medical Center, Daegu, Korea

ABSTRACT

Background : Endothelial dysfunction is an early event in atherogenesis. The conventional non-invasive methods, measuring flow mediated vasodilation at 1 minute after hyperemic condition, has some limitations. The purpose of this study is to evaluate the usefulness of the initial reaction time (IRT) following hyperemic condition as a new parameter of endothelial function. **Method** : Flow-mediated, endothelium-dependent vasodilation (FMD), endothelium-independent vasodilation (EID) and IRT were measured in 12 young diabetic patients (6 male and 6 female, mean age 26.3) and 12 age-matched healthy controls (6 male and 6 female, mean age 25.6), For the measurement of brachial arterial diameter, 7.5 MHz ultrasound was used and for the continuous monitoring of arterial diameter, a specially designed fixing device was applied to the all subjects. **Result** : There were no significant differences in BMI (body mass index), mean age or blood pressure between the normal control group and the young diabetic group. The FMD of the young diabetic patients was lower than that of the age-matched healthy controls (diabetic patients : 6.3±2.1%, healthy control : 8.9±2.7%, $p<0.05$). There was no significant difference in EID between the normal control and the young diabetic group. The IRT of FMD was significantly shorter in the healthy control group than in the young diabetic group (healthy control : 20.4±2.8 sec, diabetic group : 29.5±5.4 sec, $p<0.0001$). However, the IRT of EID showed no significant difference between the normal control group and the young diabetic group. The IRT of FMD showed a significant negative correlation with FMD ($r=-0.74$, $p<0.001$) and HDL cholesterol level ($r=-0.68$, $p<0.0001$). **Conclusion** : These findings strongly suggest that IRT can be used for the early diagnosis of endothelial dysfunction. **(Korean Circulation J 2001;31(9):867-876)**

KEY WORDS : Initial reaction time (IRT) · Flow-mediated · Endothelium-dependent vasodilation · Endothelial dysfunction · Vascular ultrasound.

논문접수일 : 2000년 9월 4일
심사완료일 : 2001년 7월 13일
교신저자 : 김기식, 700-712 대구광역시 중구 동산동 194 계명대학교 의과대학 내과학교실
전화 : (053) 250-7379 · 전송 : (053) 250-7434
E-mail : kks7379@dsmc.or.kr

서 론

과거 혈관내피세포는 혈류와 혈관벽 사이 경계의 기능을 하는 단순한 반투막으로 알려져 있었다. 1980년 Furchgott와 Zawadzkis는[1] 혈관내피세포가 혈관확장에 중요한 역할을 하는 내피세포의존성 혈관이완물질(EDRF : endothelial derived relaxing factors)인 산화질소(nitric oxide : NO)의 생산에 관여한다는 연구결과를 보고하였다. 이후 혈관내피세포에 관한 많은 연구에서 혈관내피세포는 기저반응 또는 어떤 유해한 외인성 자극에 의하여 혈관이완 물질인 산화질소를 분비하며,[2] 이외에도 혈관 활성물질인 프로스타글란딘(prostaglandin),[3] 엔도세린(endothelin)[4] 등의 분비를 적절히 조절함으로써 혈관 긴장도와 혈류를 잘 유지한다.[5)6)] 또한 혈관내피세포는 백혈구 부착 방지[7]와 혈소판 응집과 부착 방지[8] 및 동맥혈관 평활근 증식억제[9] 등과 같은 기전을 통하여 혈관 항상성 유지에 중요한 역할을 한다.

당뇨병,[10)11)] 고혈압,[12] 고지혈증[13] 및 비만[14] 등과 같은 죽상경화증의 위험인자를 동반하는 환자는 죽상경화증의 초기 병변으로 잘 알려진 혈관내피세포 기능장애를 나타내는 내피세포의존성 혈관확장반응의 장애가 비교적 초기부터 동반된다. 이는 이러한 위험인자가 있는 환자에서 일찍부터 혈관내피세포 기능장애로 인하여 내피세포의존성 혈관 이완물질인 산화질소 생산의 저하 또는 불활성화의 증가로 인한 산화질소의 생물학적 활성의 감소로 내피세포의존성 혈관확장반응의 장애가 발생한다고 알려져 있다.[15)16)] 그리고 이런 내피세포의존성 혈관확장반응의 장애는 향후 이들 환자에서 관상동맥질환의 발생위험이 증가되는 현상과 밀접한 관련이 있다.[17)18)]

최근 죽상경화증의 발생과 이의 합병증을 감소시키기 위해 죽상경화증의 조기 진단을 위하여 많은 노력을 기울여 왔다. 과거는 주로 침습적인 방법[19]을 이용하여 관상동맥의 내피세포의존성 혈관확장반응의 정도를 측정하여 혈관내피세포 기능장애를 평가했으나, 이 방법들은 재현성이나 치료 후 추적검사가 어렵다는 지적이 많다.[20] 이후 죽상경화증의 조기진단을 위한 선별검사로 고해상도 초음파를 이용한 내피세포의존성 혈관확장반응의 평가 등과 같은 비침습적인 방법의 연구가 많이 진행되었다.[17)21)22)] 그러나 최근 고해상도 초음파를 이용하여 죽상경화증의 초기 병변인 혈관내피세포 기능장애를 선별하기 위하여 내피세포의존성 혈관확장반응의 평가 방법을 이용할 경우 다소의 문제점이 있음을 제기하고 있다. 고해상도 초음파를 이용한 혈관 내경 측정시 초음파 탐촉자를 이용한 초음파 주사(scanning) 각도에 따라 직경 내경의 차이가 발생된다. 즉, 기저치 직경 측정 후 탐촉자를 측정위치에서 이탈 후 재측정을 위하여 재위치 할 때 탐촉자의 주사 각도가 차이가 난다. 또한 혈류매개성, 내피세포의존성 혈관확장반응이 최대로 일어나는 시간은 개개인마다 다소의 차이가 있으므로 동일 시간대의 혈류매개성, 내피세포의존성 혈관확장반응을 측정하는 것은 문제점이 있다. 그리고 정상성인 내에서도 혈류매개성, 내피세포의존성 혈관확장반응 값은 넓은 범위로 분포한다. 그래서 저자들은 혈관내피세포 기능장애를 평가하는데 있어서 고전적인 방법인 비침습적인 방법을 이용한 내피세포의존성 혈관확장반응을 이용한 방법의 정확성과 신뢰성을 높이는데 도움을 주기 위하여 이 연구를 시행하였다.

방 법

대상환자

계명대학교 의과대학교 학생들 중 고혈압, 당뇨병, 고지혈증, 비만 및 신경계 질환 등이 없으며, 가족력 상 죽상경화증의 위험 인자가 없는 건강 대조군 12명(평균연령 : 25.6±1.8세, 남녀 각각 6명)과 계명대학교 동산의료원 내분비내과를 방문한 환자 중 NDDG(National diabetes data group)[23]의 당뇨병 진단 기준 및 발생 연령, 케톤산증의 병력 등의 임상적 진단기준과 c-peptide 농도에 의해 제 1 형 당뇨병 또는 제 2 형 당뇨병으로 진단된 12명의 젊은 당뇨병환자(평균연령 : 26.3±3.5세, 남녀 각각 6명)로 구성된 두 대상군을 대상으로 이 연구를 실시하였다. 당뇨환자는 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 말초 신경병증, 허혈성 심질환, 당뇨병성 족부병변 등의 만성합병증이 없는 당뇨환자를 대상으로 했으며, 이들의 당뇨병 유병기간은 평균 14±11개월이었다.

방 법

모든 대상군은 야간 8시간 동안 금식 후 내피세포 기

능 검사를 실시했다. 내원 후 심초음파용 침대에 누워서 안정을 취하며 검사를 준비했다. 30분간 안정 후 기초 혈압 및 맥박 측정을 실시한 다음 혈액검사를 위하여 정맥혈 채혈을 실시하였다.

채혈 후 혈관내피세포 기능장애 평가는 고해상도 초음파를 이용한 상완동맥의 내피세포의존성 혈관확장반응 측정법을 사용하였다. 이와 같은 비침습적인 혈관내피세포 기능 측정 방법은 Cermajer 등[17]이 제일 먼저 고안한 방법에 기초를 두고 본 연구팀이 개발한 탐촉자 및 팔 고정 장치를 이용하였다(Fig. 1). 혈관 내피세포 기능 측정이 이루어진 검사실은 차광이 된 조용한 장소로 실내온도가 22 23℃로 유지되었다.

먼저 혈관내피세포의존성 혈관확장반응(flow-mediated, endothelium-dependent vasodilation : FMD)을 측정하였다. 혈관내피세포의존성 혈관확장반응 측정 후 대상자들은 앙와위 자세로 15분간 누워서 안정 후 혈관 평활근의 기질적인 병변을 알아보기 위하여 니트로글리세린 0.6 mg을 설하로 투여 후 혈관확장반응을 보았다. 이러한 외인성 산화질소에 대한 혈관확장 반응을 혈관 평활근의 내피세포비의존성 혈관확장반응(endothelium-independent vasodilation : EID)으로 표현하였다.

먼저 본 연구를 위하여 저자들은 초음파 탐촉자와 대상자들의 팔을 고정할 수 있는 특수 장치를 개발하여 검사가 진행하는 동안에 탐촉자와 팔을 지속적으로 움직임이 없이 같은 자리에 고정시켰다. 본 고정 장치는 고정수단을 갖는 지지판 상부에 부착된 팔고정장치와 측면에 연결된 탐촉자의 고정과 이동이 용이한 도자재치대를 기본 구성으로 한다(Fig. 1).

Fig. 1. Special device, which was designed for holding transducer and arm in the same position without movement.

검사 과정을 간략히 설명하면, 대상군은 가슴에 심전도 전극을 부착하고 침상에 앙와위 자세로 누워 안정을 취하였다. 이때 좌측 전완(forearm)의 근위부(proximal)에는 혈압계 낭대(cuff)를 두른 상태로 팔 고정 장치용 부목에 좌완을 고정시켰다. 동시에 우측 팔 상부에는 연속적으로 혈압 측정을 위해 자동 혈압계의 낭대를 두른다. 안정 후 내피세포의존성 혈관확장반응 측정을 시작하면서 상완동맥의 혈관 초음파 영상이 제일 선명하게 탐지되도록 초음파기계와 관련된 지표들을 조정 후 유지시켰다. 탐촉자(probe)는 전주와(antecubital fossa) 상방 2 5 cm 위치 부근에서 혈관 초음파 상이 가장 선명히 보이는 위치에 고정했다. 검사하는 동안 반대측 팔에 부착된 자동혈압계를 이용하여 혈압을 2분 간격으로 측정했다. 기저치 상완동맥 직경을 측정 후 좌측 전완 근위부에 감겨져 있는 혈압계의 압력을 250 mmHg까지 올려 상완동맥의 혈류를 차단했다. 5분 후 혈압계의 압력을 급속히 0 mmHg로 내려 상완동맥내 과혈류 발생을 유발시켰다. 심장 초음파기계(SONOS 5500, Hewlett Packard, 미국)의 B-mode 하에서 7.5 MHz 탐촉자(Hewlett Packard, 미국)를 이용하여 과혈류 발생 15초 전부터 과혈류 발생 후 60초 동안 과혈류에 의한 상완동맥의 혈관 확장반응을 지속적으로 측정하였으며, 모든 측정과정을 고해상도 비디오를 이용하여 실시간 연속 녹화하였다. 혈관 직경의 측정은 탐촉자 근위부 혈관벽면의 내막(intima)과 중막(media)이 만나는 접촉면(interface)부터 반대쪽 혈관벽면의 내막까지로 하였다(Fig. 2). 가능하면 직경 측정 때 직경의 편차를 줄이기 위해 기준점을 동맥분지 등이 있는 곳에 설정하였고, 측정 시기는 심장 이완기 끝부분, 즉 심전도상 R 기시부 직전의 직경 값을 측정하였다.

녹화된 고해상도 비디오 테이프를 3초 간격으로 직경의 변화를 분석 후 최대로 확장된 직경을 이용하여 기저치 직경에 대한 늘어난 직경을 백분율로 계산하여 내피세포의존성 혈관확장반응(FMD)으로 나타내었다. 이후 니트로글리세린 0.6 mg에 대한 혈관확장반응인 내피세포비의존성 혈관확장반응을 녹화한 비디오 테이프를

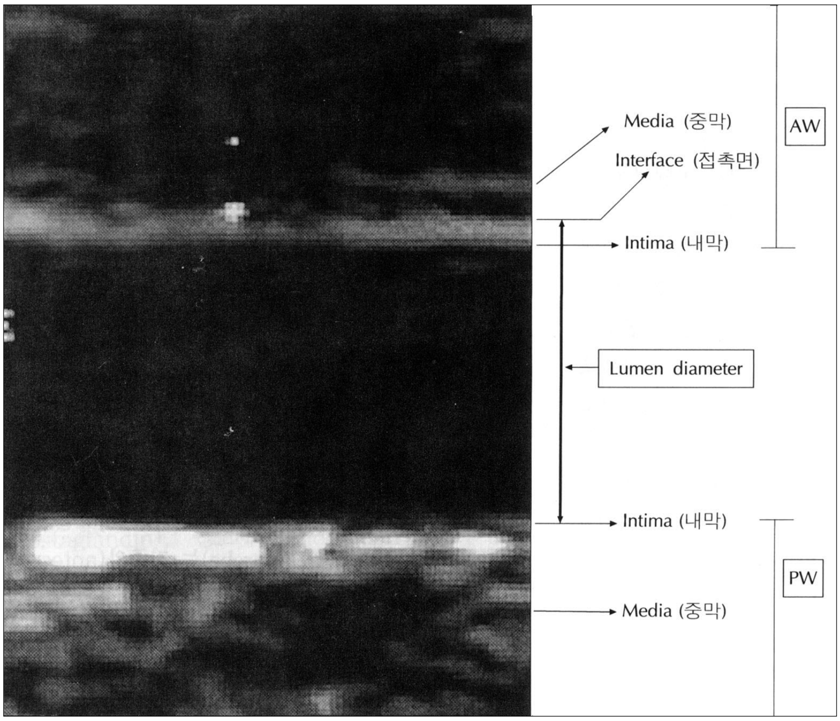

Fig. 2. The luminal diameter was taken from the anterior interface between intima and media to the posterior intima line (AW : anterior wall of brachial artery, PW : posterior wall brachial artery).

3초 간격으로 직경의 변화를 분석 후 최대로 확장된 직경을 이용하여 기저치 직경에 대한 늘어난 직경을 백분율로 계산하여 내피세포비의존성 혈관확장반응(EID)을 계산하였다. 또한 분석된 자료를 바탕으로 내피세포의존성 혈관확장반응의 초기반응이 일어나기까지의 시간(initial reaction time of FMD : IRT of FMD)을 구할 수 있었다. 내피세포비의존성 혈관확장반응에서도 내피세포의존성 혈관확장반응과 마찬가지로 초기반응이 일어나기까지의 시간(IRT of EID)을 구하였다.

혈액검사

혈액검사를 위하여 정맥혈액 10 cc를(1% EDTA 0.1 ml/blood 1 ml) 채혈하였다. 혈청 포도당농도는 glucose oxidase 방법(747 autoanalyzer, Hitachi, Japan)으로 시행했고, 혈청 총 콜레스테롤은 효소법(747 autoanalyzer, Hitachi, Japan)으로 시행했고, 혈청 중성지방, high-density lipoprotein(HDL) 콜레스테롤 농도 및 low-density lipoprotein(LDL) 콜레스테롤은 효소법(COBAS INTEGRA 700, Roche, Swiss)으로 측정했고, HbA1C는 비색법(COBAS INTEGRA 700, Roche, Swiss)으로 측정했다. 인슐린과 C-펩타이드는 RIA법(RIA kit, TechnoGenetics, Italy)으로 측정하였다.

통계처리

모든 통계자료는 평균표준편차로 나타내었다. 대상군의 통계자료 비교는 SPSS통계프로그램(version 10.0, USA)을 이용한 Student t-test, Pearson correlation으로 처리하였다. p 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

임상적인 특징

20대 당뇨병 환자의 연령, 신체계측지수, 혈압, 맥박 등은 건강 대조군과 차이를 보이지 않았다. 공복혈당은 건강 대조군이 80±6.0 mg/dL, 당뇨병 환자군이 176.6±83.1 mg/dL이었다($p<0.005$)(Table 1). 혈청 총 콜레스테롤은 건강 대조군에서 143.6±15.1 mg/dL, 당뇨병 환자군은 166.5±56.7 mg/dL로 유의한 차이를 보이지 않았다. 혈청 중성지방은 건강 대조군이 48.2±18.6 mg/dL, 당뇨병 환자군이 146.9±124.7 mg/

Table 1. Clinical characteristics of normal controls and diabetic patients

	Control	DM
No (% of male)	12 (50)	12 (50)
Age (yr)	25.6± 1.8	26.3± 3.5
BMI (kg/m^2)	20.5± 1.4	20.7± 5.2
DM duration (mo)	0	13.7± 11.1
FBS (mg/dL)	80.0± 6.0	176.6± 83.1†
Cholesterol (mg/dL)	143.6±15.1	166.5± 56.7
Triglyceride (mg/dL)	48.2±18.6	146.9±124.7*
HDL-cholesterol (mg/dL)	54.6± 9.0	43.3± 12.4*

BMI : body mass index
* : p<0.05 vs control, † : p<0.005 vs control

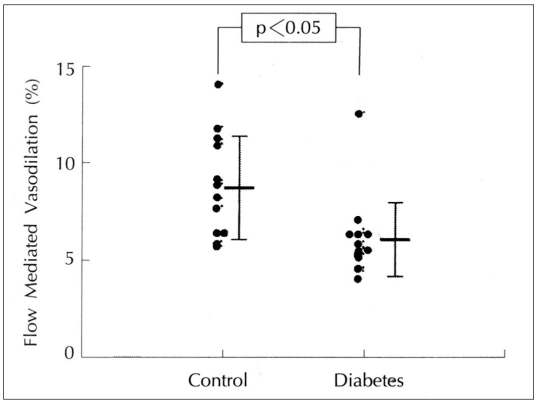

Fig. 3. Comparison of FMD (flow-mediated, endothelium-dependent vasodilation) between healthy controls and diabetic patients (mean±SD).

dL로 유의한 차이가 있었고(p<0.05), 혈청 고밀도 지단백 콜레스테롤도 건강대조군은 54.6±9.0 mg/dL, 당뇨병 환자군은 43.3±12.4 mg/dL로 유의한 차이를 보였다(p<0.05).

비침습적인 혈관내피세포 기능 측정

건강대조군의 상완동맥 내경은 0.376±0.068 cm, 당뇨병 환자군의 상완동맥 내경은 0.366±0.057 cm로 유의한 차이가 없었다. 내피세포의존성 혈관확장반응(FMD)은 건강대조군이 8.9±2.7%, 당뇨병 환자군이 6.3±2.1%로 유의한 차이를 보였다(p<0.05)(Fig. 3). 내피세포비의존성 혈관확장반응(EID)은 건강대조군이 19.7±3.8%, 당뇨병 환자군이 18.5±5.5%로 유의한 차이가 없었다(Table 2).

Fig. 4a는 과혈류 발생에 의한 상완동맥의 직경 변화를 연속 녹화한 후 3초 단위로 분석하여 얻은 시간 변화에 따른 내피세포의존성 혈관확장반응의 연속적인 변화를 나타낸 것이다. 과혈류에 의한 상완동맥의 혈관확장반응이 처음 일어나는 초기반응까지의 시간이 두 군에서 차이가 있음을 알 수 있다. 건강대조군이 20.4±2.8 sec, 당뇨병 환자군이 29.5±5.4 sec로 유의한 차이를 보였다(p<0.0001)(Fig. 5). 과혈류에 의한 상완동맥의 혈관확장반응이 최대로 일어나는 시간(lag time to peak reaction of FMD, PRT)은 건강대조군에서 32.5±5.2 sec이고, 당뇨환자군에서는 31.5±3.7 sec로 양군에서 유의한 차이가 없었다(p>0.05).

Table 2. Endothelium-dependent (FMD) and –independent (EID) vasodilation in normal controls and diabetic patients

		Control (n=12)	DM (n=12)
FMD	L.d (cm)	0.376± 0.068	0.366± 0.057
	VA (%)	8.9 ± 2.7	6.3 ± 2.1*
	IRT (sec)	20.4 ± 2.8	29.5 ± 5.4†
EID	VA (%)	19.7 ± 3.8	18.5 ± 5.5
	IRT (sec)	83.4 ±12.9	86.7 ±15.7

FMD : flow-mediated, endothelium-dependent vasodilation, EID : endothelium-independent vasodilation, L.d : lumen diameter, VA : vasoactivity, IRT (initial reaction time) : lag time to initiation of flow-mediated, endothelium dependent vasodilation
* : p<0.05 vs control, † : p<0.0005 vs control

Fig. 4b는 외인성 산화질소 공급체인 나이트로 글리세린 0.6 mg을 설하 투여 후 상완동맥의 확장반응을 연속 녹화 후 3초 간격으로 분석하여 얻은 시간변화에 따른 내피세포비의존성 혈관확장반응의 연속적인 변화를 기록한 것이다. 내피세포비의존성 혈관확장반응이 처음 일어나는 초기반응까지의 시간이 두 군에서 차이가 없음을 알 수 있다. 건강대조군이 83.4±12.9 sec, 당뇨병 환자군이 86.7±15.7 sec이었다.

상관관계

내피세포의존성 혈관 확장반응은 고밀도지단백 콜레스테롤과 통계적으로 의미 있는 양의 상관관계를 보였다(r=0.58, p<0.005)(Fig. 6). 그리고 중성지방과는 음의 상관관계를 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다(r=-0.31, p>0.05).

과혈류에 의한 혈관 평활근의 확장반응이 일어나는 시간까지의 시간을 표시하는 초기반응시간은 내피세포의존성 혈관확장반응과 강한 음의 상관관계를 나타내었다(r=-0.74, p<0.001)(Fig. 7). 또한 초기반응시간은 고

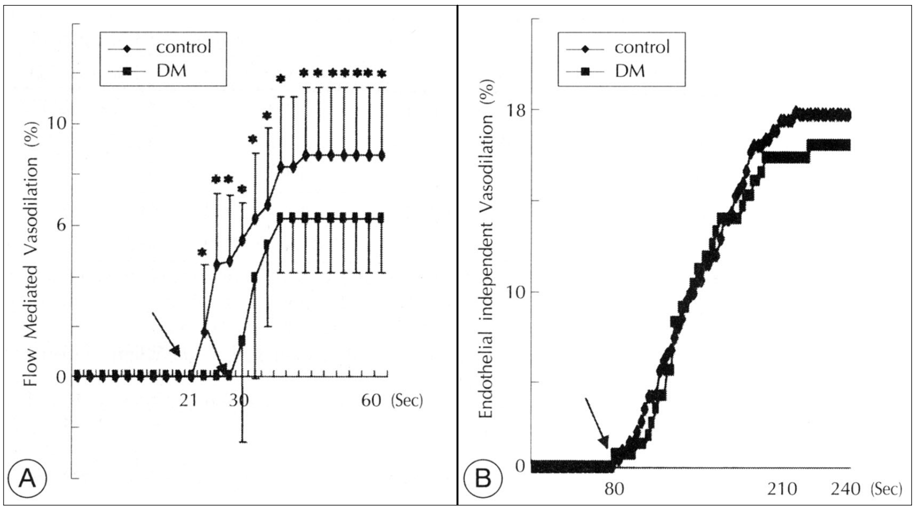

Fig. 4. Continuous analysis of endothelium-dependent (FMD) (A) and –independent (EID) (B) vasodilation. Bald arrows and doted arrow indicate initial reaction time of FMD and EID, respectively. * : p<0.05 vs control.

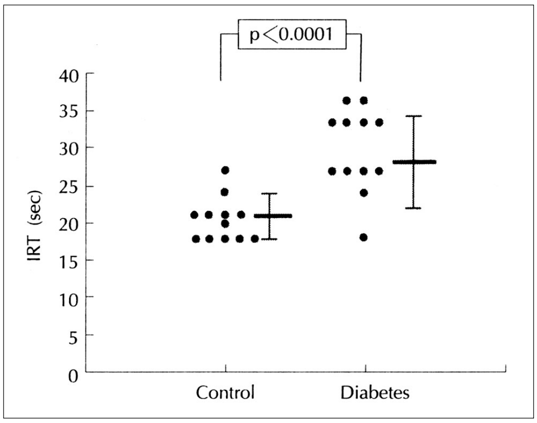

Fig. 5. Comparsion of IRT (initial reaction time : lag time to initial reaction of flow-mediated, endothelium-dependent vasodilation) between control and diabetes (mean±SD).

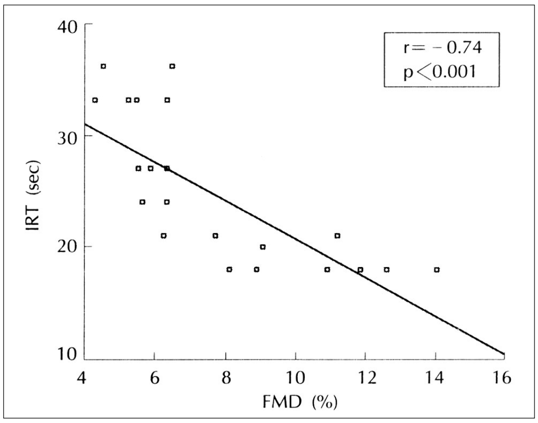

Fig. 7. Correlation between IRT (initial reaction time : lag time to initial reaction of flow-mediated, endothelium-dependent vasodilation) and FMD (flow-mediated vasodilation).

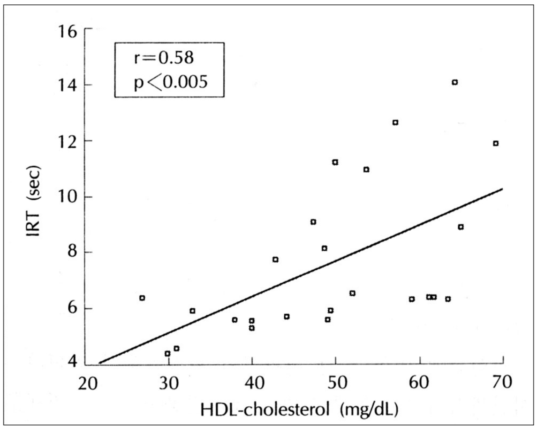

Fig. 6. Correlation between FMD (flow-mediated, endothelium-dependent vasodilation) and HDL-cholesterol level.

밀도지단백 콜레스테롤(HDL cholesterol)과 강한 음의 상관관계를 나타내었으며(r= - 0.68, p<0.0001) (Fig. 8a), 중성지방과는 양의 상관관계를 나타내었다(r=0.44, p<0.05) (Fig. 8b).

고　　찰

본 연구의 결과에 의하면 비록 죽상경화증의 발생이 어려운 25세 정도의 젊은 연령의 대상군이라도 당뇨병과 같은 죽상경화증의 위험인자가 있을 경우 내피세포의 존성 혈관확장반응의 감소가 관찰되었다. 이는 Celermajer 등[17]의 보고처럼 죽상경화증 위험인자가 있을 경우 조기에 내피세포의존성 혈관확장반응의 장애가 발생

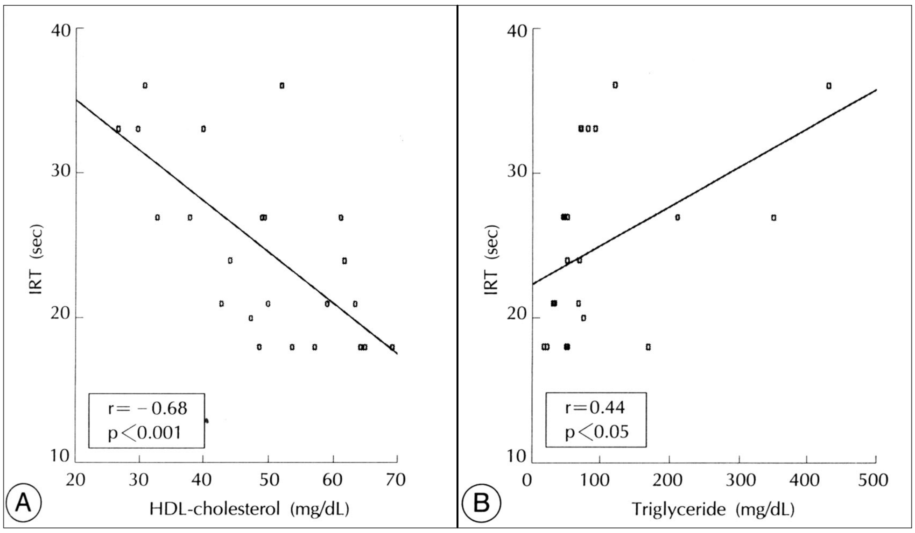

Fig. 8. A : Correlation between IRT (Initial reaction time) and HDL-cholesterol. B : Correlation between IRT (initial reaction time) and triglyceride.

한다는 연구와 일치한다. 즉, 고혈압, 고지혈증, 당뇨병, 비만 등과 같은 죽상경화증 고위험인자가 동반된 환자는 10대부터 혈관내피세포의 중요한 생리적 변화가 발생한다. 이러한 변화는 죽상경화증의 초기 병변인 혈관내피세포 기능장애를 유발시켜 산화질소의 생물학적 활성도의 상대적 감소로 인하여 혈관 평활근, 백혈구 및 혈소판 등의 기능 이상이 동반되어 향후 이들 환자군에서 죽상경화증의 유발과 진행을 가속화시키는데 관여한다고 생각된다.[24] 그러므로 해부학적인 변화가 동반되지 않은 죽상경화증의 비교적 초기 과정인 혈관내피세포 기능장애를 조기에 정확히 진단하는 것이 죽상경화증과 합병증의 발생을 막을 수 있다고 사료된다.

본 연구의 결과를 보면 두 군간의 내피세포의존성 혈관확장반응이 통계적으로 유의한 차이가 관찰되나 두 군 모두에서 내피세포의존성 혈관확장반응의 분포 범위가 다소 넓음을 알 수 있다. 즉, 두 군의 내피세포 의존성 혈관 확장반응 평균치의 차이는 2.6%(정상대조군 8.9%, 당뇨환자군 6.3%)이나 이들 대상자들의 표준편차는 건강대조군이 2.7%이고, 당뇨환자군이 2.1%이므로 내피세포의존성 혈관확장 검사법의 변이계수는 정상대조군이 30.0%이고, 당뇨병환자군은 33.3%이므로 상대적인 산포도가 크다. 이런 점으로 보아 내피세포의존성 혈관확장반응 자체만으로 내피세포기능을 평가하는 검사로는 어려움이 많다고 사료된다. 왜냐하면 내피세포의존성 혈관확장반응 값의 분포 범위가 넓으며, 젊은이들의 경우 비록 죽상경화증 위험인자가 있다고 하나 아직은 내피세포의 생리적 기능의 변화정도만 진행 중이므로 혈관내피세포 기능장애 정도가 약하고, 죽상경화증 위험인자 이외에도 내피세포의존성 혈관확장반응에 영향을 미치는 요소들이 많다고 알려져 있다.[25]

그러나 내피세포의존성 혈관확장반응의 초기반응이 일어나기까지의 시간인 초기반응시간은 두 군 모두에서 분포 범위가 넓지 않다. 두 군에서 내피세포의존성 혈관 확장반응의 초기반응기간 평균치의 차이는 8초(정상대조군 20.4초, 당뇨병환자군 29.5초)이고, 이들 대상자들의 표준편차는 정상대조군 2.8초, 당뇨병환자군 5.4초이므로, 초기반응시간의 변이계수는 정상대조군이 13.7%, 당뇨병환자군이 18.3%이므로 내피세포의존성 혈관확장반응에 비해 상대적 산포도가 낮음을 알 수 있다. 이런 점으로 보아, 내피세포의존성 혈관확장반응의 초기 반응시간 측정방법은 Lehmann 등[25]이 지적한 죽상경화증의 조기진단에 있어서 내피세포의존성 혈관확장반응 측정방법의 한계점을 극복할 수 있다고 사료된다.

최근 관상동맥질환 및 이의 합병증들이 중요한 사망원인으로 부각되면서 죽상경화증의 원인과 조기진단에 많은 연구가 이루어지고 있다. 즉, 죽상경화증의 특징적인 초기 병변인 내피세포 기능장애의 조기 진단을 위하여, 과거의 침습적인[19] 진단방법보다 정확성과 재현성이 우수하여 선별검사방법으로 적합하다고 알려진 몇몇의 비침습적인 방법들이 최근 많이 이용되고 있다.

주로 이용되고 있는 비침습적인 방법으로는, 혈관 내

중막 복합체 두께측정 방법(IMT : intima-media thickness),[21] 동맥 경화도 측정(arterial stiffness)과 맥압 파형측정방법(Plethysmography)[22] 및 과혈류 발생에 따른 말초 혈관의 내피세포의존성 혈관 확장반응(flow-mediated vasodilation)[17] 등이 있다. 내중막 복합체의 비후는 죽상경화증의 초기과정인 혈관의 개형과정(remodelling)과 관련이 있으나, 이외에도 많은 인자들에 의해서 초래될 수 있으므로 측정 결과를 판정할 때 많은 주의가 필요하다. 비록 죽상경화증의 위험인자들인 고혈압, 흡연, 비만, 고지혈증, 당뇨병 등이 내중막 복합체의 비후와 연관성은 높으나,[26)27] 심혈관 조영술을 실시했을 때 심혈관 질환과의 연관성은 비교적 낮은 것 같다.[28] 그리고 내중막 복합체 측정방법은 혈관의 해부학적인 정보이외의 다른 이점은 아직 발견되지 않는 것 같다. 동맥경화도 및 맥압파형 측정방법은 측정위치에 따른 맥압의 변이[29]와 재현성, 임상적인 의미의 제한성 등의 이유로 선별검사법으로 가치가 떨어진다고 사료된다.

내피세포의존성 혈관 확장반응 검사는 1992년 Celemajor 등[17]에 의해 처음 고안된 고해상도 초음파를 이용한 말초혈관의 내피세포 기능장애 검사로 관상동맥의 내피세포의존성 혈관확장반응의 장애정도와 상관관계가 우수하고,[30] 재현성이 높아서 비침습적인 방법의 내피세포 기능장애 검사방법 중 널리 사용되는 방법이다. 이후 최근 10년간 고혈압, 고지혈증, 당뇨병, 비만과 같은 죽상경화증의 위험인자가 있는 환자에서 내피세포의존성 혈관확장반응을 이용하여 혈관내피세포 기능장애를 평가하기 위한 많은 연구가 진행되었으며, 이들 연구에 따르면 죽상경화증의 위험인자와 내피세포의존성 혈관확장반응은 높은 상관관계를 보였고,[20] 내피세포기능 평가의 도구로 우수함을 보고하였다.

그러나 최근 고전적인 방법을 이용한 내피세포의존성 혈관확장반응 측정의 간편성, 정확성 및 재현성에 대한 문제점들이 제기되고 있다. 이런 문제점들을 살펴보면, 우선 숙련자라고 하여도 고해상도 초음파의 탐촉자를 검사 진행하는 동안 지속적으로 같은자리에 움직임이 없이 고정하기란 불가능하다. 그러므로 이러한 움직임으로 인하여 발생되는 결과에 대한 신뢰성의 감소가 문제가 되며, 또한 과혈류 발생에 따른 혈류의 비틀림 힘(shear stress)에 의한 혈관내피세포에서 산화질소의 발생량과 발생된 산화질소에 대한 혈관 평활근의 반응시간도 차이가 나므로 어떤 순간의 내피세포의존성 혈관확장 반응을 측정하는 것이 혈관 내피세포 기능을 정확히 나타낸다고 생각하기에는 어려움이 많다.

실제로 죽상경화증의 조기진단을 위한 선별검사는 우선 비침습적이고, 민감도가 높아야 하며, 신뢰도가 높고, 장비의 조작이 쉽고 편리해야 한다. 하지만 지금까지 알려진 대부분의 비침습적인 검사법은 기술적인 숙달이 우선되어야 위의 조건들을 만족했다. 그러나 본 연구에서는 고전적인 방법에 의한 일관성이 없는 결과를 보완하기 위하여 환자의 팔과 초음파 탐촉자 고정 장치의 이용과 내피세포의존성 혈관확장반응의 연속 녹화 및 분석으로 인하여 내피세포의존성 혈관확장반응결과의 신뢰성을 높일 수 있다고 사료된다. 본 연구의 결과에서도, 비록 젊은 연령의 대상군이라도 당뇨병과 같은 죽상경화증의 위험인자가 있을 경우 내피세포의존성 혈관확장반응의 초기반응이 일어나기까지의 시간인 초기반응시간이 건강대조군에 비하여 현저히 긴 시간이 필요함을 알 수 있다. 또한 다른 비침습적인 선별검사방법과 마찬가지로 초음파기기 및 혈관 측정용 고해상도 탐촉자 등과 같은 고도로 정밀한 기계를 사용하지만 검사시간 동안 환자의 팔과 탐촉자를 고정하므로 기술적인 숙련도는 많이 관여하지 않는다고 사료된다.

이상의 결과로 볼 때 내피세포의존성 혈관확장반응이 일어나기까지의 시간 측정인 초기반응시간은 고전적인 방법의 단점을 극복하고 내피세포의존성 혈관확장반응 결과의 신뢰성을 높이므로 혈관내피세포 기능장애 평가를 위한 내피세포의존성 혈관확장반응 측정방법의 보완적인 도구로 사용될 수 있다고 사료된다.

요 약

연구목적 :

혈관의 내피세포 기능장애는 죽상경화증의 특징적인 초기 병리소견이다. 내피세포 기능 장애를 조기에 진단하기 재현성과 정확성이 비교적 뛰어난 고해상도 초음파를 이용하여 내피세포의존성 혈관 확장반응을 측정하였다. 그러나 최근 이러한 고전적인 방법의 문제점들이 제시되므로 저자들은 검사 대상자의 팔과 혈관 초음파용 선형 탐촉자를 고정할 수 있는 장치를 고안하여 비침습

적인 방법의 내피세포의존성 혈관확장반응을 측정하므로 내피세포 기능장애를 더욱 정확하게 평가하고자 한다. 또한 이러한 방법의 도입으로 인하여 실시간 연속적으로 내피세포의존성 혈관확장반응을 녹화할 수 있고, 녹화된 비디오테이프를 3초 간격으로 분석하여 내피세포의존성 혈관확장반응이 언제 시작되는지, 언제 최고치에 도달하는지를 알 수 있었다. 그래서 저자들은 이러한 새로운 지표들이 내피세포 기능장애의 평가에 어떤 도움이 되는지 알아보고자 한다.

방 법:

젊은 당뇨병환자 12명(평균연령 25.6±1.8세)과 건강대조군 12명(평균연령 26.3±3.5세)을 대상으로 비침습적인 방법을 이용하여 내피세포의존성 혈관확장반응, 내피세포비의존성 혈관확장반응 및 내피세포의존성 혈관확장반응의 초기반응 시간을 측정하였다.

결 과:

상완동맥 내경 직경은 두 군에서 유의한 차이가 없었다($p>0.05$). 내피세포의존성 혈관 확장반응은 건강대조군이 8.9±2.7%, 당뇨병 환자군이 6.3±2.1%로 유의한 차이를 보였다($p<0.05$). 내피세포비의존성 혈관확장반응은 건강대조군이 19.7±3.8%, 당뇨병 환자군이 18.5±5.5%로 유의한 차이가 없었다($p>0.05$). 내피세포의존성 혈관확장반응의 초기반응 시간은 건강대조군이 20.4±2.8 sec, 당뇨병 환자군이 29.5±5.4 sec로 유의한 차이를 보였다($p<0.0001$). 내피세포의존성 혈관확장반응이 최대로 일어나는 시간은 건강대조군에서 32.5±5.2 sec이고, 당뇨환자군에서는 31.5±3.7sec로 양군에서 유의한 차이가 없었다($p>0.05$). 내피세포의존성 혈관확장반응과 고밀도지단백 콜레스테롤(HDL cholesterol)은 통계적으로 의미 있는 양의 상관관계를 나타내었고($r=0.58$, $p<0.005$), 중성지방과는 음의 상관관계를 나타내었으나 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다($r=-0.31$, $p>0.05$). 초기반응시간과 내피세포의존성 혈관확장반응의 상관관계는 강한 음의 상관관계를 나타내었다($r=-0.74$, $p<0.001$). 고밀도지단백 콜레스테롤(HDL cholesterol)과도 강한 음의 상관관계를 나타내었다($r=-0.68$, $p<0.0001$).

결 론:

이상의 결과들을 볼 때 내피세포의존성 혈관확장반응의 초기반응이 일어나기까지의 시간 측정도 죽상경화증의 초기 병변인 내피세포 기능장애 평가의 지표로 이용할 수 있다고 사료된다.

중심 단어 : 내피세포 기능장애 · 내피세포의존성 혈관확장반응 · 내피세포의존성 혈관확장반응의 초기반응시간.

REFERENCES

1) Furchgott RF, Zawadzki JV. *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle cell by acetylcholine. Nature 1980;288:373-6.*
2) Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. *Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature 1988;333:664-6.*
3) Moncada S. *Biological importance of prostacyclin. Br J Pharmacol 1982;76:3-31.*
4) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, *et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature 1988;332:411-5.*
5) Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. *Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 1987;327:524-6.*
6) Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. *Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proc Natl Acad Sci 1987;84:9265-9.*
7) Kubes P, Suzuki M, Granger DN. *Nitric oxide: An endogenous modulator of leukocyte adhesion. Proc Natl Acad Sci 1991;88:4651-5.*
8) Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. *An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. Proc Natl Acad Sci 1990;87:5193-7.*
9) Grag UC, Hassid A. *Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultures rat vascular smooth muscle cells. J Clin Invest 1989;83:1774-7.*
10) Williams SB, Cusco JA, Roddy MA, Johnstone MT, Creager MA. *Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. J Am Coll Cardiol 1996;27:567-74.*
11) Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA. *Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin dependent diabetes mellitus. Ciculation 1993;88:2510-6.*
12) Barenbrock M, Hausberg M, Kosch M, Golubev SA, Kisters K, Rahn K. *Flow-mediated vasodilation and distensibility in relation to intima-media thickness of large arteries in mild essential hypertension. Am J Hypertens 1999;12:973-9.*
13) Sorensen KE, Celermajer DS, Georgakopoulos D, Hatcher G, Betteridge DJ, Deanfield JE. *Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein (a) level. J Clin Invest 1994;93:50-5.*
14) Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron A. *Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. J Clin Invest 1996;97:2601-10.*
15) Tesfamariam B. *Free radicals in diabetic endothelial cell*

dysfunction. Free Radic Biol Med 1994;16:383-91.
16) Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S. *Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. Nature 1986;320:454-6.*
17) Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, *et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet 1992;340:1111-5.*
18) Fish RD, Nabel EG, Selwyn AP, Ludmer PL, Mudge GH, Kirshenbaum JM, *et al. Responses of coronary arteries of cardiac transplant patients to acetylcholine. J Clin Invest 1988;81:21-31.*
19) Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, *et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. N Engl J Med 1986;315:1046-51.*
20) Nabel EL, Selwyn AP, Ganz P. *Large coronary arteries in humans are responsive to changing blood flow: An endothelium dependent mechanism that fails in patients with atherosclerosis. J Am Coll Cardiol 1990;16:349-56.*
21) Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. *Intimal plus medial thickness of the arterial wall: A direct measurement with ultrasound imaging. Circulation 1986; 74:1399-406.*
22) Farrar DJ, Bond MG, Riley WA, Sawyer JK. *Anatomic correlates of aortic pulse wave velocity and carotid artery elasticity during atherosclerosis progression and regression in monkeys. Circulation 1991;83:1754-63.*
23) National Diabetes Data Group. *Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes 1979;28:1039-57.*
24) Ross R. *The pathogenesis of atherosclerosisan update. N Engl J Med 1986;314:488-500.*
25) Lehmann ED, Riley WA, Clarkson P, Gosling RG. *Non-invasive assessment of cardiovascular disease in diabetes mellitus. Lancet 1997;350(suppl 1):SI14-9.*
26) Wofford JL, Kahl FR, Howard GR, McKinney WM, Toole JF, Crouse JR 3rd. *Relation of extent of extracranial carotid artery atherosclerosis as measured by B-mode ultrasound to the extent of coronary atherosclerosis. Arterioscler Thromb 1991;11:1786-94.*
27) Niskanen L, Rauramaa R, Miettinen H, Haffner SM, Mercuri M, Uusitupa M. *Carotid artery intima-media thickness in elderly patients with NIDDM and in nondiabetic subjects. Stroke 1996;27:1986-92.*
28) Adams MR, Nakagomi A, Keech A, Robinson J, McCredie R, Bailey BP, *et al. Carotid intima-media thickness is only weakly correlated with the extent and severity of coronary artery disease. Circulation 1995;92:2127-34.*
29) Karamanoglu M, O'Rourke MF, Avolio AP, Kelly RP. *An analysis of the relationship between central aortic and peripheral upper limb pressure waves in man. Eur Heart J 1993;14:160-7.*
30) Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrange D, *et al. Close relation of endothelial dysfunction in the human coronary and peripheral circulations. J Am Coll Cardiol 1995;26:1235-41.*