

<원 저>

급성 저압실 - 저산소증 폭로가 백서 심장의
항산화 방어기전에 미치는 영향

항공의학적성훈련원
공군본부의무감실*

대 위 이 상 준
대 령 박 병 옥*

**Effect of Acute Hypobaric-Hypoxia on the Defense
Mechanisms Against Oxygen Toxicity in Rat Heart**

Aeromedical Research Center
Surgeon General office. ROKAF*

Cap. Lee Sang-Jun M.C
Col. Park Byoung-Ok M.C*

= **ABSTRACT** =

The possibility that acute hypobaric-hypoxia alters the defense mechanisms against oxygen toxicity in rat heart has been investigated. Four different degrees of acute hypobaric-hypoxia were induced in vivo by hypobaric chamber flight for 2 hours at 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft and 30,000ft. At the end of the each altitude exposure, the changes in serum ATP, lactate and glucose were determined. And the productions of superoxide radical and malondialdehyde (MDA), and the activities of total superoxide dismutase (total SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and total ATPase in heart homogenates have been determined.

Both serum and tissue ATP, and glucose were decreased according to altitude. And serum and tissue lactate were increased according to altitude. Acute hypobaric-hypoxia enhanced the productions of superoxide radical and MDA in heart homogenate as much as 125.8% and 246.9% than normal value, respectively, when altitudes ranged from 15,000 to 30,000ft. Also the activities of total SOD, GSH-Px and total ATPase in heart homogenate showed 29.7%, 22.1% and 21.5% inhibitions compared with normal value at 30,000ft, respectively.

These results suggest that high levels of superoxide radical and peroxidized lipid resulting from inhibited superoxide dismutase and glutathione peroxidase may play a role in acute hypobaric-hypoxia induced heart damage.

서 론

최근 항공산업의 급격한 발달로 특수한 고공환경에 노출될 가능성이 증대되고

있으며, 이러한 고공환경 중 저산소증은 인체 생리기능 및 여러 장기에 중대한 영향을 미칠 수 있다.¹⁾

저산소증은 특히 생체 각 부위에 혈액 공급을 담당하는 심장에 다양한 영향을 주어 심장의 기능 및 생화학적 변화와 구조적인 손상을 일으킨다.^{2), 3)}

실험적인 체외관류를 통하여 유발된 심장의 허혈 및 저산소 조건에서 superoxide radical($\cdot O_2^-$), hydrogen peroxide(H_2O_2) 및 hydroxyl radical($\cdot OH$) 등의 oxygen free radical의 발생이 증가하여 심근조직의 손상기전으로 작용한다.^{4), 5), 6)} 조직내에서 반응성 oxygen free radical들의 생성 부위는 세포내의 xanthine oxidase의 효소작용과 mitochondria내의 전자전달체계(electron-transfer system) 및 leucocyte 등으로 알려져 있으며, 저산소 조건에서는 mitochondria가 주로 oxygen radical의 생성을 증가시키는 부위로 작용한다. 이러한 oxygen radical의 생성증가 원인으로는 oxygen radical의 생성자체의 증가, oxygen radical에 대한 조직내의 항산화 방어기전의 감소 및 조직손상후 회복기능의 감소로 설명되며, 이중에서 항산화 방어기전의 감소가 중요한 것으로 알려져 있다.⁷⁾

이번 연구는 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft 및 30,000ft 고도에서 2시간동안 저압실 비행을 실시하여 유발시킨 급성 저압실-저산소증이 백서 심장의 항산화 방어기전에 미치는 영향을 알아 보고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 처치

체중 200g 내외의 Sprague-Dawley종 백서 수컷을 1주일 이상 본 실험실에서 사육하여 특별한 이상이 없음을 확인한 후 실험에 사용하였다.

실험동물을 4개의 저압실 비행군으로 구별하여 각각의 실험군을 그림 1의 저압실 비행계획에 따라 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft 및 30,000ft 고도에서 저

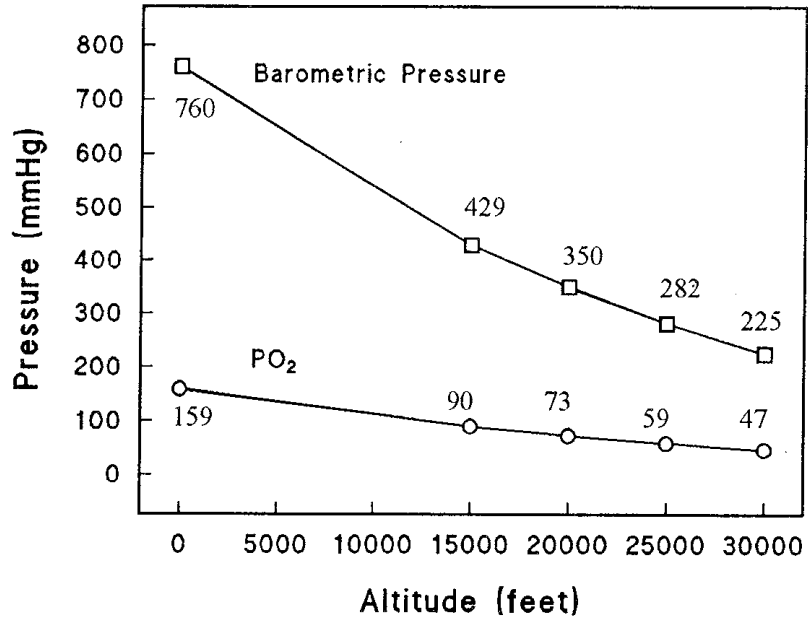


Figure 1. Approximate barometric pressure and oxygen partial pressure at varying altitudes. (From DeHart RL : Fundamentals of aerospace medicine. p 93, Philadelphia, Lea & Febiger, 1985)

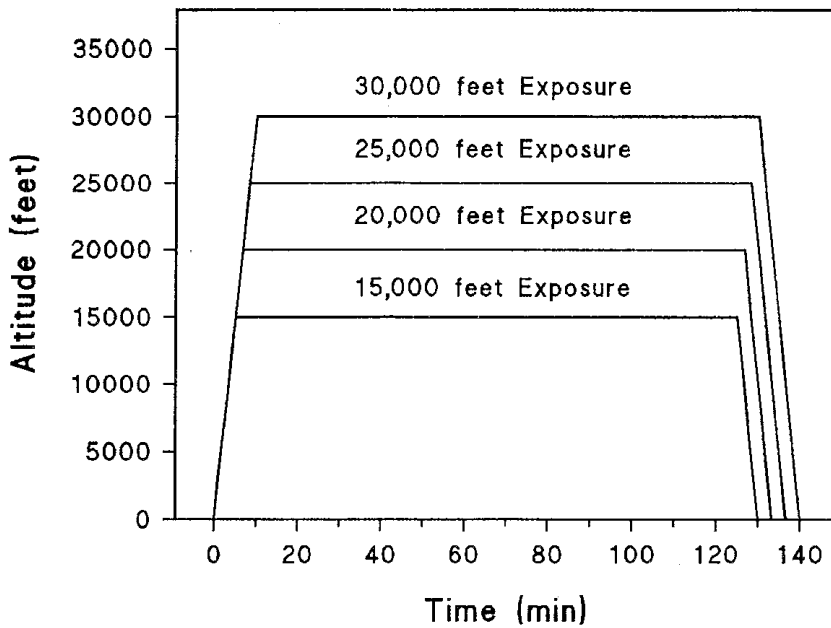


Figure 2. Experimental hypobaric chamber flight models.

압실 비행을 실시하였다. 이때 상승 속도 및 하강 속도는 3,000ft/min 으로 조정하였고, 각 고도에서 머무는 시간은 2시간으로 하였다. 각 고도에서의 대기압과 산소분압은 Fig 2와 같다. 대조군은 저산소증에 노출되지 않은 정상 백서로 하였다.

각군의 실험동물은 저압실 비행이 종료된 직후에 에테르 마취하에 심장천자로 혈액을 채취하고, 즉시 개흉하여 심장을 적출하였다.

2. 시료의 추출

채혈한 혈액은 ATP, lactate 및 glucose를 측정하기 위하여 혈청을 분리하였다. 적출된 심장은 미리 -4°C 로 냉각한 생리적식염수로 4~5회 씻어 혈구를 제거한 후, 0.1mM EDTA를 함유한 10 mM tris-HCl(pH 7.4) 용액을 10 배용량 첨가하여, polytron 조직분쇄기(Janke & Kunkel, Ultra-Turrax T25)로 20초씩 2회 균질화하였다. 이 균질액을 superoxide radical, lipid peroxidation, ATP, lactate 및 glucose를 측정하기 위한 시료로 사용하였다.

superoxide dismutase, glutathione peroxidase 및 ATPase 활성도를 측정하기 위한 시료는 상기 균질액을 $600 \times g$ 에서 10분간 냉동원심분리(Beckman, Model J-21B)하여 얻은 상층액을 4°C 에서 50 watt로 15분간 초음파(Sonics & Materials VC-375) 처리하여 mitochondria를 파괴한 다음 사용하였다.

3. ATP, lactate 및 glucose의 측정

혈청 및 심균질액내 ATP, lactate 및 glucose의 농도는 각각 sigma diagnostic kit를 사용하여 측정하였다.

4. Superoxide Radical의 측정

심균질액내의 superoxide radical의 생성량은 McCord & Fridovich(1969) 및 Badway & Karnovsky(1979)의 방법^{8),9)}에 따라 ferricytochrome C

의 환원속도 변화로 정량하였다. 즉, 0.1 mM EDTA를 함유한 50 mM tris-HCl(pH 7.8)용액을 25°C 물중탕에서 5분간 보온한 후, 균질액 10 μ l와 0.1 mM cytochrome C 0.3ml를 첨가하여 3ml가 되게 하고 Kontron spectro photometer (Model 940)를 사용하여 550nm에서 흡광도의 변화를 2분간 측정하였다. 이때 환원되는 ferricytochrome C의 양을 분자흡광계수 $\epsilon \cdot C = 19,500/M/cm$ 로 계산하여 심장조직에서 생성되는 superoxide radical의 양으로 하였고, nmol/g wet weight/min으로 나타내었다.

5. Malondialdehyde(MDA)의 측정

과산화 지질의 측정은 지질과산화의 지표로 사용되는 MDA(Baber & Bernheim, 1967)¹⁰⁾가 TBA와 반응하여 발색단(chromophore)을 형성하는 것을 이용하여 측정하였다.¹¹⁾ 즉, 150 mM KCl을 함유하는 50 mM tris-HCl (pH 7.4)용액에 균질액 0.3ml를 넣어 총 1ml가 되게한 다음 37°C 물중탕에서 60분간 반응시킨 후, 30% TCA 0.5ml와 증류수 0.5ml를 첨가하여 반응을 종료시켰다. 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 단백질을 침전시킨 상층액 1.5ml에 0.67% TBA 1.5ml를 넣고 끓는 물중탕속에서 15분간 발색시킨 다음 532nm에서 흡광도를 측정하였다. 생성된 MDA의 농도는 분자흡광계수 $\epsilon \cdot C = 1.52 \times 10^5/M/cm$ 로 계산하여 nmol/g wet weight/hr로 나타내었다.¹²⁾

6. 효소활성도의 측정

가. Total superoxide dismutase (total SOD)의 활성도의 측정

심근질액내의 total superoxide dismutase 활성도는 xanthine과 xanthine oxidase의 존재하에서 ferricytochrome C의 환원이 억제되는 원리를 이용한 McCord & Fridovich(1969)의 방법⁸⁾에 의하여 측정하였다. 즉, 0.1 mM EDTA를 함유한 50 mM tris-HCl(pH 7.8)용액, 0.5 mM xanthine, 0.1 mM ferricytochrome C의 반응액을 잘 섞어서 25°C 물중탕에서 5분간 보온하고

균질액과 xanthine oxidase를 첨가하여 spectrophotometer를 사용하여 550 nm에서 흡광도가 증가되는 속도를 측정하였다. 이때 균질액이 첨가되지 않은 반응액을 blank로 하여 흡광도의 증가속도를 0.020/min이 되게 xanthine oxidase의 농도를 조절하였다. 이때 SOD의 활성도는 ferricytochrome C의 환원속도를 50% 억제시키는 효소의 양을 1 unit로 하였으며, unit/mg protein/min으로 나타내었다.

나. Glutathione Peroxidase(GSH-Px)의 활성도의 측정

Glutathione peroxidase의 활성도는 GSSG-R에 의해 oxidized glutathione (GSSG)이 GSH로 되어 일정수준의 GSH를 유지할 때, NADPH가 산화되는 것을 이용하여 측정했다.¹³⁾

즉, 0.1 mM EDTA를 함유한 0.1 M tris-HCl(pH 7.0)용액 0.5 ml, GSSG-R 0.1 ml(0.24 unit), 10 mM GSH 0.1 ml와 균질액 0.1 ml를 가해 37°C 물중탕에서 10분간 보온한 후 1.5 mM NADPH 용액 0.1 ml를 넣고, 3분 뒤에 12 mM cumene hydroperoxide 0.1 ml를 가해 340nm에서 5분간 흡광도의 감소를 측정했다. 효소의 활성도는 1분 동안에 1 μ mol의 NADPH의 산화를 1 unit로 하였다.

다. Total ATPase의 활성도의 측정

심균질액의 total ATPase 활성도는 Phillips & Hayes (1977)의 방법¹⁴⁾에 의해 측정하였다. 즉, 125 mM tris-HCl(pH 7.4)용액에 NaCl 100 mM, KCl 20 mM, MgCl₂ 5 mM 농도로 조정한 후 반응액에 균질액을 첨가하여 37°C 물중탕에서 10분간 보온한 다음, ATP 농도가 3 mM로 되게 ATP를 첨가하고 37°C 물중탕에서 정확히 10분간 반응시켰다. 반응액에 11.67% perchloric acid 0.4 ml와 미리 냉각시킨 증류수 1 ml를 첨가하여 반응을 종료시킨 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 단백질을 침전시켰다. 상층액을 취하여 Fiske & Subbarow(1925)의 방법¹⁵⁾으로 유리된 무기인을 측정

하여 total ATPase 활성도를 구하였다. Total ATPase 활성도는 60분 동안 생성되는 무기인의 양을 μmol 로 계산하여 $\mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로 나타내었다.

7. 단백질의 정량

심근질액에 포함된 단백질의 함량은 bovine serum albumin을 표준단백질로 사용하여 Lowry et al. (1951)의 방법¹⁶⁾에 의해 정량하였다.

연구 결과

1. ATP 농도의 변화

저압실 비행 고도가 상승함에 따라 백서 혈청 및 심근질액내의 ATP 농도는 감소하였다 (Fig 3).

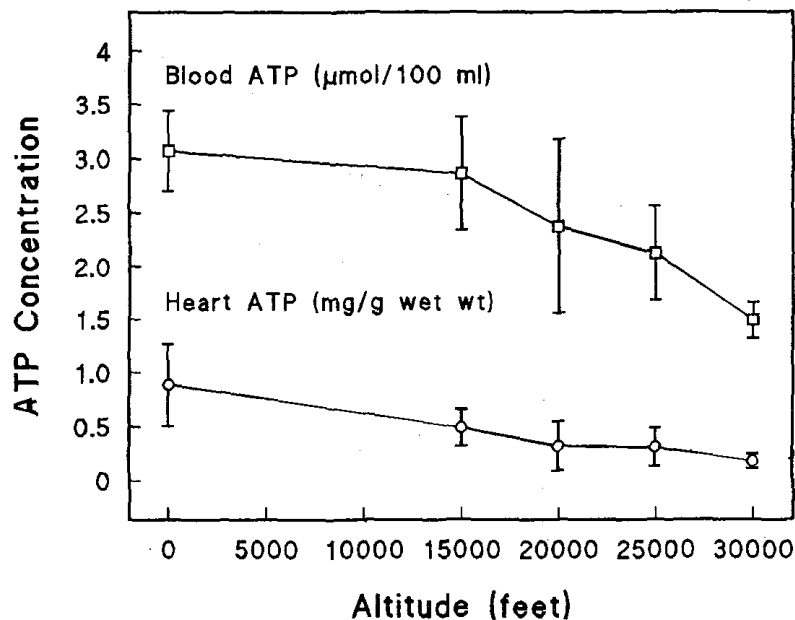


Figure 3. Effect of hypoxia on ATP concentrations in plasma and heart homogenate of rat. Data are means and standard deviations of 5 animals.

정상 백서 혈장내 ATP 농도는 $3.07 \pm 0.37 \mu\text{mol}/100\text{ml}$ 였다. 저압실 비행 고도가 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft로 상승함에 따라 혈장내 ATP 농도는 각각 $2.85 \pm 0.52 \mu\text{mol}/100\text{ml}$, $2.37 \pm 0.81 \mu\text{mol}/100\text{ml}$ 및 $2.12 \pm 0.44 \mu\text{mol}/100\text{ml}$ 로 감소하여 저압실 비행고도 30,000ft에서는 $1.49 \pm 0.17 \mu\text{mol}/100\text{ml}$ 로 정상 백서보다 47.9% 감소하였다.

정상 백서 심근질액내 ATP 농도는 $0.89 \pm 0.38\text{mg}/\text{g wet wt.}$ 였다. 저압실 비행고도가 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft로 상승함에 따라 심근질액내 ATP 농도는 각각 $0.49 \pm 0.17\text{mg}/\text{g wet wt.}$, $0.32 \pm 0.23\text{mg}/\text{g wet wt.}$ 및 $0.31 \pm 0.18\text{mg}/\text{g wet wt.}$ 로 감소하여 저압실 비행고도 30,000ft에서는 $0.18 \pm 0.07\text{mg}/\text{g wet wt.}$ 로 정상 백서보다 79.8% 감소하였다.

2. Lactate 농도의 변화

저압실 비행 고도가 상승함에 따라 백서 혈청 및 심근질액내의 lactate 농도는 증가하였다 (Fig 4).

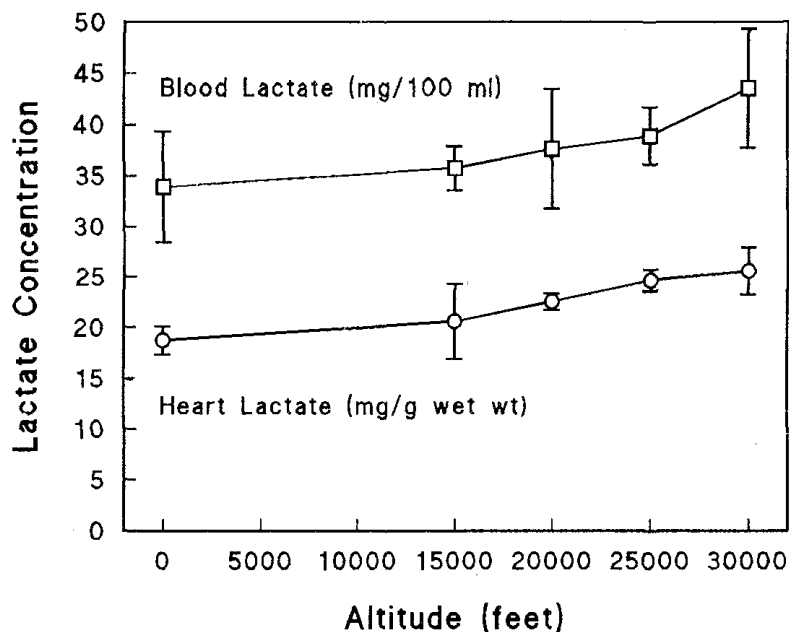


Figure 4. Effect of hypoxia on lactate concentrations in plasma and heart homogenate of rats.
Data are means and standard deviations of 5 animals.

정상 백서 혈장내 lactate 농도는 33.91 ± 5.46 mg/100ml였다. 저압실 비행고도가 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft로 상승함에 따라 혈장내 Lactate 농도는 각각 35.73 ± 2.16 mg/100 ml, 37.63 ± 5.83 mg/100ml 및 38.91 ± 2.78 mg/100ml로 증가하여 저압실 비행고도 30,000ft에서는 43.55 ± 5.78 mg/100 ml로 정상 백서보다 28.4% 증가하였다.

정상 백서 심근질액내 lactate 농도는 18.74 ± 1.40 mg/g wet wt. 였다. 저압실 비행고도가 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft로 상승함에 따라 심근질액내 lactate 농도는 각각 20.61 ± 3.69 mg/g wet wt., 22.58 ± 0.81 mg/g wet wt. 및 24.69 ± 1.07 mg/g wet wt.로 증가하여 저압실 비행고도 30,000ft에서는 25.64 ± 2.35 mg/g wet wt.로 정상 백서보다 36.8% 증가하였다.

3. Glucose 농도의 변화

저압실 비행 고도가 상승함에 따라 백서 혈청 및 심근질액내의 glucose 농도는 감소하였다 (Fig 5).

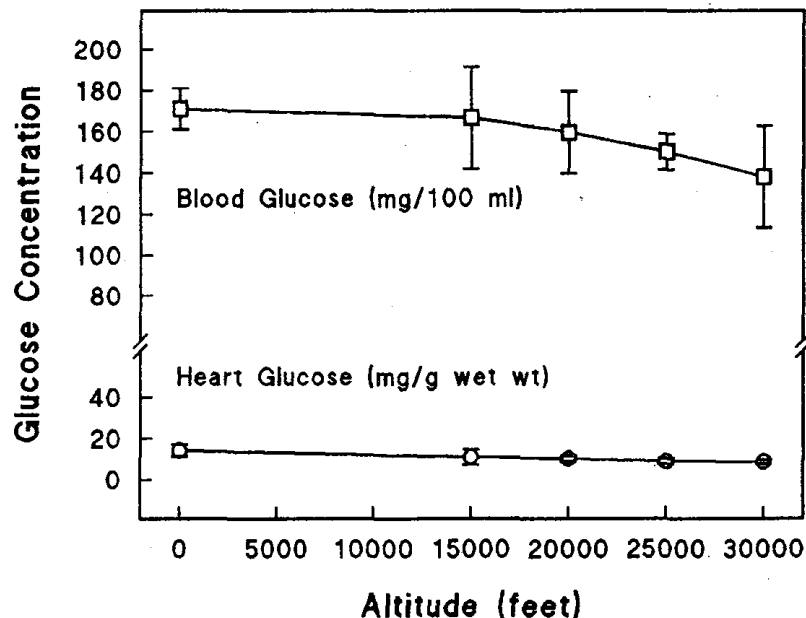


Figure 5. Effect of hypoxia on glucose concentrations in plasma and heart homogenate of rats.

Data are means and standard deviations of 5 animals.

정상 백서 혈장내 glucose 농도는 171.02 ± 9.87 mg/100 ml였다. 저압실 비행고도가 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft로 상승함에 따라 혈장내 glucose 농도는 각각 166.60 ± 24.62 mg/100 ml, 159.60 ± 19.83 mg/100 ml 및 150.14 ± 8.72 mg/100 ml로 감소하여 저압실 비행고도 30,000ft에서는 138.16 ± 24.62 mg/100 ml로 정상 백서보다 19.2% 감소하였다.

정상 백서 심근질액내 glucose 농도는 14.20 ± 2.92 mg/g wet wt.였다. 저압실 비행고도가 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft로 상승함에 따라 심근질액내 glucose 농도는 각각 10.90 ± 3.54 mg/g wet wt. 10.19 ± 1.45 mg/g wet wt. 및 8.88 ± 1.47 mg/g wet wt.로 감소하여 저압실 비행고도 30,000ft에서는 8.66 ± 0.95 mg/g wet wt.로 정상 백서보다 39.0% 감소하였다.

4. Superoxide radical 생성의 변화

저압실 비행 고도가 상승함에 따라 백서 심근질액내의 superoxide radical 생성량은 증가하였다 (Fig 6).

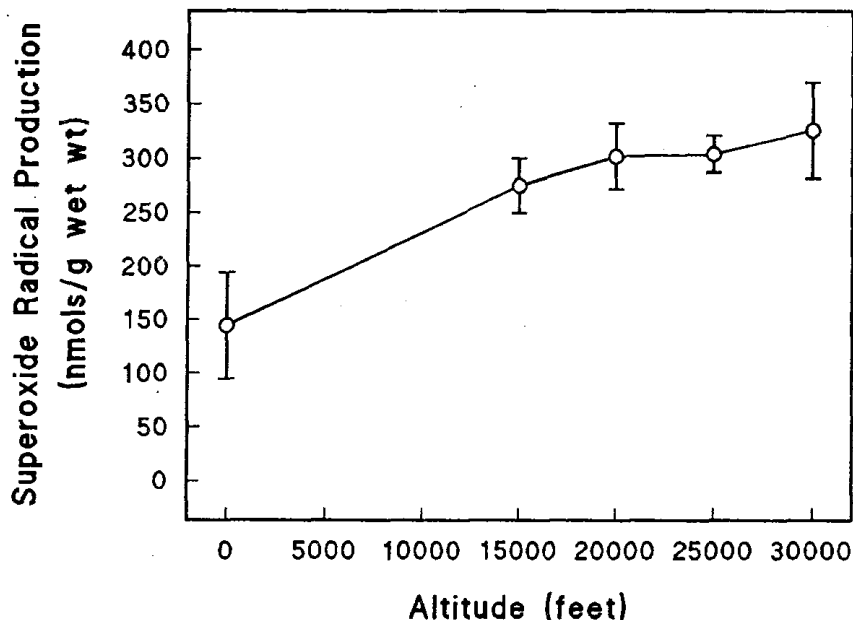


Figure 6. Effect of hypoxia on superoxide radical production in heart homogenate of rats.
Data are means and standard deviations of 5 animals.

정상 백서 심근질액내 superoxide radical 생성량은 144.22 ± 49.93 nmol/g wet wt./min 였다.

저압실 비행고도가 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft로 상승함에 따라 심근질액내 superoxide radical 생성량은 각각 274.53 ± 25.16 nmol/g wet wt./min, 301.62 ± 30.42 nmol/g wet wt./min 및 303.59 ± 16.87 nmol/g wet wt./min로 증가하여 저압실 비행고도 30,000ft에서는 325.64 ± 44.40 nmol/g wet wt./min로 정상 백서보다 125.8% 증가하였다.

5. Malondialdehyde(MDA) 생성의 변화

저압실 비행 고도가 상승함에 따라 백서 심근질액내의 MDA 생성량은 증가하였다 (Fig. 7).

정상 백서 심근질액내 MDA 생성량은 41.51 ± 8.61 nmol/g wet wt./hr 였다. 저압실 비행고도가 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft로 상승함에 따라 심근질액내 MDA 생성량은 각각 108.30 ± 22.27 nmol/g wet wt./hr, $120.87 \pm$

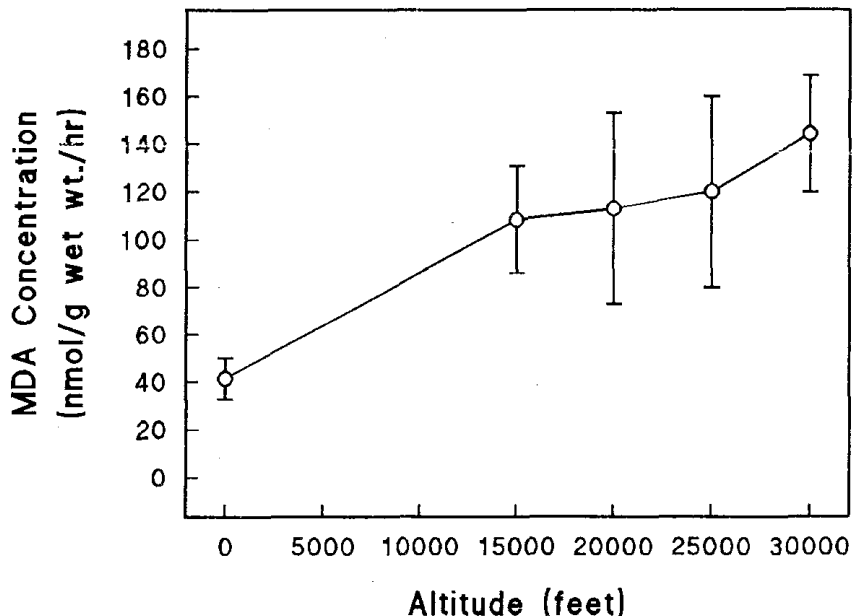


Figure 7. Effect of hypoxia on MDA production in heart homogenate of rats.
Data are means and standard deviations of 5 animals.

39.94 nmol/g wet wt./hr 및 113.33 ± 40.00 nmol/g wet wt./hr로 증가하여 저압실 비행고도 30,000ft에서는 144.18 ± 24.53 nmol/g wet wt./hr로 정상 백서보다 246.9% 증가하였다.

6. Total superoxide dismutase (Total SOD)활성도의 변화

저압실 비행 고도가 상승함에 따라 백서 심근질액내의 superoxide dismutase 활성도는 감소하였다 (Fig 8).

정상 백서 심근질액내 total superoxide dismutase 활성도는 14.38 ± 2.71 unit/mg protein 였다. 저압실 비행고도가 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft로 상승함에 따라 심근질액내 superoxide dismutase 활성도는 각각 12.79 ± 1.36 unit/mg protein, 12.21 ± 4.30 unit/mg protein 및 10.82 ± 1.18 unit/mg protein로 감소하여 저압실 비행고도 30,000ft에서는 10.11 ± 3.04 unit/mg protein 으로 정상 백서보다 29.7% 감소하였다.

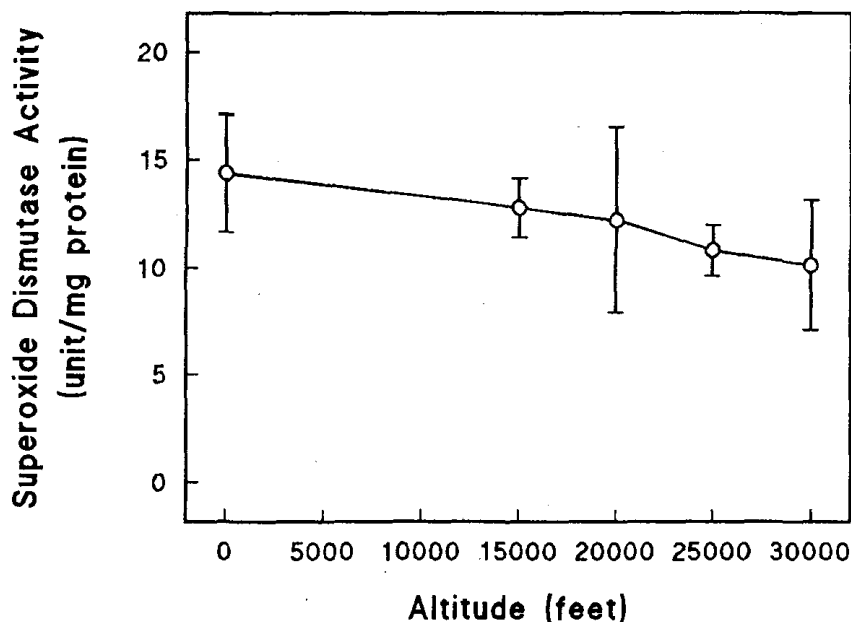


Figure 8. Effect of hypoxia on activity of superoxide dismutase in heart homogenate of rats.

Data are means and standard deviations of 5 animals.

7. Glutathione peroxidase(GSH-Px)활성도의 변화

저압실 비행 고도가 상승함에 따라 백서 심근질액내의 glutathione peroxidase 활성도는 감소하였다 (Fig 9).

정상 백서 심근질액내 glutathione peroxidase 활성도는 33.87 ± 4.85 unit/mg protein 였다. 저압실 비행고도가 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft로 상승함에 따라 심근질액내 glutathione peroxidase 활성도는 각각 30.54 ± 6.13 unit/mg protein, 29.85 ± 3.15 unit/mg protein 및 28.06 ± 4.12 unit/mg protein 로 감소하여 저압실 비행고도 30,000ft에서는 26.40 ± 3.53 unit/mg protein 로 정상 백서보다 22.1% 감소하였다.

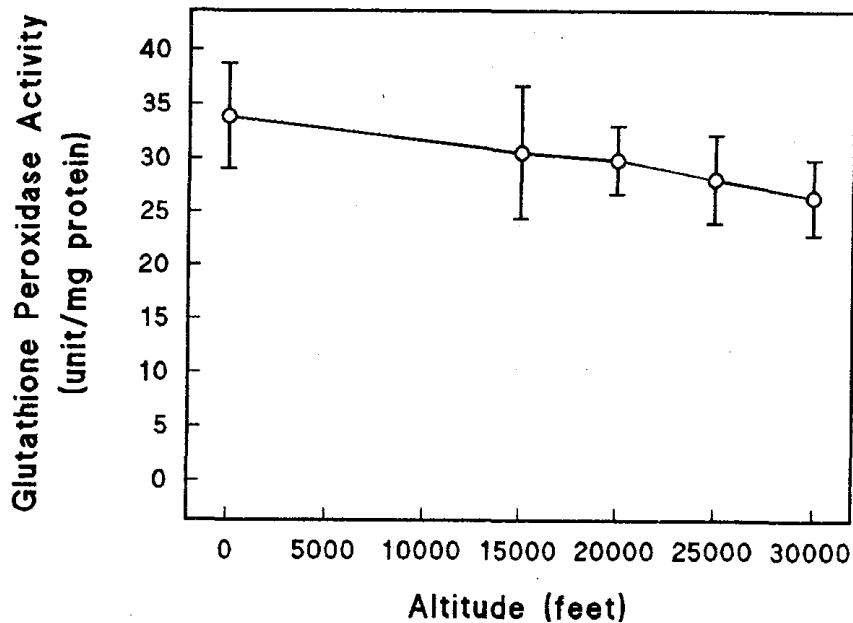


Figure 9. Effect of hypoxia on activity of glutathione peroxidase in heart homogenate of rats.

Data are means and standard deviations of 5 animals.

8. Total ATPase 활성도의 변화

저압실 비행 고도가 상승함에 따라 백서 심근질액내의 total ATPase 활성도는

감소하였다 (Fig 10).

정상 백서 심근질액내 total ATPase 활성도는 $5.44 \pm 0.43 \mu\text{mol/mg protein/hr}$ 였다.

저압실 비행고도가 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft로 상승함에 따라 심근질액내 ATPase 활성도는 각각 $4.79 \pm 0.58 \mu\text{mol/mg protein/hr}$, $4.62 \pm 0.34 \mu\text{mol/mg protein/hr}$ 및 $4.59 \pm 0.89 \mu\text{mol/mg protein/hr}$ 로 감소하여 저압실 비행고도 30,000ft에서는 $4.27 \pm 0.46 \mu\text{mol/mg protein/hr}$ 로 정상 백서보다 21.5% 감소하였다.

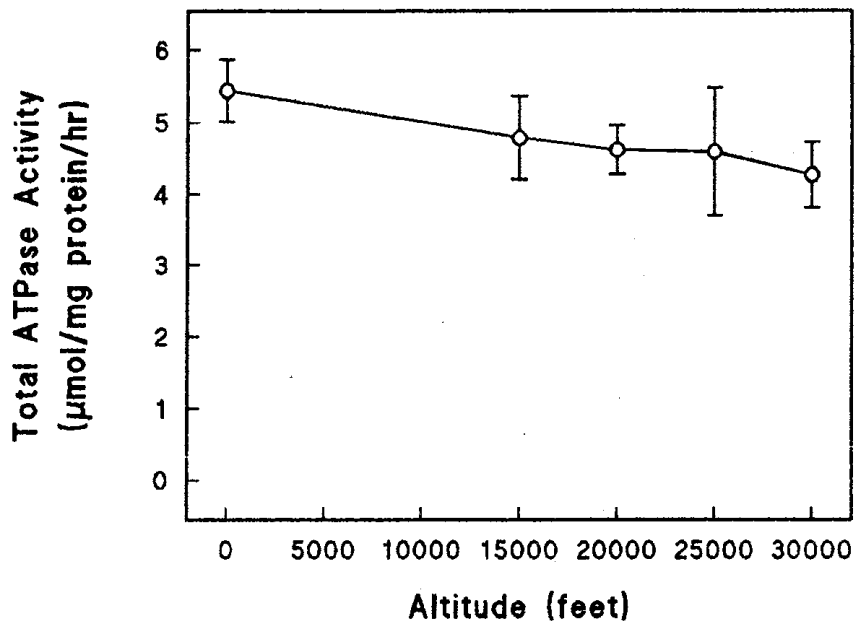


Figure 10. Effect of hypoxia on activity of total ATPase in heart homogenate of rats.
Data are means and standard deviations of 5 animals.

고찰

심근의 저산소 및 허혈상태는 산소 및 에너지원 부족과 대사산물의 축적 등 두가지의 중요한 결과를 초래한다. 실험적인 체외 관류로 백서 심장에서 유발

시킨 저산소증은 저산소증 정도에 비례하여 ATP 및 glucose의 감소와 lactate의 증가를 초래한다.^{17), 18)} 이번 연구에서 저압실 비행으로 유발된 급성 저산소증도 비행고도에 따라 백서 혈청 및 심근질액내의 ATP와 glucose의 감소 및 lactate의 증가를 초래하였다. ATP 농도는 심근의 구조 및 기능적 변화의 결과와 일치되어 허혈 손상의 증대성을 나타내는 좋은 지표로 사용되며, 증가된 lactate 농도는 혐기성 대사과정(anaerobic metabolic condition)이 진행됨을 알려준다.¹⁷⁾

저산소 및 허혈상태는 심근의 반응성 oxygen radical의 발생을 증가시키며 이들 superoxide radical(O_2^-), hydrogen peroxide(H_2O_2) 및 hydroxyl radical($\cdot OH$) 등은 심근세포 손상의 원인으로 작용하여 mitochondria의 swelling과 cristolysis, filament의 파괴, 세포내 부종(intracellular edema) 및 세포막의 파괴 등 심근세포의 미세구조 변화와 부정맥(arrhythmia)을 초래한다.^{4, 18~22)} 이러한 조직손상기전에서는 $\cdot OH$ 로 변환되는 H_2O_2 가 중요한 역할을 하며, $\cdot O_2^-$ 는 이들 물질의 전구체 역할을 한다.²³⁾ 또한 저산소 조건에서 oxygen radical들의 생성 증가는 여러가지 원인에 의한 생체내 조직 손상의 기본 기전으로 생각되는²⁴⁾ 지질과산화의 증가를 초래한다.^{25), 26)}

이번 연구결과에서도 급성 저압실-저산소증 폭로는 폭로 고도에 따라 심근질액내의 $\cdot O_2^-$ 와 지질과산화의 지표로 사용되는 MDA¹⁰⁾의 생성 증가를 보였다.

정상적인 조건에서 호기성 세포는 oxygen radical의 독성에 대한 충분한 세포내 방어기전을 가지고 있다.²⁶⁾ 이러한 역할을 수행하는 항산화 효소들로는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px) 및 catalase 등이 있다. 심근세포 mitochondria의 전자전달체계(electron-transfer system)에서 생산된 $\cdot O_2^-$ 중 20%는 막을 통과하여 세포질로 이동하고 80%는 mitochondria에 존재하는 Mn-SOD에 의해 중화된다.²⁷⁾ 세포질에 존재하는 CuZn-SOD는 $\cdot O_2^-$ 를 H_2O_2 로 dismutation시킴으로써 세포를 보호하고 H_2O_2 는 GSH-Px와 catalase의 작용에 의해서 제거된다. GSH-Px는 심근조직에서 reduced glutathione(GSH)를 수소 공여자로 사용하여 다양한 hydro-

peroxides를 제거하여 지질과산화를 억제하는 작용을 하지만, ²⁸⁾ catalase는 심근조직내에서 다른 효소에 비하여 그 활성도가 매우 미미하다. ^{29), 30)} 이들 항산화효소들은 저산소 조건에서 초래되는 심근조직손상에서 중요한 역할을 하며 체외적으로 이들 효소들을 투여하면 허혈 및 저산소증으로 초래되는 심근조직손상의 정도를 감소시킨다고 보고되고 있다. ^{31), 32)}

이번 연구결과에서 급성 저압실-저산소증, 폭로는 폭로 고도에 따라 심근질액내의 total SOD와 GSH-Px의 활성도를 억제하여 여러가지 조건으로 유발시킨 심근의 허혈 및 저산소증 상태에서 SOD와 GSH-Px의 활성도가 억제되었다는 많은 연구보고와 일치하였다. ^{33), 34)}

이번 연구 결과는 급성 저압실-저산소증 노출이 심근조직내에서 oxygen radical의 독성에 대한 방어 역할을 담당하는 total SOD와 GSH-Px의 활성도를 억제함으로써 생성이 증가된 superoxide radical과 과산화 지질이 심근조직손상을 초래할 가능성을 시사한다. 이번 연구에서 심근조직손상의 지표로 측정된 total ATPase의 활성도가 폭로고도에 따라 함께 억제된 것은 이 가능성을 뒷받침한다고 할 수 있다. ^{35), 36)}

결 론

급성 저압실-저산소증이 백서 심장의 항산화 방어기전에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험동물들을 각각 15,000ft, 20,000ft, 25,000ft 그리고 30,000ft의 고도에서 2시간동안 저압실 비행을 실시하여 급성 저산소증에 노출시켰다.

비행이 끝난직후, 혈청 및 심근질액내의 ATP, lactate 그리고 glucose를 측정하였고 심근질액내의 superoxide radical 및 malondialdehyde(MDA)의 생성량과 total superoxide dismutase(total SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px) 및 total ATPase의 활성도를 측정하였다.

혈청 및 심근질액내의 ATP와 glucose는 모두 노출된 고도가 높을수록 감소하였으며, 혈청 및 심근질액내의 lactate는 증가하였다.

심근질액내의 superoxide radical 및 MDA의 생성량은 폭로 고도가 높을수록 증가하여 고도 30,000ft에서 각각 125.8% 및 246.9%의 증가를 보였다.

또한 심근질액내의 total SOD, GSH-Px 및 total ATPase의 활성도는 폭로 고도가 높을수록 양-반응 양상으로 감소하여, 고도 30,000ft에서 각각 정상 백서와 비교하여 29.7%, 22.1% 및 21.5%의 감소를 보였다.

이러한 결과는 급성 저압실-저산소증 노출시 total SOD 및 GSH-Px의 활성도 억제의 결과로 초래된 superoxide radical 및 지질과산화가 심장조직 손상기전으로 작용할 수 있음을 보여주고 있다.

〈참 고 문 헌〉

- 1) DeHart RL : Fundamentals of aerospace medicine. p 91. Philadelphia, Lea & Febiger, 1985.
- 2) Allsopp D, Bailey PJ, Higgins TJC : The effects of incubation conditions on enzyme release from anoxic heart cell cultures. J Mol Cell Cardiol 12 : 701, 1980.
- 3) Guarnieri C, Ferrari R, Visioli O, Caldarera CM, Nayler WG : Effect of α -tocopherol on hypoxicperfused and reoxygenated rabbit heart muscle. J Mol Cell Cardiol 10 : 893, 1978.
- 4) Fridovich I : Hypoxia and oxygen toxicity. In Advances in Neurology. p 255, New York, Ravan Press, 1979.
- 5) Gaudel Y, Duvelleroy MA : Roll of oxygen radicals in cardiac injury due to reoxygenation. J Mol Cell Cardiol 16 : 459, 1984.
- 6) Frank L : Protection from O₂ toxicity by pre-exposure to hypoxia : lung antioxidant enzyme role. J Appl Physiol 53 : 475, 1982.
- 7) Kehrer JP, Piper HM, Sies H : Xanthine oxidase is not responsible for reoxygenation injury in isolated-perfused rat heart. Free Rad Res Comms 3 : 69, 1987.
- 8) McCord JM, Fridovich I : Superoxide dismutase : An enzymatic function for erythrocuprein(hemocuprein). J Biol Chem 244 : 6,049, 1969.
- 9) Badway JA, Karnovsky ML : Production of superoxide and hydrogen peroxide by an NADH-oxidase in guinea pig polymorphonuclear leucocyte. J Biol Chem 254 : 11,530, 1979.
- 10) Barber AA, Bernheim F : Lipid peroxidation : Its mesurement, occurrence and significance in animal tissue. Adv Gerontol Res 2 : 355, 1967.
- 11) Bidlack WR, Tappel AL : Damage to microsomal membrane by lipid pe-

- roxidation. Lipids 8 : 177, 1973.
- 12) Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC : Estimation of product of lipid peroxidation(malonyl dialdehyde) in biologic systems. Anal Biochem 16 : 359, 1966.
 - 13) Flohe L, Gunzler WA : Assay of glutathione peroxidase. Methods in Enzymol 105 : 114, 1984
 - 14) Phillips TD, Hayes AW : Effects of patuline on adenosine triphosphatase activities in mouse. Toxicol Appl Pharmacol 42 : 175, 1977.
 - 15) Fiske CH, Subbarow Y : The colorimetric determination of phosphorus. J Biol Chem 66 : 375, 1925.
 - 16) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ : Protein measurement with the foline phenol reagent. J Biol Chem 193 : 265, 1951.
 - 17) Schaper J, Mulch J, Winkler B, Schaper W : Ultrastructural, functional, and biochemical criteria for estimation of reversibility of ischemic injury : A study on the effects of global ischemia on the isolated dog heart. J Mol Cell Cardiol 17 : 485, 1985.
 - 18) Kammermeier H, Wendtland B : Interstitial fluid of isolated perfused rat heart : glucose and lactate concentration. J Mol Cell Cardiol 19 : 167, 1987.
 - 19) Clark JM, Lamberstein CJ : The toxicity of oxygen. Pulmonary oxygen toxicity : a review. Pharmacol Rev 23 : 37, 1971.
 - 20) Sachs T, Moldown CF, Craddock PR, Bowers TK : Oxygen radicals mediate endothelial cell damage by complement-stimulated granulocytes. J Clin Invest 61 : 1161, 1978.
 - 21) Ytrehus K, Muklebust R, Olsen R, Mjos OD : Ultrastructural changes induced in the isolated rat heart by enzymatically generated oxygen radicals. J Mol Cell Cardiol 19 : 379, 1987.

- 22) Woodward B, Zakavia MNM : Effect of some free radical scavengers on reperfusion induced arrhythmias in the isolated rat heart. J Mol Cell Cardiol 17 : 485, 1985.
- 23) Myers CL, Weiss SJ, Kirsh MM, Shlater M : Involvement of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in the 'oxygen paradox': Reduction of creatine kinase release by catalase, allopurinol or deferoxamine, but not by superoxide dismutase. J Mol Cell Cardiol 17 : 675, 1985.
- 24) Slater TF : Lipid peroxidation. Biochem Soc Trans 10 : 70, 1982.
- 25) Romaschin AD, Rebeyka I, Wilson GJ, Mickle DAG : Conjugated dienes in ischemic and reperfused myocardium : an in vivo chemical signature of oxygen free radical mediated injury. J Mol Cell Cardiol 19 : 289, 1987.
- 26) Freeman BA, Crapo JD : Biology of disease. Free radicals and tissue injury. J Lab Invest 47 : 412, 1982.
- 27) Nohl H, Hegner D : Do mitochondria produce oxygen radicals in vivo? Eur J Biochem 82 : 563, 1978.
- 28) Little C, O'Brien PJ : An intracellular GSH-peroxidase with a lipid peroxide substrate. Biochem Biophys Res Comm 31 : 145, 1968.
- 29) Lawrence RA, Burk RF : Species, tissue and subcellular distribution of non-Se dependent glutathione peroxidase activity. J Nutrition 108 : 211, 1978.
- 30) Meerson FZ, Kagan VE, Kazlov YP, Belkina LM, Arkhipenko YV : The role of lipid peroxidation in pathogenesis of ischemic damage and the antioxidant protection of the heart. Basic Res Cardiol 77 : 465, 1982.
- 31) Myers ML, Bolli R, Lekich R, Hartley CJ, Roberts R : Enhancement of recovery of myocardial function by oxygen free-radical scavengers after reversible regional ischemia. Circulation 72 : 915, 1985.
- 32) Chambers DE, Parks DA, Roy GPR, McCord JM, Yoshida S, Parmley LF,

- Downey JM : Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia. J Mol Cell Cardiol 17 : 145, 1985.
- 33) Guarnieri C, Flamigni F, Caldarera CM : Role of oxygen in the cellular damage induced by reoxygenation of hypoxic heart. J Mol Cell Cardiol 12 : 797, 1980.
- 34) Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Guarnieri C, Caldarera CM, Albertini A, Visioli O : Oxygen-mediated myocardial damage during ischaemia and reperfusion : Role of the cellular defense against oxygen toxicity. J Mol Cell Cardiol 17 : 937, 1985.
- 35) Hambrecht GS, Compton DR, Hilton JG : Free-radical inhibition of ATPase in hamster cheek pouch homogenates. Life Sci 32 : 677, 1983.
- 36) Sawas AH, Gilbert JC : Possible mechanism of inhibition by lipid peroxidation of ATPase activities of rat cerebral cortex synaptosomes. Arch Int Pharmacodyn 269 : 4, 1984.