

정상 및 허혈/재관류 흰쥐 심장에 대한 2-클로로-3-(4-시아노페닐아미노)-1,4-나프토퀴논 (NQ-Y15)의 작용

문창현* · 김지영 · 백은주 · 이수환 · 류충규*
아주대학교 의과대학 생리학교실, *이화여자대학교 약학대학
(Received November 6, 1997)

Effects of 2-chloro-3-(4-cyanophenylamino)-1,4-naphthoquinone(NQ-Y15) on Normal and Ischemic/reperfused Rat Hearts

Chang-Hyun Moon*, Ji Young Kim, Eun Joo Baik,
Soo Hwan Lee and Chung-Kyu Ryu*

Department of Physiology, School of Medicine, Ajou University, Suwon 442-749
*College of Pharmacy, Ehwa Women's University, Seoul, 120-750

Abstract—Studies on the effect of quinones on cardiac function has been conducted with normal hearts, but not with injured hearts, i.e. ischemia/reperfusion-injured heart. Quinone compounds are known to produce oxygen free radicals during metabolism, and for this reason, quinones are implicated in the aggravation of ischemia/reperfusion injury or cardioprotection, as in the case of ischemic preconditioning depending on the experimental conditions. The present study was carried out to examine the effect of 2-chloro-3-(4-cyanophenylamino)-1,4-naphthoquinone (NQ-Y15) on cardiac function of ischemic/reperfused and normal rat hearts. In isolated perfused hearts, various functional parameters such as left ventricular developed pressure (LVDP), left ventricular end-diastolic pressure (EDP) and maximum positive and negative dP/dt ($\pm dP/dt_{max}$), time to contracture, heart rate (HR) and coronary flow rate (CFR) were measured before and 30 min after dosing and following 25 min ischemia/30 min reperfusion. NQ-Y15 increased LVDP, $+dP/dt_{max}$ and $-dP/dt_{min}$ by 18%, 30%, and 40%, respectively. There were no significant changes in other haemodynamic parameters. After ischemia/reperfusion injury, pretreatment with NQ-Y15 induced a significant decrease in LVDP and $\pm dP/dt_{max}$, but an increase in EDP. LDH-release was not significantly increased. These results suggested that NQ-Y15 may augment the ventricular contractility but it makes hearts more vulnerable to ischemia/reperfusion injury.

Keywords □ NQ-Y15, Ischemia, Reperfusion, Heart.

심장 순환계 질환은 현대사회의 대표적인 성인 질환으로서 선진국의 경우 전체 사망률의 50% 이상을 차지한다. 최근에 이르러 우리나라 도시 생활자들의 성인 질환 발생 빈도와 분포는 선진국과 유사한 유형을 나타내고 있으며 특히 심장순환계 질환은 대사성 질환과 함께 발병률이 계속 증가되는 추세에 있다. 후천적 심장기능

이상의 대표적인 유형은 허혈성 심장질환(ischemic heart disease)으로 superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroxyl radical 등 유해한 활성산소(reactive oxygen radical)의 생성과 세포내 칼슘 항상성의 변화가 주된 요인으로 추정된다.^{1,2)} 한편, 짧은 시간의 허혈/재관류는 심장에 비가역적인 손상을 주지 않는다는 점에서 착안된 ischemic preconditioning은 1986년 Murry 등에 의하여 처음 제시되었는데, 짧은 시간의 허혈성 스트레스에 여러 번 노출되면 그 후 더욱

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0331-219-5041 (팩스) 0331-219-5049

강한 허혈성 자극이 와도 심장 자체가 방어력을 갖게 되는 것을 말한다.³⁾ 허혈성 preconditioning에 따른 심장 보호작용에 대해서는 많은 연구가 이루어지고 있으나 아직까지 정확한 기전은 알려지지 않고 있지만, 최근 Isabella 등은 purine/xanthine oxidase를 이용하여 인위적으로 활성산소에 일정시간 노출시킨 심장의 경우 이후의 비가역적인 허혈/재관류 손상에 대하여 보호 작용을 나타냄을 보고한 바 있다.⁴⁾ 또한 Tanaka 등에 따르면 preconditioning시 superoxide dismutase나 catalase 등을 이용하여 활성산소를 제거하여주면 preconditioning에 따른 심장보호작용이 사라짐을 보고하였다.⁵⁾ 이는 활성산소 자체가 허혈성 preconditioning에 따른 심장보호작용을 나타내게하는 주된 내인성 인자의 하나로 작용할 수 있음을 의미하는 것으로 이러한 역설적인 현상은 짧은 시간의 허혈/재관류 동안 심장이 소량의 활성산소에 지속적으로 노출됨으로써 어느정도 저항력을 갖게되어 이후의 비 가역적인 허혈/재관류에 따른 다량의 활성산소의 작용에 적응력을 나타내는 것으로 설명하고 있다.

Quinone성 화합물은 우리주변에서 흔하게 접할 수 있는 화합물로 그 범위가 넓고 방대한 만큼 작용 또한 다양하며, 그 중 vitamin K 구조 유사체들은 항 혈액응고 작용과 항 혈전작용 때문에 관심의 대상이 되어왔다. 대부분의 quinone성 화합물은 대사과정에서 flavoenzyme에 의한 환원반응을 일으키며 반복되는 산화환원 과정(redox-cycling)을 거치면서 다량의 활성산소가 생성된다. 따라서 quinone성 화합물을 일정시간 동안 투여할 경우 quinone의 대사과정에서 생성된 활성산소가 허혈/재관류 손상된 심장에 대하여 ischemic preconditioning과 유사한 보호작용을 나타낼 수 있을 것으로 추정되었다. 본 연구에서는 이러한 가능성을 확인하기위하여 최근 강력한 혈소판 응집억제작용이 보고된 바 있는⁶⁾ 2-chloro-3-(4-cyanophenylamino)-1,4-naphthoquinone(NQ-Y15, Fig. 1)이 정상 적출 심장 및 허혈/재관류 손상된 심장의 기능에 미치는 영

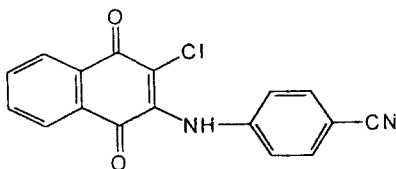


Fig. 1 — Chemical structure of NQ-Y15.

향을 살펴보고자 하였다.

실험방법

시약 및 시료 — LDH assay kit은 Sigma사(USA) 제품을 사용하였다. 동물 마취에 사용한 pentobarbital sodium은 한림제약(Hanlim Pharm. Co., Korea)의 것을 사용하였으며, 그외 일반 시약들은 reagent grade 이상의 것을 사용하였다. 전 실험에 걸쳐 사용한 생리액은 Krebs-Henseleit buffer를 용시 조제하여 carbogen(95% O₂/5% CO₂) 가스를 계속 주입하면서 pH 7.4를 유지하였으며 그 조성은 다음과 같다. (농도 : mmol/L) : NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 2.52, MgSO₄ 1.64, NaHCO₃ 24.88, KHPO₄ 1.18, glucose 11.4 Pyruvate 2.0.

실험동물 — 실험에 사용한 수컷 Sprague-Dawley 흰쥐는 대한실험동물 (Korea)로부터 공급받아 1주 이상 이주대학교 의과대학 동물 사육실에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험시의 체중은 300~350 g인 것을 사용하였으며 물과 사료는 자유로이 섭취하도록 하였고 사료는 퓨리나에서 판매하는 고형 사료를 사용하였다. 사육실 내의 온도는 20±2°C, 습도는 50~60%를 유지하게 하였으며, 조명은 12시간 명/암 주기가 되도록 하였다.

Langendorff heart를 이용한 in vitro 허혈-재관류 모델 — 수컷 SD 흰쥐(300~350 g)를 sodium pentobarbital(50 mg/kg i.p.)로 마취시킨 후 헤파린(1,000 U/kg i.v.)을 투여하였다. 기관에 cannula (PE 240)을 삽입하고 rodent ventilator를 이용하여 인공호흡 시키면서 in situ 상태에서 대동맥 cannula를 통한 역행성 관류하여 심장을 분리하여 Langendorff 장치에 고정하였다. Langendorff 실험은 Curtis와 Hearse가⁷⁾ 제안한 일정한 관류압이 유지된 Langendorff 장치(Hugo Sachs Electronics, Germany)를 사용하였으며, 에탄올과 증류수 혼합액(1:1 v/v)으로 채운 고무풍선(latex balloon)을 매단 금속 cannula를 폐정맥을 통해 좌심실에 삽입시키고 풍선에 전달되는 좌심실압을 isovolumetric하게 측정하기 위해 pressure transducer에 연결하였다. EDP(end diastolic pressure)는 10 mmHg로 주고 Gottlieb valve를 이용해 정압 관류(75 mmHg)를하여 20분 동안 안정화시켰으며 좌심실압이 70~120 mmHg 범위

안에서 유지되는 심장만을 사용하였다. 심장을 Langendorff 장치에 고정하는 순간부터 실험 전과정동안 생리액이 담긴 chamber에 심장이 충분히 잠기도록 하였으며 온도는 37°C로 유지하였다. 좌심실압 및 심박동수, 관상혈류 등이 일정하게 안정화되면 생리액 공급을 일시에 전면 중단하여 완전한 허혈(global ischemia)을 일으켜 25분 동안 방치하였고 그후 일시에 생리액을 재관류시켰다.

Haemodynamic parameters의 측정 - 심장기능을 평가하는 인자로 수축기말 좌심실압(LVP, left ventricular peak systolic pressure), 이완기말 좌심실압(LVEDP, left ventricular enddiastolic pressure), 좌심실압(LVDP, left ventricular developed pressure), $+dP/dt_{max}$ 및 $-dP/dt_{max}$ 와 DP(double product)를 측정하였다. 관상 혈관 기능을 평가하는 인자로는 관상 혈류량을 측정하였고 그밖에 심박동수 등을 측정하였다. DP는 working heart와 달리 심박출량을 측정할 수 없는 Langendorff 심장에서 간접적으로 심장의 기능(cardiac performance)을 알아보는 중요한 인자로서 심박동수에 좌심실압을 곱하여 계산하였다. 좌심실압은 LVP에서 LVEDP를 감하여 산출하였으며, 총 관상혈류량은 심장을 관류하여 떨어진 관류액을 1분간 수집하여 측정하였다. 또한 Plugsys bridge amplifier를 통해 처리된 모든 신호는 linearcorder로 기록하였다. 한편, 허혈손상에 대한 지표의 하나로서 time-to-contracture(TTC)를 측정하였는데 이는

25분의 허혈과정에서 5 mmHg의 수축을 일으키는 시점까지의 경과시간을 읽음으로써 나타내었다.

NQ-Y15의 심장에 대한 작용 - 심장이 안정화되면 시점에서의 각종 인자들을 preischemic predrug value로 취하였다. 이어 peristaltic pump(GILSON, France)를 사용하여 Langendorff 장치에 연결된 aortic cannula 바로 상단 부분을 통하여 vehicle(0.005% DMSO) 또는 각 농도의 NQ-Y15를 30분간 infusion 하였다. Infusion 시간 30분 시점에서의 인자들을 preischemic postdrug parameter로서 취하였으며 즉시 valve를 잠그어 관류액의 흐름을 차단하였다. 이로부터 25분후 재관류를 행하고 30분 재관류에 따른 각종 haemodynamic 인자들의 변화를 측정하여 vehicle 투여시와 NQ-Y15 전 처리시의 결과를 비교하였다.

Lactate dehydrogenase 활성의 측정 - 심장 세포 손상에 대한 지표로서 30분 재관류후 모아진 관류액중의 LDH(lactate dehydrogenase) 활성을 LDH assay kit(Sigma, USA)를 이용하여 측정하였다.

통계처리 - 통계처리는 one way analysis of variance(ANOVA) 방법에 의하여 행하였으며 p value가 0.05 미만일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결과 및 고찰

Quinone 성 화합물은 그 종류가 방대하고 음식물등으로 흔하게 섭취할 수 있을 뿐 아니라 anthracyclin의

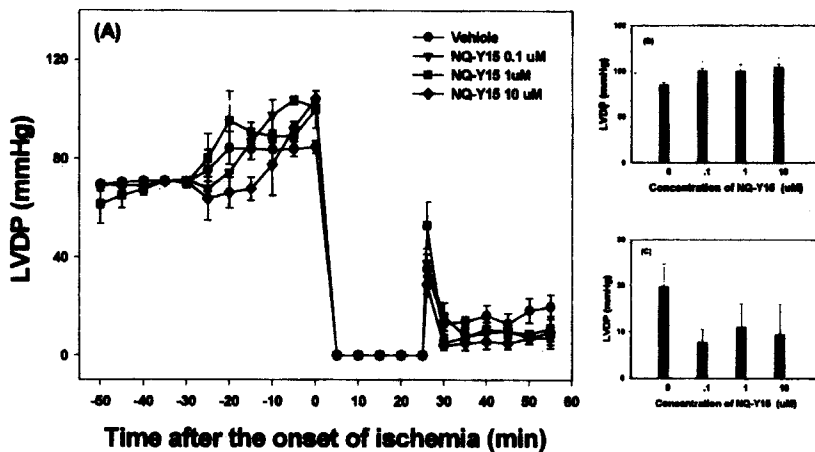


Fig. 2 — Effects of NQ-Y15 on LVDP in isolated rat hearts. (A): LVDP during whole experimental periods. (B): LVDP after 30 min pre-exposure of heart to vehicle or NQ-Y15 (0.1, 1, 10 uM). and (C): LVDP after the episode of 25 min-ischemia/30 min-reperfusion. Values are expressed as the Mean±S.E.M. from 5-7 animals. *p<0.05 vs vehicle

항암작용 및 비타민 K 유사체의 항 혈전작용 등의 예에서 보듯이 약물학적 활용가치가 충분한 물질이다. 심장에 대한 quinone성 화합물의 작용은 대체적으로 심근세포에 대하여 양성변력 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다. 그러나 대부분의 연구가 정상상태의 심장을 대상으로 한 것으로 심장기능에 이상이 나타났을 때에는 어떠한 양상으로 작용할 것인지에 대해서는 이렇다 할 연구가 이루어지지 않고 있다. NQ-Y15는 Chang등에⁶⁾ 의하여 혈소판 응집능의 억제작용이 확인된 바 있는 1,4-naphthoquinone 계열의 비타민 K 유사체이다. 본 연구에서는 NQ-Y15가 정상 및 허혈/재관류 손상된 흰쥐 심장에 대하여 어떠한 작용을 나타내는 지를 살펴보고자 하였다. Fig. 2은 흰쥐로부터 분리한 심장에 vehicle (0.005% DMSO)과 각 농도의 NQ-Y15를 30 분동안 전투여하고 25분간의 허혈과 30분 동안의 재관류를 거치는 동안 좌심실로부터 유래한 수축압을 기록한 것이다. 본 실험조건에서 흰쥐 심장의 기저상태의 좌심실압은 평균 70 mmHg 이었다(Fig. 2). Vehicle 및 각 농도의 NQ-Y15를 30분동안 전처리한 후 좌심실압의 변화를 Fig. 2(b)에 표시하였다. Vehicle 투여군에서는 84.8 ± 2.6 mmHg로 좌심실압이 약 21% 정도 증가하였다. NQ-Y15는 0.1 μM 및 10 μM에서 각각 100.7 ± 2.3과 104.4 ± 3.3으로 vehicle 대비 18.9%, 23.1% 씩 유의적인 증가를 나타내었다. 1 μM NQ-Y15의 경우 역시 유의적이지는 못하였으나 18% 정도로 증가된 좌심실압을

나타내었다. +dP/dt_{max}에 있어서는 vehicle 투여군이 1906.3 ± 529.0인 반면 NQ-Y15 0.1, 1, 10 μM 투여군은 각각 2187.5 ± 62.5, 2475.3 ± 287.8, 2625.0 ± 520.0을 나타내어 농도 의존적인 증가양상을 나타내었다(Fig. 3(b)). -dP/dt_{max} 또한 vehicle(1159.4 ± 105.0)에 비하여 NQ-Y15 투여군은 1 μM(1725.0 ± 175)과 10 μM(1543.8 ± 18.8)에서 각각 48.8 및 33.3%의 유의적인 증가를 나타내었다(Fig. 4(b)). Floreani등은 기니피그의 좌심방을 분리하여 전기적인 자극을 가하였을 때 1,4-naphthoquinone 유도체의 일종인 plumbagin(5-hydroxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone)이 강력한 양성변력 작용을 나타냄을 보고한 바 있다.⁸⁾ 그외에도 duroquinone등의 benzoquinone 유도체,⁹⁾ menadione 등의 naphthoquinone 유도체¹⁰⁾ 또한 심근조직에 대하여 양성변력 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다. NQ-Y15의 좌심실압 증가 작용은 이들 quinone성 화합물들의 양성변력작용과 일치되었다. Quinone성 화합물의 심장에 대한 양성변력작용은 이들이 생체내에서 대사되는 과정에서 생성되는 활성산소가 대표적 요인의 하나로 알려져 있다.^{11, 12)} Quinone 대사의 대표적인 특징은 flavoenzyme에 의한 환원반응을 일으킬 수 있다는 점으로, 미토콘드리아의 NADH-ubiquinone-oxidoreductase,¹³⁾ microsomal NADPH-cytP450-reductase 및 NADH-cytochrome b5 reductase¹⁴⁾는 quinones에 하나의 전자를 전달하여 환원반응을 일으

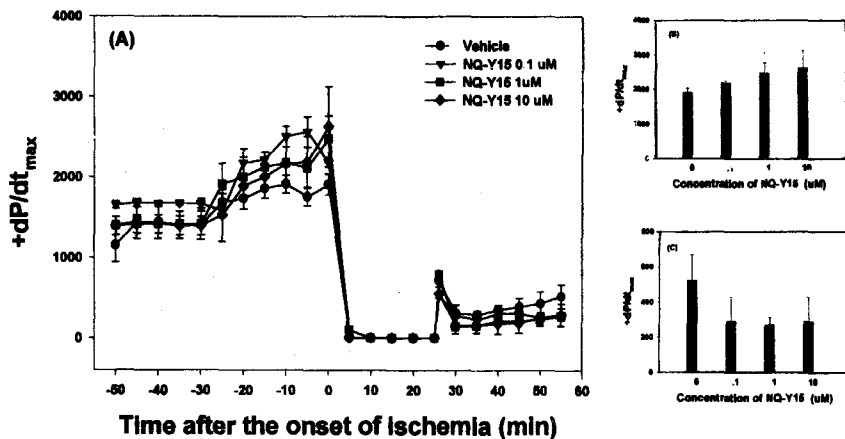


Fig. 3 — Effects of NQ-Y15 on +dP/dt_{max} measured from isolated rat hearts. (A): +dP/dt_{max} during whole experimental periods. (B): +dP/dt_{max} after 30 min pre-exposure of heart to vehicle or NQ-Y15 (0.1, 1, 10 μM). and (C): +dP/dt_{max} after the episode of 25 min-ischemia/30 min-reperfusion. Values are expressed as the Mean ± S.E.M. from 5-7 animals.

*p < 0.05 vs vehicle

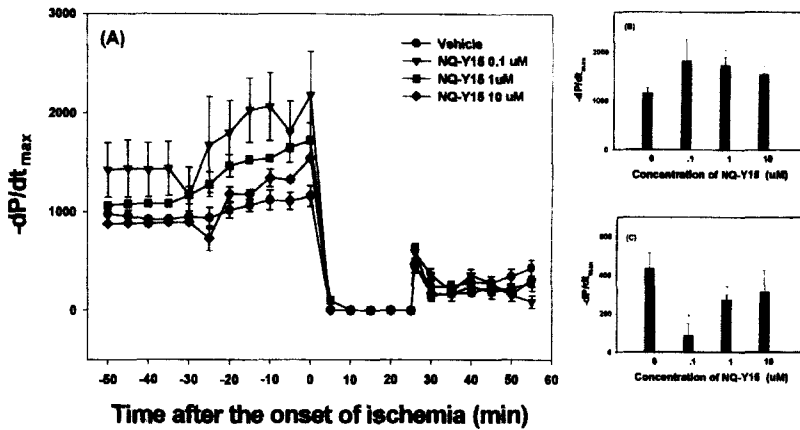


Fig. 4— Effects of NQ-Y15 on $-dP/dt_{min}$ measured from isolated rat hearts. (A): $-dP/dt_{min}$ during whole experimental periods. (B): $-dP/dt_{min}$ after 30 min pre-exposure of heart to vehicle or NQ-Y15 (0.1, 1, 10 μ M), and (C): $-dP/dt_{min}$ after the episode of 25 min-ischemia/30 min-reperfusion. Values are expressed as the Mean \pm S.E.M. from 5-7 animals.

* $p < 0.05$ vs vehicle

키며 그 결과 semiquinone radical이 형성된다. Semiquinones은 스스로 산화되어 O_2 를 형성하며^{15, 16)} 이는 자발적으로 그리고 효소반응에 의해 H_2O_2 로 변환되어 active oxygen species를 형성한다.¹⁷⁻¹⁹⁾ 활성산소가 심장의 수축력을 증가시키는 기전은 아직까지 명확하게 알려져 있지 않다. 다만 Floreani등은⁸⁾ 2,5-dimethoxy benzoquinone 이나 menadione의 분리심장에 대한 양성변력작용이 아드레날린성 베타수용체 길항제인 propranolol에 의해 완전히 억제되었으며 또한 reserpine 투여에 의해 저장과립중의 catecholamine이 고갈된 동물에서 분리한 심장에서는 이들 quinone성 화합물의 양성변력작용이 전혀 나타나지 않음으로써 quinone의 심근조직에 대한 양성변력 작용은 catecholamine의 유리와 관련이 있음을 보고한 바 있다. 또한 quinone에 의한 활성산소의 생성과 quinone에 의해 생성된 catecholamine에 의한 양성 변력작용이 밀접한 관계를 나타냄으로써 quinone에 의해 생성된 활성산소가 catecholamine의 유리를 증가시킴으로써 양성변력작용

을 나타냄을 알 수 있다. 좌심실압이나 $\pm dP/dt$ 이외의 다른 haemodynamic 인자는 NQ-Y15 처리에 의하여 유의적인 변화를 나타내지 않았다(Table I).

산소유리기는 허혈/재관류에 따른 여러조직의 손상에 있어서 주된 요인이다.²⁰⁾ 심근의 경우에도 마찬가지로 Toshio등은²¹⁾ 허혈/재관류에 따른 심근의 손상시 산소유리기의 생성을 dialysis 기술을 이용하여 측정함으로써 직접적인 증거를 제시하였다. 그러나 반대로 내독소,^{22, 23)} tumor necrosis factor(TNF), interleukin-1(IL-1)²⁴⁾등을 이용하여 심한 독성을 나타내지 않을 정도의 과산소상태에 일정시간 노출된 조직은 이후의 비가역적인 강력한 허혈성 자극에 대하여도 큰 손상이 나타나지 않음이 보고되었다. 이러한 보호작용은 과산소상태에 일정시간동안 노출됨에 따른 항 산화효소 활성의 증가로 조직 자체가 일종의 저항성을 갖게 되기 때문으로 알려지고 있다.²⁵⁾ 전술한 바와 같이 quinone성 화합물의 대사과정에서는 활성산소가 생성되므로 이들을 일정시간 전 처리 하면 심근조직이 과산소 상태에 어느

Table I— Effects of NQ-Y15 on haemodynamic parameters in isolated rat hearts

	DP	HR(beats/min)	EDP(mmHg)	CFR(ml/min)
Vehicle	34.1 \pm 0.5	260.0 \pm 9.0	4.1 \pm 1.0	16.5 \pm 2.5
0.1 μ M NQ-Y15	26.2 \pm 4.9	254.7 \pm 12.7	6.4 \pm 3.7	14.5 \pm 1.7
1 μ M NQ-Y15	35.2 \pm 2.4	284.0 \pm 12.7	7.8 \pm 0.9	16.5 \pm 0.8
10 μ M NQ-Y15	32.2 \pm 1.6	273.7 \pm 19.3	5.1 \pm 2.3	15.7 \pm 2.2

Hearts were perfused with Krebs Henseleit buffer containing vehicle or each concentration of NQ-Y15 for 30 min. The results are expressed as the Mean \pm S.E.M. from 5-7 animals.

Table II— Effects of NQ-Y15 on haemodynamic parameters in ischemic/reperfusion injured rat hearts

		DP	HR (beats/min)	EDP (mmHg)	CFR (ml/min)	TTC (min) ^a
Vehicle	pre	19.0±0.6	261.0±9.0	9.9±0.9	14.3±3.7	20.9±3.0
	R30	5.5±3.1	243.0±2.0	62.7±4.2	7.2±2.4	
NQ-Y15 0.1 μM	pre	25.1±2.97	295.7±20.4	9.3±3.0	14.1±2.2	19.2±0.8
	R30	5.1±1.5	270.0±10.0	78.5±10.7*	7.6±.5	
NQ-Y115 1 μM	pre	21.0±1.6	293.7±17.6	11.9±0.8	12.8±2.1	19.7±1.0
	R30	3.8±1.6	177.7±13.0	95.0±12.0*	9.3±0.9	
NQ-Y15 10 μM	pre	20.8±0.9	307.7±13.9	8.7±1.2	11.2±0.9	18.8±0.4
	R30	5.4±2.5	282.0±14.7	95.7±12.6*	7.6±0.5	

Hearts were perfused with Krebs Henseleit buffer (KH) containing vehicle or each concentration of NQ-Y15 for 30 min. After 25 min global ischemia, hearts were reperfused with krebs Henseleit buffer for 30 min. Data represent here are haemodynamic parameters at basal state (pre) and after ischemial/reperfusion insult (R30). The results are expressed at the Mean±S.E.M. from 5-7 animals. *p<0.05 vs each group of vehicle.

^aTime to contracture as ischemic time producing 5 mmHg increase in LVDP.

정도 저항성을 갖게되어 이후의 허혈/재관류 손상시 내독소, TNF, IL-1의 경우와 마찬가지로 어느정도 보호작용을 나타낼 수 있을 것으로 추정되었다. 따라서 본 실험에서는 NQ-Y15를 30분 동안 전 처리하고 25분 동안 관류액의 유입을 완전히 차단하여 허혈을 유발한 뒤 다시 관류액을 재관류 시켜주어 NQ-Y15가 심장기능의 회복에 어떠한 작용을 나타내는 지를 살펴보았다. 그러나 예상과는 달리 NQ-Y15 투여군은 vehicle 투여군에 비하여 긍정적인 결과를 나타내지 못하였으며 오히려 NQ-Y15는 허혈/재관류 후 심장에 대하여 부정적인 작용을 함이 관찰되었다. Vehicle 투여군의 경우 25분간 허혈 후 30분간 재관류시 기저상태에 비하여 좌심실압, $+dP/dt_{max}$, $-dP/dt_{min}$ 가 각각 23%, 27%, 37%를 기록하였다. NQ-Y15를 전 처리한 경우 재관류 30분째의 좌심실압은 vehicle (19.5±4.9)에 비하여 0.1, 1, 10 μM 농도에서 각각 7.2±2.8, 11.0±5.0, 9.5±6.5으로 유의적이지는 않지만 감소되는 경향을 나타내었다(Fig. 2(c)). $+dP/dt_{max}$ 는 vehicle 처리군에 비하여 45% 내지 49% 감소되었으며(Fig. 3(c)), $-dP/dt_{min}$ 역시 NQ-Y15 0.1, 1, 10 μM 각 농도에서 vehicle 처리군 대비 79.9%, 36.7%, 28% 저하되었다(Fig. 4(c)). 즉, 허혈/재관류 손상된 심장에 대하여 NQ-Y15는 심장의 수축력을 오히려 저하시키며, 수축기에 심장으로부터의 혈액의 유출 및 이완기에 심장으로부터의 혈액의 유입을 충분히 하지 못함을 의미하는 것으로 더욱 손상을 심화시키는 결과를 일으킴을 의미한다. 이는 Table II에서 보는 바와같이 NQ-Y15 투여에 의해 EDP가 증가된것과도 무관하지 않은 것으로, 심근의 긴장상태가 증가되어 있음을 알 수 있다. 따라서 원활한

심근 수축이나, 빠른 속도의 수축, 이완이 제대로 이루어지지 못한다고 할 수 있다. 또한 정상상태의 심장에 대하여 NQ-Y15가 어느정도 양성 변형작용을 일으킬을 생각할 때 심장내의 ATP가 이동안 지나치게 소모되어 허혈/재관류 손상 이후 심근이 수축하는데 작용할 에너지원이 고갈되어 수축력의 저하를 가져왔을 수 있다.²⁶⁾ 또다른 이유로는 NQ-Y15를 30분 전처리하는 동안 생성된 활성산소의 양이 지나치게 과다하여 심장조직 자체에 세포독성을 유발하였을 가능성을 생각해 볼 수 있다. 실제로 anthracyclines의 항암작용과 심장에 대한 독성^{27, 28)} 그리고 menadione의 간독성작용은 이들이 대사과정 중 redox cycling시에 형성된 과다한 활

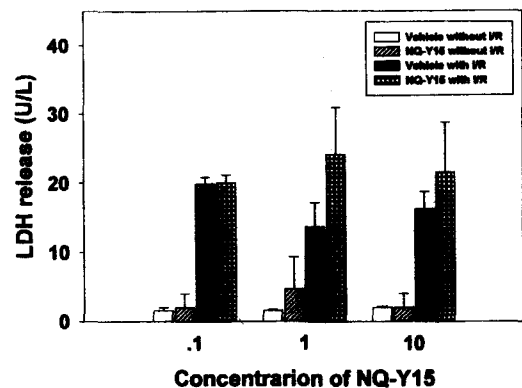


Fig. 5— Effects of NQ-Y15 on LDH release in rat heart perfusates. LDH released was measured using perfusates collected from heart pretreated with vehicle or NQ-Y15 with or without the episode of ischemia/reperfusion (I/R). Values are expressed as the Mean±S.E.M. from 5-7 animals.

*p<0.05 vs vehicle

성산소에 의한 것임이 이미 보고된 바 있다. 활성산소에 의한 심장보호작용은 세포독성을 일으키지 않을 정도로 소량의 활성산소에 의해 이루어지는 것으로 실제로 내독소등에 의한 심장 보호작용 역시 패혈증등의 병변을 일으키지 않는 극히 저 용량에서 일어나는 현상이다. Fig. 5는 심근조직에 대한 세포독성의 지표로서 lactate dehydrogenase(LDH) 유리정도를 측정된 것으로, 본 실험에서 사용한 0.1 μ M에서 10 μ M의 농도에서는 정상상태의 심장에 대하여 별다른 세포독성이 관찰되지 않았다. 또한 100 μ M의 경우는 2시간 이상 지속적으로 처리하였을때는 시간이 지남에 따라 좌심실압이 현저히 감소되었으나 본 실험에 사용한 농도에서는 좌심실압이 지속되었다 (결과는 제시하지 않음). 반면, 허혈/재관류 심장에 대하여서는 1 μ M NQ-Y15를 전처리한 군에서 유의성은 없었으나 LDH 유리가 일부 증가되는 경향을 나타내었다. 따라서 본 실험에 사용한 농도에서 NQ-Y15가 정상상태의 심장에서는 세포독성을 일으키지 않았더라도 허혈/재관류 손상시 더 큰 세포독성을 나타나게 할 가능성이 있음을 알 수 있다. 이는 NQ-Y15 전처리동안 심장보호작용을 일으킬 수 있는 정도보다 더 과량의 활성산소가 생성되었을 가능성을 시사하는 것으로 NQ-Y15 처리시간을 좀더 다양화해서 생성된 활성산소의 양을 조절할 필요성을 제시하여준다. 이상의 결과를 요약하면, NQ-Y15는 정상상태의 심장에서는 좌심실압과 $\pm dP/dt_{max}$ 를 증가시키나, 허혈/재관류 심장에 대하여는 EDP는 증가시키는 반면 좌심실압이나 $\pm dP/dt_{max}$ 는 오히려 저하되는 등 심장 기능을 더욱 저하시켰다. 이는 NQ-Y15의 처리에 의해 허혈/재관류에 의한 심장조직의 손상이 증가됨을 의미하며, 앞으로 작용시간과 작용농도를 더욱 세분화하여 실험할 필요성을 제시하고있다.

감사의 말씀

본 연구는 보건 복지부의 1996년도 보건 의료기술연구개발사업 과제수행을 통하여 시행되었으며, 이에 감사드립니다.

문헌

1) Pallandi R. R., Perry M. A., and Campbell T. J. Proarrhythmic effects of an oxygen derive free

radical generating system on action potentials recorded from arrhythmias. *Circ. Res.* **61**, 50 (1987).

- 2) Hearse D. J., and Tasaki A. Free radicals and calcium : simultaneous interacting triggers as determinants of vulnerability to reperfusion-induced arrhythmias in the rat heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **29**, 213 (1988).
- 3) Reimer K. A., Murrey C. E., Yamasawa I., Hill M. L., and Jennings R.B. Four brief periods of myocardial ischemia cause no cumulative ATP loss or necrosis. *Am. J. Physiol.* **251**, H1306 (1986).
- 4) Isabella T., Davide D., Nicola E., Annalisa S., Ciro D. S., Anna V., Annamaria E., Massimo C., and Giuseppe A. Oxygen radicals can induce preconditioning in rabbit hearts. *Circ. Res.* **80**, 743 (1997).
- 5) Tanaka M., Fujiwara H., Yamasaki K., and Sasayama S. Superoxide dismutase and N-2-mercaptopyrionyl glycine attenuate infarct size limitation effect of ischaemic preconditioning in the rabbit. *Cardiovasc. Res.* **28**, 980 (1994).
- 6) Chang T. S., Kim H. M., Lee K. S., Khil L. Y., Mar W. C., Ryu C. K., and Moon C. K. Thromboxane A_2 synthase inhibition and thromboxane A_2 receptor blockade by 2-[(4-cyanophenyl)amino]-3-chloro-1,4-naphthalenedione (NQ-Y15) in rat platelets. *Biochem. Pharmacol.* **54**, 259 (1997).
- 7) Curtis M. J. and Hearse D. J. Ischemia-induced and reperfusion-induced arrhythmias differ in their sensitivity to potassium: implication for mechanisms of initiation and maintenance of ventricular fibrillation. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **32**, 21 (1989).
- 8) Floreani M., Forlin A., Pandolfo L., Petrone M., and Bellin S. Mechanisms of plumbagin action on guinea pig isolated atria. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **287**, 763 (1996).
- 9) Floreani M., and Carpenedo F. The catecholamine-mediated positive inotropic effect of simple quinones is related to superoxide anion generation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **260**, 468 (1992).
- 10) Floreani M., Santi-Soncin E., and Carpenedo F.

- Effects of 2-methyl-1,4-naphthoquinone (menadione) on myocardial contractility and cardiac sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **339**, 448 (1989).
- 11) Floreani M., and Carpenedo F. Metabolism of simple quinones in guinea pig and rat cardiac tissue. *Gen. Pharmacol.* **26**, 1757 (1995).
 - 12) Brandt U., Haase U., Schagger H., and von-Jagow. G. Significance of the "Rieske" iron-sulfur protein for formation and function of the ubiquinol oxidation pocket of mitochondrial cytochrome C reductase (bc1 complex). *J. Biol. Chem.* **266**, 19958 (1991).
 - 13) Iwanagi T., and Yamazaki I. One electron transfer reactions in biochemical systems III. One electron reduction of quinones by microsomal flavin enzymes. *Biochim. Biophys. Acta* **172**, 371 (1969).
 - 14) Iyanagi T., and Yamazaki I. One electron transfer reaction in biochemical system. V. Difference in the mechanism of quinone reduction by the NADH dehydrogenase and the NAD(P) H dehydrogenase (DT-diaphorase). *Biochim. Biophys. Acta* **216**, 282 (1970).
 - 15) Powis G., and Appel P. L. Relationship of the single-electron reduction potential of quinones to their reduction by flavoproteins. *Biochem. Pharmacol.* **29**, 2567 (1980).
 - 16) Powis G., Svingen B. A. and Appel P. L. Quinone-stimulated superoxide formation by subcellular fractions, isolated hepatocytes and other cells. *Mol. Pharmacol.* **20**, 387 (1981).
 - 17) Mason R. P. : *Free radical intermediates in the metabolism of toxic chemicals. in Free radicals in biology.* ed. by Pryor W. A. Vol5, Academic Press, New York, p. 181 (1982).
 - 18) Ernster L. Effect of superoxide dismutase on the autoxidation of various hydroquinones. A possible role of superoxide dismutase as a superoxide: semiquinone oxidoreductase. *Free Rad. Biol. Med.* **5**, 71 (1988).
 - 19) Buffinton. G., Ollinger K., Brunmark A., and Cadenas E. DT-diaphorase-catalysed reduction of 1,4-naphthoquinone derivatives and glutathionyl quinone conjugates. *Biochem. J.* **256**, 561 (1989).
 - 20) McCord, J.M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.* **312**, 159 (1985).
 - 21) Toshio O, Hiroshi H., and Yasumitsu Y. *In vivo* monitoring of norepinehrine and OH generation on myocardial ischemic injury by dialysis technique. *Am. J. Physiol.* **266**, H903 (1994).
 - 22) Frank L. S. and Massaro D. Protection from oxygen toxicity with endotoxin: role of endogenous antioxidant enzyme of the lung. *J. Clin. Invest.* **65**, 1104 (1980).
 - 23) Nilanjana M, Masazumi W., Daniel E., Richard M. E, Valerian E. K, Elena K., Vladimir T., Geraql A. C., and Dipak KD. Myocardial adaptation to ischemia by oxidative stress induced by endotoxin. *Am. J. Physiol.* **269**, C907 (1995).
 - 24) White C. W, Ghezzi P., dinarello C. A, Caldwell S. A, McMurtry U, and Repine J. E. Recombinant tumor necrosis factor/cachetin and interleukin-1 pretreatment decreases lung oxidized glutathione accumulation, lung injury and mortality in rats exposed to hyperoxia. *J. Clin. Invest.* **79**, 1868 (1987).
 - 25) John E. R. Oxidant-antioxidant balance: some observations from studies of ischemia-reperfusion in isolated perfused rat hearts. *Am. J. Med.* **91(suppl 3C)**, 45S (1991).
 - 26) Karmazyn M. Ischemic and reperfusion injury in the heart. Cellular mechanisms and pharmacological interventions. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **69**, 719 (1991).
 - 27) Corike T., Ineke V. H., Menno P. J., De Winther, Diels, V. D., and Horbach J. M. : Role of thiol homeostasis and adenine nucleotide metabolism in the protective effects of fructose in quinone-induced cytotoxicity in rat hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* **48**, 1683 (1994).
 - 28) Floreani M., and Carpenedo F. : Modifications of cardiac contractility by redox cycling alkylating and mixed redox cycling/alkylating quinones. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **256**, 243 (1991).