

Mice의 하지무부하가 심혈관계 기능에
미치는 영향

연세대학교 대학원

의 학 과

조 준 현

Mice의 하지무부하가 심혈관계 기능에
미치는 영향

지도 이 광 호 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2006년 12월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

조 준 현

조준현의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2006년 12월 일

감사의 글

항상 아낌없는 관심과 격려를 하시며 논문이 완성 될 수 있도록 이끌어 주신 이광호 교수님께 제일 먼저 감사드리고 싶습니다. 그리고 제가 실험 및 논문에 열중하는 동안 힘과 용기를 불어 넣어 주었던 마취통증의학과 교수님들, 의국의 동기, 후배들에게도 진심으로 감사드립니다.

또한 저를 마음속으로 응원해주는 사랑하는 가족들에게 감사의 인사를 드립니다.

저자 씀

차 례

표 및 그림 차례	ii
국문 요약	iii
제1장 서론	1
제2장 재료 및 방법	3
제3장 결과	6
제4장 고찰	10
제5장 결론	14
참고문헌	16
영문 요약	21

표 차 례

Table 1. Hemodynamic Changes Measured from Carotid Artery Occlusion · · · · · ·	7
--	---

그 립 차 례

Fig. 1. Pressure volume loops at baseline and during BCO in control and HLU mice. · · · · ·	8
--	---

Fig. 2. Contractile response in isolated cardiac myocytes from control and HLU mice. · · · · ·	9
---	---

국 문 요 약

Mice의 하지무부하가 심혈관계 기능에 미치는 영향

기립성불내성(Orthostatic intolerance)은 장기간의 침상안정 후, 무중력 상태에 노출 되었을 때 또는 고령의 환자들에게서 나타날 수 있는 심각한 문제이다. 이와 같은 저혈압에 대한 보상성 반응이 저하되어 있는 원인은 아직 명확히 규명되어 있지는 않지만 저혈량증, 자유신경계 이상, 그리고 혈관이나 심장기능의 변화들과 같은 여러 가지 요인들이 관여하는 것으로 알려져 있다. 본 연구의 목적은 mice의 하지무부하를 이용하여 장기간의 침상안정 상태와 유사한 생리학적 변화를 유발하여 압력반사에 대한 반응과 심근의 수축력을 평가함으로써 기립성불내성의 원인이 되는 심혈관계 기능의 변화를 알아보고자 하였다.

방법은 C57BL/6 mice(25 - 30g body wt, 8 - 10 wk old)를 이용하여 좌심실에 micromanometer-conductance catheter를 삽입하고 양측의 목동맥 폐색(carotid artery occlusion)으로 압력반사를 유도하여 심근 수축력을 측정하였으며, 심근세포를 분리하여 isoprotrenol 농도 변화에 따른 근육원섬유마디 수축(sarcomere shortening)과 일과성칼슘증가(calcium transient)를 측정하였다.

결과는 양측 목동맥 폐색으로 인한 수축력과 동맥압 반응은 하지무부하군에서 현저히 약화되어 있는 소견을 보였다. 양측 목동맥 폐색 후 수축기 혈압의 % 변화에서 대조군은 $31\% \pm 3$, 하지무부하 군에서는 $8\% \pm 4$ mmHg/ml을 나타냈으며, 후부하를 나타내는 Effective arterial elastance(Ea)는 대조군, 하지무부하에 군에서 각각 $32\% \pm 5$ vs $8\% \pm 3$ mmHg/ml, 수축력을 나타내는 end systolic ventricular elastance (slope of the ESPVR, Ees)는 $70\% \pm 11$ vs $10\% \pm 8$ mmHg/ml 증가 소견을 보였으나 하지무부하 군에서 모두 유의하게 약화되어 있었다. 양측 목동맥 폐색 후에 positive inotropic response를 나타내는 Ees, 즉 ESPVR

기울기의 증가를 보여주고 있으며, 하지무부하 군에서는 대조군과 비교하여 의미 있게 약화되어 있는 소견을 보였다.(Fig. 1)

분리된 심근세포의 수축력 실험에서 심근수축 작용제인 isoproterenol의 농도를 증가시키면서 근육원섬유마디 수축과 일과성칼슘증가를 동시에 측정하였다. 두 군 모두 isoproterenol 농도를 증가시킴에 따라 근육원섬유마디 수축은 증가하였으나 대조군에 비하여 하지무부하 군에서는 의미 있는 차이를 보였다.(Fig. 2) 그러나 일과성칼슘증가의 변화는 두 군 사이에 의미 있는 차이를 나타내지 않았다. (Fig.2)

결론적으로 전체적인 압력반사 반응에 영향을 미치는 심박수와 압력유지 인자들이 장기간의 침상안정 환자들에게 나타나는 기립성불내성과 연관이 있을 것으로 사료된다.

핵심 되는 말 : 기립성불내성, 심혈관계 기능, 압력반사, 침상안정, 하지무부하.

Mice의 하지무부하가 심혈관계 기능에 미치는 영향

<지도 이 광 호 교수>

연세대학교 대학원 의학과

조 준 현

제 1 장. 서 론

심근은 부하조건(loading condition)의 변화에 잘 적응한다. 만약 과도한 훈련으로 인한 생리적인 현상 또는 고혈압이나 심장관막증 같은 병적인 상태에서는 좌심실 비대가 유발되고 고혈압이 치료되면 좌심실 비대는 줄어들게 된다. 또한 6주와 12주의 침상안정 후에 좌심실 mass가 의미 있게 감소하고 위축이 오는 것을 볼 수 있는데 이것은 좌심실이 작업량에 민감하다는 것을 시사하며 감소된 심근 부하에 대한 생리적인 적응에 의한 것이다.¹⁾

자율신경계는 서 있는 동안 뇌혈류를 유지하기 위하여 심혈관계의 기능을 조절한다. 이들 기립성 스트레스(orthostatic stress)로 인한 뇌혈류 감소를 보상하기 위한 기전으로 심박출량을 유지하기 위하여 압력반사(baroreflex)에 의한 심박수 증가가 올 수 있고, 적당한 동맥압을 유지하기 위하여 전신혈관 저항의 증가가 초래된다. 또한 arginine vasopressin, ANG II 같은 혈중 혈관수축물질의 증가가 따라온다. 따라서 기립성 유발(orthostatic challenge)에 대한 반응으로 혈압을 유지

하기 위하여 신경성(neuronal) 그리고 체액성(humoral) 매개 혈관 수축이 일어난다.²⁾

오랜 기간 동안 침상안정에 노출되면 여러 가지 신체적인 변화가 일어난다. 이들 변화 중 실신(syncope)등을 보일수가 있는데 이것은 심혈관계의 탈조건화(cardiovascular deconditioning)가 발생하여 나타나는 증상으로 기립성불내성(orthostatic intolerance)이라고 한다. 이와 같은 현상은 무중력 상태에서 장기간 노출된 우주인에서도 흔히 나타나고 고령의 환자들에서도 발생하며 그 기전은 다양하여 주로 저혈량증, 자율신경계 실조증(autonomic dysfunction), 혈관 및 심장 변화 등이 알려져 있다.

쥐에서 하지무부하는 침상안정이나 무중력상태와 같은 효과를 가상(simulation)할 수 있으며^{3,4)} 장기침상 환자와 비슷하게 교감신경계의 둔화된 압력 반사를 유발하는 것으로 보고되고 있다.^{5,6)}

본 연구는 mice의 하지무부하를 이용하여 장기간의 침상안정 상태와 비슷한 생리학적 변화를 유발하여 압력반사에 대한 반응과 심근의 수축력을 평가함으로써 기립성불내성의 원인이 되는 심혈관계 기능의 변화를 알아보고자 하였다.

제 2 장. 재료 및 방법

생후 2-3개월 된 몸무게 25-30g, C57BL/6 mice를 이용하였다. 하지무부하 군은 실험하기 14-21일 전에 꼬리부위를 테이프로 감고 자유롭게 돌아가는 ball-bearing line에 뒷다리가 지면에서 35° 각도가 되도록 올린다음 앞다리만 지면에 닿도록 하였다.

심근수축력 반응 검사: Pressure-Volume Loops

실험동안 체온을 측정하였고, 45°C의 물이 순환되는 수술 테이블에 의해 체온은 37°C로 유지 시켰다. 마취는 morphine 80 µg/kg, urethane 200 µg/kg, 그리고 etomidate 120 µg/kg으로 시행하였고 기관지 절제술 후 sinusoidal solenoid valve를 이용하여 FiO₂ 1.0, 일회호흡량을 200 µl로 환기시켰다.

흉골하 개흉술을 시행 후 1.4 Fr micromanometer-conductance catheter(Millar Instruments, Houston, TX)를 역방향으로 좌심실에 삽입하였다. 카테테르의 끝은 대동맥 뿌리에 위치하도록 전진 시키고 근위부 전극은 좌심실 끝의 심내막벽 바로 안에 위치하도록 하였다. 알부민-식염수(1:4)를 30G 바늘을 통하여 우측 목정맥(jugular vein)으로 투여하였다. 유량탐색자(flow probe, model AT01RB, Transonics, Ithaca, NY)를 통하여 얻은 saline-wash-in technique 으로 기록된 신호의 보정(offset calibration)을 시행하였고 대동맥 혈류의 직접적인 측정으로 일회심박출량의 보정을 시행하였다. 압력, 용량, 그리고 유량에 대한 신호는 1 KHz에서 계수화 되어 디스크에 저장되고 상용 프로그램으로 분석하였다.

미세클립으로 양쪽 목동맥을 일시적으로 폐색하여 짐털기(unloading)를 함으로써 선택적 목동맥 압력수용체(baroreceptor)로부터 압력반사를 유도하였다. 양쪽 목동맥 폐색 15초 후에 동맥압과 심박수를 측정 하였으며 이와 같은 방법을 4-6회 반복 하였다. 심근수축력과 이완능력 값은 안정 상태와 하대정맥 폐색으로 하대정맥의 일시적 폐색으로 수축기말 압력-용적 관계(ESPVR)를 구하고, 전부하는 좌심실 확장기말 압력으로 지수화 하였다. 심장 후부하는 효과적 동맥탄성률(effective

arterial elastance, E_a , ratio of LV end-systolic pressure to stroke volume) 그리고 심장수축력은 ESPVR(E_{es})과 dP/dt EDV relationship(dP/dt -EDV)로 지수화하였다. 기초자료와 하대정맥 폐색 자료는 두 군에서 양측 목동맥 폐색 전, 후에 얻었다.

심근세포 실험

2 개월 된 mice의 심근세포를 이용하였으며, 생체내 실험에 사용된 mice는 시험관내 연구에서는 사용되지 않았다. 하지무부하 현수를 2주간 시행한 하지무부하 군과 대조군의 mice를 대상으로 심근세포를 분리하여 실험에 이용하였다. 심근세포 분리 방법은 심장을 적출한 후 관류장치에 현수하고 95% O_2 -5% CO_2 를 포화시킨 Ca^{2+} -free 완충액(buffer solution)[(in mmol/l) 120 NaCl, 5.4 KCl, 1.2 $MgSO_4$, 1.2 NaH_2PO_4 , 5.6 glucose, 20 $NaHCO_3$, 10 2,3-butanedione monoxime(Sigma), and 5 taurine(Sigma)]으로 관류시키고 collagenase type 2 (1 mg/ml; Worthington)와 protease type XIV (0.1 mg/ml; Sigma) 용액으로 통과시켜 심장이 부드러워지게 한 후 피펫으로 수차례 통과시켜 심근세포들 사이의 조직을 분리하였다. 200 μm nylon mesh로 심근세포를 걸러낸 후 여과와 원심분리를 하고 0.125 mmol/l Ca^{2+} -Tyrode[(in mmol/l) 144 NaCl, 1 $MgCl_2$, 10 HEPES, 5.6 glucose, and 5 KCl.]용액으로 resuspension 시키고 NaOH를 이용하여 pH를 7.4로 조정하였다. 얻어진 심근세포는 0.25, 0.5 mmol/l Ca^{2+} -Tyrode 용액에서 resuspension 후 tyrode 용액(0.5 mmol/l probenecid and 1.8 mmol/l Ca^{2+})에 보관하였다.

심근세포는 5 mol/l fura 2-AM (Molecular Probes, Eugene, OR) 용액에서 배양(incubation) 되고 도립 현미경(model TE 200, Nikon)의 Lucite chamber에 심근세포에 고정하고 지속적으로 Tyrode(1.8 mmol/l Ca^{2+} and 0.5 mmol/l probenecid) 용액으로 관류시켰다. 근육원섬유마디 길이(sarcomere length, SL)는 IonOptix iCCD camera(model iCCD, IonOptix)로 xenon lamp에서 근육원섬유마디 길이 변화의 평균값을 구한 후 (diastolic SL-systolic SL)/diastolic SL에 의하여 근육원섬유마디 수축(sarcomere shortening)을 구하였다. 일과성칼슘증가

(calcium transients)는 Ca^{2+} sensitive dye인 Fura-2 dual-excitation spectrofluorometer(IonOptix)를 이용하여 365와 380 nm의 파장을 교대로 조사하여 측정하였다. 이들 실험은 모두 대기압 하에서 isoproterenol 용량을 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 그리고 10^{-6} 으로 증가시키면서 진행되었다.

통계처리는 SAS institute사의 Stat View를 이용하였으며, 모든 자료는 평균 \pm 표준오차(SE)로 표시하였고 통계학적 검정은 ANOVA를 이용하였다. 통계학적으로 $P < 0.05$ 인 경우에 유의한 것으로 간주하였다.

제 3 장. 결 과

심박수와 동맥압은 두 군 사이에 유의한 차이를 보였다.(Table 1) 압력반사 촉진에 의한 동맥압과 심박수 변화를 측정하기 위하여 양측 목동맥 폐색을 시행한 결과 두 군 모두 동맥압과 심박수 증가가 있었으나 대조군과 비교하여 하지무부하 군에서는 현저히 약화되었다.

양측 목동맥 폐색으로 인한 수축력과 동맥압 반응은 하지무부하 군에서 현저히 약화되어 있는 소견을 보였다. 양측 목동맥 폐색 후 수축기 혈압의 % 변화에서 대조군은 $31\% \pm 3$, 하지무부하 군에서는 $8\% \pm 4$ mmHg/ml를 나타냈으며, 후부하를 나타내는 Effective arterial elastance(Ea)는 대조군, 하지무부하 군에서 각각 $32\% \pm 5$ vs $8\% \pm 3$ mmHg/ml, 수축력을 나타내는 end systolic ventricular elastance (slope of the ESPVR, Ees)는 $70\% \pm 11$ vs $10\% \pm 8$ mmHg/ml 증가 소견을 보였으나 하지무부하 군에서 모두 유의하게 약화되어 있었다. 양측 목동맥 폐색 후에 positive inotropic response를 나타내는 Ees, 즉 ESPVR 기울기의 증가를 보여주고 있으며, 하지무부하 군에서는 대조군과 비교하여 의미 있게 약화되어 있는 소견을 보였다.(Fig. 1)

분리된 심근세포의 수축력 실험에서 심근수축 작용제인 isoproterenol의 농도를 증가시키면서 근육원섬유마디 수축과 일과성칼슘증가를 동시에 측정하였다. 두군 모두 isoproterenol 농도를 증가시킴에 따라 근육원섬유마디 수축은 증가하였으나 대조군과 비교하여 하지무부하 군에서는 유의한 차이를 보였다.(Fig. 2) 그러나 일과성칼슘증가의 증가는 두 군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다.(Fig.2) 이것은 하지무부하 군에서 칼슘에 대한 민감도에 변화가 있거나 심근위축으로 인한 수축력이 감소한 결과로 예측할 수 있다.

Table1. Hemodynamic Changes Measured from Carotid Artery Occlusion

	Control	HLU
Baseline		
Heart rate(bpm)	654 ± 5	582 ± 11*
Systolic blood pressure (mmHg)	123 ± 2	108 ± 5*
Preload		
EDP(mmHg)	6 ± 2	5 ± 1
EDV($\mu\ell$)	22 ± 1	23 ± 1
Contractility		
Dp/dt(mmHg/s)	14,342 ± 674	10,967 ± 423*
% change after BCO stimulus		
Systolic blood pressure (mmHg)	31 ± 3	8 ± 4*
Afterload, Ea(mmHg/ml)	32 ± 5	8 ± 3*
Contractility, Ees(mmHg/ml)	70 ± 11	10 ± 8*

HLU: hind-limb unweighing, BCO: bilateral carotid occlusion, EDP: end diastolic pressure, EDV: end diastolic volume, * : P < 0.05

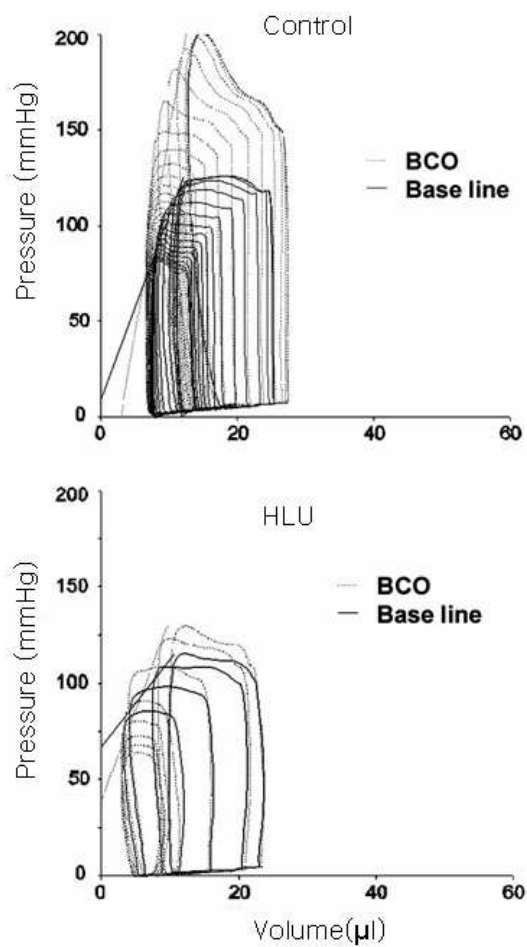


Fig. 1. Pressure volume loops at baseline and during BCO in control and HLU mice. Transient BCO results in a marked pressor response as well as a significant increase in the slope of ESPVR, Ees. This responses were markedly attenuated in the HLU mice.

BCO: bilateral carotid occlusion, HLU: hind-limb unweighing, ESPVR: end systolic pressure volume relationship.

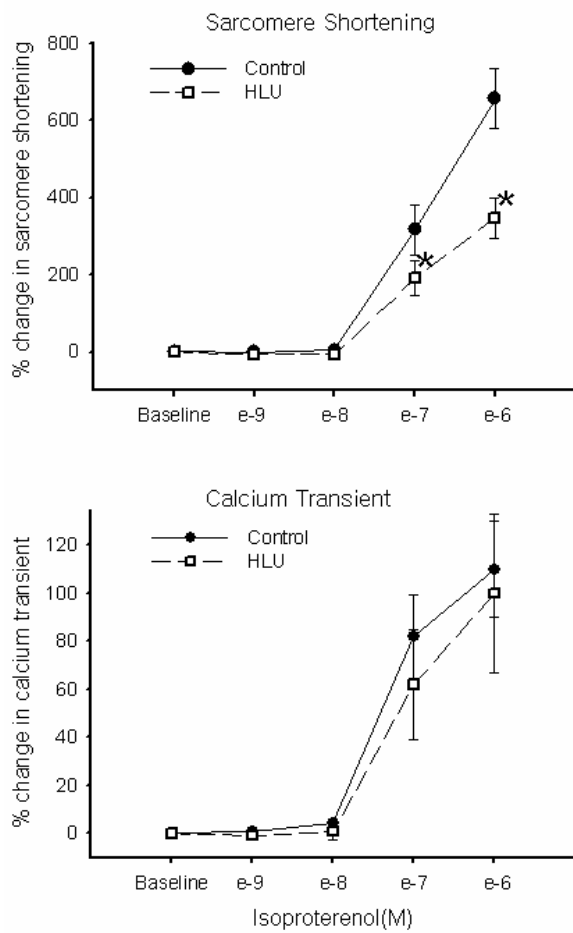


Fig. 2. Contractile response in isolated cardiac myocytes from control and HLU mice. Isoproterenol results in dose dependent increase in sarcomere shortening and intracellular calcium concentration in myocyte. The contractile response to isoproterenol was significantly attenuated in HLU mice. There was no significant change in the measured % change in calcium transients. Values are means \pm SE. *: $P < 0.05$ vs. Control.

제 4 장. 고 찰

이 연구의 중요한 결과는 심근 수축력이 양측 목동맥 폐색에 반응하여 촉진되고 이러한 효과는 하지무부하에 의하여 현저히 감소된다는 것이다. 그동안 침상안정이나 무중력 상태에서 기립성불내성에 영향을 줄 수 있는 여러 가지 요소에 대한 연구가 이루어져 왔으며, 주로 혈액량 감소,⁷⁾ 심근위축(cardiac atrophy),⁸⁾ 그리고 정맥 유순도(venous compliance)의 증가로 인한 말초 혈액의 저류(peripheral blood pooling)등에⁹⁾ 대한 연구가 이루어졌다.

쥐의 무중력 모델인 하지무부하 연구에서 혈관계의 변화를 관찰할 수 있는 바,^{10,11)} type II B fiber로 이루어진 골격근에서 혈류는 대조군보다 하지무부하 군에서 더 높은 것을 보여주고 있다. 이것은 type II 골격근 혈관계가 norepinephrine의 반응에 증가되는 혈관저항 능력이 감소한 결과라고 하였다. 하지무부하골격근 세동맥의 수축반응도 감소한다. 이와 같은 혈관의 반응은 자연 긴장의 감소, 혈관수축 촉진제에 대한 감수성 감소, 근육의 반응 감소에 의하여 나타난다.¹²⁾ Delp는¹²⁾ 하지무부하가 세동맥 근육 자가조절과 수축력 반응을 감소시키며, 무중력에 노출된 후에 혈관저항을 증가시키는 능력이 떨어지는 것은 이런 혈관의 변화와 연관이 있다고 하였다. 또한 하지무부하 쥐에서 흉부와 복부 대동맥의 혈관수축반응을 조사한 결과 norepinephrine에 의하여 최대 수축력이 유발되었으며 수용체 의존형이거나, 아니거나 서로 다른 기전을 통하여 작용하는 다른 혈관수축 유발물질들이 하지무부하에 의하여 감소 되어있다고 하였다. 낮아진 혈관수축 반응은 혈관저항을 증가시키는 능력을 감소시키고 이러한 혈관저항에 대한 조절능력이 감소하면 동맥압과 근육혈류량의 조절능력이 감소하게 되어 하지무부하시 기립부하검사에 노출되었을 때 저혈압을 경험하게 된다고 하며, 기립시 피부와 근육이 전체 말초저항의 40%를 담당하기 때문에 혈관저항 조절능력이 감소되면 기립성불내성 유발에 영향을 미칠 수 있다.¹³⁾

기립성불내성에서 하지의 정맥용량(venous capacitance)의 역할에 대해서는 아직 논란의 여지가 많다. Grenon 등은¹⁴⁾ 하지의 유순도는 기립성 스트레스의 내성

과 관계가 있다고 하였고, 최근에 Stewart 등은¹⁵⁾ 기립성불내성에 대한 다리의 정맥계통의 역할이 부족하다고 하였다. Pavy 등은¹⁶⁾ 침상안정 동안 다리의 유순도와 침상안정 후에 측정된 높은 다리 유순도가 기립성불내성과 연관이 있다고 보고하였으나 침상안정 전의 다리의 유순도 효과는 보고하지 않았다. 따라서 기립성불내성에 정맥의 유순도의 역할은 논쟁의 여지가 있다.

자율신경계 또한 심박수, 혈압 그리고 다른 혈류역학적 요소들의 조절에 중요한 역할을 하여 기립성불내성의 발생과 관련이 많은 것으로 보고되고 있다.¹⁷⁾ Xiao 등은¹⁸⁾ 가상된 무중력 상태에 노출되었을 때 자율신경계 조절능력을 심각하게 변화시켜 기립성불내성 발생을 증가시킨다는 가설 하에 심박수에 대한 교감신경과 부교감신경 기능을 정량적으로 평가하여 교감신경과 부교감신경 반응이 침상안정에 의하여 장애를 받았으며 떨어진 감수성으로 인하여 침상안정 후에 기립성불내성의 위험이 증가한다고 하였다.

그러나 이들 방법들은 제한점이 있는데 자율신경의 변화보다는 호흡과 같이 다른 요소에 의하여 영향을 받을 수 있고 교감신경과 부교감신경의 역할을 분리하여 정확히 측정하기가 어렵다.¹⁹⁾ 하지무부하에 의해 압력반사 유도성 교감신경 활성화가 감소하기는 하지만 동맥압력반사(arterial baroreflex response)는 기립성스트레스 반응에 있어 중요한 보상 기전이다. 증가된 순환 바소프레신도 하지무부하로 감소된 교감신경 유도성 압력반사 조절을 보상한다.²⁰⁻²¹⁾ 이와 같이 무중력상태나 침상안정에 노출된 후 나타나는 기립성불내성의 빈도는 남성과 비교하여 여성에서 더 흔히 발생하는 것을 볼 수 있다. 이것은 여성에서 압력 반사성 교감신경 예비력이 감소되어 있기 때문으로 감소된 동맥 압력반사 보상이 기립성불내성에 큰 역할을 하는 것으로 보인다.

심장기능의 변화도 무중력상태에서의 기립성불내성을 유발하는데 중요한 요소가 될 수 있고, 실제 또는 가상된 무중력 상태에서 심장구조의 의미 있는 차이들을 나타내고 있다. Levine 등의⁸⁾ 보고에 의하면 침상안정으로 17%의 혈장량 감소와 폐동맥쇄기압 18%, 일회심박출량 12%, 좌심실 확장기말용적 16% 감소를 보이고 압력용적 커브의 평행한 좌측 이동으로 인하여 SV/PCWP curve의 기울기가 증가한다고 하였다. 또한 cardiac mass도 5% 감소하였다고 하였다. 따라서 이러한

가파른 스타링 관계가(starling relationship) 기립동안 과도한 일회심박출량 감소에 의하여 기립성불내성을 유발하는데 큰 역할을 한다고 하였다.

Spaak 등은²²⁾ 장기간의 침상안정 후 심박출량 일회심박출량, 평균동맥압, 심박수 등을 조사하여 심박출량과 일회심박출량이 의미 있게 감소되어 있었으며 장기간의 head down tilt가 급격한 전부하 감소로 인한 일회심박출량 감소를 유발한다고 하였다. 또한 장기간의 침상안정한 사람에서 좌심실 벽 두께나 심실 mass 감소는 심장초음파 결과와 일치하는데 Arbeille 등은²³⁾ 6주간 침상안정한 사람에서 좌심실 벽 두께가 의미 있게 감소되어 있다고 하며, 2주의 침상안정 후 촬영한 MRI에서 심실 mass의 의미 있는 감소를 보고하기도 하고,⁸⁾ 14일 동안 우주선에 탑승한 쥐에서 좌심실꼭지근(papillary muscle) 평균 단면적의 20%가 감소되었다.²⁴⁾ 따라서 하지무부하 쥐에서 나타나는 좌심실 mass의 감소는 우주비행사의 심장초음파검사 결과와 하지무부하 쥐의 심장무게와 연관성이 있다. Ludwig 등은²⁵⁾ 기립성불내성에 취약한 사람들에서 일회심박출량이 감소하는데 영향이 있는 요소들이 반사반응보다 더 중요하다고 하며, 부하조건의 변화로 인하여 생리학적 심장 위축으로 좌심실 크기와 신전성의 감소가 발생한다.

우주인에서 압력수용체 활성화에 대한 심박수 반응이 감소함을 보여 주는 보고가 있으며 120일 동안 장기간의 침상안정한 사람에서도 비슷한 소견을 나타내고 있다.^{26,27)} 심박수에 대한 우리의 결과는 무중력에 노출된 우주인이나 장기간의 침상안정을 한 환자들의 소견과 일치한다. Koenig 등은²⁸⁾ 4일 동안 head-down tilt한 원숭이에서 심박출량 감소와 평균동맥압 감소를 보고하였다. 우주인, 장기간 침상안정 환자 그리고 무중력의 동물모델 들에서 15-18%의 혈장량 감소가 있으며 이것이 기립성불내성에 큰 역할을 담당할 수 있다고 하였으나,²⁹⁾ 혈량저하증만이 사람이나 무중력 동물모델에서 관찰되는 혈류역학 변화에 큰 역할을 하는 것 같지는 않다. 순환 혈류량 단독으로 압력반사 촉진과 함께 평균동맥압 감소에 기여한다면 심박수 증가가 따라올 것이다. 즉 혈량저하증은 압력반사 민감도와 심폐 압력반사 증가를 초래하게 된다.³⁰⁾ 따라서 하지무부하 후에 감소된 심박수 반응은 일차적으로 그것이 자율신경 조화나 종말기관 반응감소에 의한 것이든 압력반사 조절이상에 의한 것이다.

본 연구에서는 등용적성시기(isovolumic phase, peak dp/dt)와 분출기말(Ees)로 나타나는 심근의 수축력을 측정한 결과 하지무부하 쥐에서 압력반사 자극으로 인한 좌심실 수축이 감소된 것으로 나타났다. 이들 결과는 전부하와 후부하 비의존성 지표인 분출기말로 심근 수축력 감소를 확인하였기 때문에 이들 단독으로 압력반사의 감소에 관여하지는 않는다. 또한 심근세포를 통해 실험에서 아드레날린 수용체 활성화에 대한 수축력 반사도 감소되었다. 세포내 칼슘의 변화 없이 근육원섬유마디 수축이 억제된 것은 칼슘순환성(calcium cycling)의 조절곤란 뿐만 아니라 수축력 민감도의 변화나 수축력 자체에 변화를 주는 기전이 있을 수 있다.

본 연구의 제한점은 양측 목동맥 결찰에 의하여 다른 영향을 미칠 수 있는 가능성이 있다는 것이다. 양측 목동맥 결찰로 대뇌허혈이 유발되고 목동맥 팽대(carotid sinus)와 대뇌의 화학수용체가 낮은 산소분압에 노출되어 화학수용체 매개 압력반사 반응이 일어나는 것이다. 이것이 심박수와 동맥압에 대한 압력반사 반응을 변화 시키는 것과 같이 영향을 미칠 수가 있다. Yang 등은³¹⁾ C57BL/6 mice가 다른 종(strains)과 비교하여 완전대뇌허혈에 대해 더욱 취약하다고 하였다. 그러나 이들 mice종은 불가역적 신경세포 손상을 일으키는데 15분의 양측 목동맥 결찰이 필요하다고 하며 본 실험에서는 압력반사 반응을 보일 때까지 100% 산소를 투여하여 화학수용체 반응의 가능성을 배제하였다.

결론적으로 압력반사 촉진 시술인 양측 목동맥 폐색을 이용하여 동맥압, 심박수, 수축력 등 압력반사 반응을 측정하였다. 이런 자극은 목동맥 압력수용체를 활성화시키고 이것은 심박수, 평균동맥압, 심근 수축력에 큰 영향을 미치게 된다. 이들 3가지 요소는 하지무부하 쥐에서 뚜렷이 감소되었다. 하지무부하 군에서는 낮은 수축력 상태를 보였고, 심박수, 혈압, 그리고 목동맥 폐색에 따른 심근 수축력 반응도 감소하였다. 따라서 전체적인 압력반사 반응에 영향을 미치는 심박동수와 압력유지 인자들이 장기간의 침상안정 환자들에게 나타나는 기립성불내성과 연관이 있을 것으로 사료된다.

제 5 장. 결 론

기립성불내성을 유발할 수 있는 장기간의 침상안정과 유사한 생리학적 현상을 나타내는 mice의 하지무부하를 이용하여 압력반사 촉진 기술인 양측 목동맥 폐색을 이용하여 동맥압, 심박수, 수축력 등 압력반사 반응을 측정하였고, 분리된 심근세포를 이용한 isoproterenol 용량에 따른 근육섬유마디 수축과 일과성칼슘증가를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 양측 목동맥 폐색으로 인한 수축력과 동맥압 반응은 하지무부하 군에서 현저히 약화되어 있는 소견을 보였다.
2. 양측 목동맥 폐색 후 수축기 혈압의 % 변화에서 대조군은 $31\% \pm 3$, 하지무부하 군에서는 $8\% \pm 4$ mmHg/ml을 나타냈으며, 후부하를 나타내는 Effective arterial elastance(Ea)는 대조군, 하지무부하 군에서 각각 $32\% \pm 5$ vs $8\% \pm 3$ mmHg/ml, 수축력을 나타내는 end systolic ventricular elastance (slope of the ESPVR, Ees)는 $70\% \pm 11$ vs $10\% \pm 8$ mmHg/ml 증가 소견을 보였으나 하지무부하 군에서 모두 유의하게 약화되어 있었다.
3. 양측 목동맥 폐색 후에 positive inotropic response를 나타내는 Ees, 즉 ESPVR 기울기의 증가를 보여주고 있으며, 하지무부하 군에서는 대조군과 비교하여 의미 있게 약화되어 있는 소견을 보였다.(Fig. 1)
4. 분리된 심근세포의 수축력 실험에서 심근수축 작용제인 isoproterenol의 농도를 증가시키면서 근육원섬유마디 수축과 일과성칼슘증가를 동시에 측정하였다. 두군 모두 isoproterenol 농도를 증가시킴에 따라 근육원섬유마디 수축은 증가하였으나 두 군 사이에 유의한 차이를 보였다.(Fig. 2) 그러나 일과성칼슘증가의 변화는 두 군 간에 의미 있는 차이를 나타내지 않았다.(Fig. 2) 이것은 하지무부하 군에서 칼슘에 대한 민감도에 변화가 있거나 심근위축으로 인한 수축력이 감소한 결과로 예측할 수 있다.

따라서 전체적인 압력반사 반응에 영향을 미치는 심박동수와 압력유지 인자들이 장기간의 침상안정 환자들에게 나타나는 기립성불내성과 연관이 있을 것으로

사료된다.

참 고 문 헌

1. Perhonen MA, Franco F, Lane LD, Buckey JC, Blomqvist CG, Zerwekh JE, et al: Cardiac atrophy after bed rest and spaceflight. *J Appl Physiol* 2001; 91: 645-53.
2. Rowell LB: Neural-humoral adjustments to orthostasis and long-term control. In: human cardiovascular control. New York, Oxford University Press. 1993, pp. 81-117.
3. Hasser EM, Moffitt JA: Regulation of sympathetic nervous system function after cardiovascular deconditioning. *Ann NY Acad Sci* 2001; 940: 454-68.
4. Morey-Holton ER, Globus RK: Hindlimb unloading rodent model: technical aspects. *J Appl Physiol* 2002; 92: 1367-77.
5. Foley CM, Mueller PJ, Hasser EM, Heesch CM: Hindlimb unloading and female gender attenuate baroreflex-mediated sympathoexcitation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 289: R1440-7.
6. Moffitt JA, Foley CM, Schadt JC, Laughlin MH, Hasser EM: Attenuated baroreflex control of sympathetic nerve activity after cardiovascular deconditioning in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1998; 274: R1397-405.
7. Hao WY, Bai J, Wu XY, Zhang LF: Simulation study of the effects of hypovolaemia on cardiovascular response to orthostatic stress. *Med Biol*

- Eng Comput. 2003; 41: 44-51.
8. Levine BD, Zuckerman JH, Pawelczyk JA: Cardiac atrophy after bed-rest deconditioning: a nonneural mechanism for orthostatic intolerance. *Circulation* 1997; 96: 517-25.
 9. Convertino VA, Doerr DF, Stein SL: Changes in size and compliance of the calf after 30 days of simulated microgravity. *J Appl Physiol* 1989; 66: 1509-12.
 10. Desplanches D, Mayet MH, Sempore B, Frutoso J, Flandrois R: Effect of spontaneous recovery or retraining after hindlimb suspension on aerobic capacity. *J App Physiol* 1987; 63: 1739-43.
 11. McDonald, Delp MD, Fitts RH: Effects of hindlimb unweighting on tissue blood flow in the rat. *J Appl Physiol* 1992; 72: 2210-8.
 12. Delp MD: Myogenic and vasoconstrictor responsiveness of skeletal muscle arterioles is diminished by hindlimb unloading. *J Appl Physiol* 1999; 86: 1178-84.
 13. Martel EP, Lacolley CP, Richard S, Safar M, Cuche JL: Central hypervolemia in the conscious rat: a model of cardiovascular deconditioning. *J Appl Physiol* 1996; 80: 1390-6.
 14. Grenon SM, Hurwitz S, Sheynberg N, Xiao X, Ramsdell CD, Mai CL, et al: Role of individual predisposition in orthostatic intolerance before and after simulated microgravity. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1714-22.

15. Stewart JM: Pooling in chronic orthostatic intolerance: Arterial vasoconstrictive but not venous compliance defects. *Circulation* 2002; 105: 2274-81.
16. Pavy-Le Traon A, Louisy F, Vasseur-Clausen P, Guell A, Gharib C: Contributory factors to orthostatic intolerance after simulated weightlessness. *Clin Physiol* 1999; 19: 360-8.
17. Cuyton AC, Hall JE: *Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia, Saunders. 1994. pp 237-42.
18. Xiao X, Mukkamala R, Sheynberg N, Grenon SM, Ehrman MD, Mullen TJ, et al: Effects of simulated microgravity on closed-loop cardiovascular regulation and orthostatic intolerance: analysis by means of system identification. *J Appl Physiol* 2004; 96: 489-97.
19. Malik M, Bigger JT, Camm AJ, Kleiger RE, Malliani A, Moss AJ, et al: Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation* 1996; 93: 1043-65.
20. Convertino VA, Doerr DF, Eckberg DL, Fritsch JM, and Vernikos-Danellis J: Head-down bed rest impairs vagal baroreflex responses and provokes orthostatic hypotension. *J Appl Physiol* 1990; 68: 1458-64.
21. Shoemaker JK, Hogeman CS, and Sinoway LI: Contributions of MSNA and stroke volume to orthostatic intolerance following bed rest. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1999; 277: R1084-90.

22. Spaak J, Montmerle S, Sundblad P, Linnarsson D: Long-term bed rest-induced reductions in stroke volume during rest and exercise: cardiac dysfunction vs. volume depletion. *J Appl Physiol* 2005; 98: 648-54.

23. Arbeille P, Pavy le Traon A, Vasseur P, Guell A: Peripheral hemodynamic assessment during LBNP for the evaluation of the vascular deconditioning induced by a long term HDT. *Physiologist* 1992; 35: Suppl S202-3.

24. Goldstein MA, Cheng J, Schroeter JP: The effects of increased gravity and microgravity on cardiac morphology. *Aviat Space Environ Med* 1998; 69: A12-6.

25. Ludwig DA, Convertino VA: Predicting orthostatic intolerance: physics or physiology? *Aviat Space Environ Med* 1994; 65: 404-11.

26. Fritsch-Yelle JM, Charles JB, Jones MM, Beightol LA, Eckberg DL: Spaceflight alters autonomic regulation of arterial pressure in humans. *J Appl Physiol* 1994; 77: 1776-83.

27. Kamiya A, Iwase S, Kitazawa H, Mano T, Vinogradova OL, Kharchenko IB: Baroreflex control of muscle sympathetic nerve activity after 120 days of 6 degrees head-down bed rest. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 278: R445-52.

28. Koenig SC, Convertino VA, Fanton JW, Reister CA, Gaffney FA, Ludwig DA, et al: Evidence for increased cardiac compliance during exposure to simulated microgravity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1998; 275: R1343-52.

29. Eckberg DL and Fritsch JM: Human autonomic responses to actual and simulated weightlessness. *J Clin Pharmacol* 1991; 31: 951-5.
30. Convertino VA and Baumgartner N: Effects of hypovolemia on aortic baroreflex control of heart rate in humans. *Aviat Space Environ Med* 1997; 68: 838-43.
31. Yang G, Kitagawa K, Matsushita K, Mabuchi T, Yagita Y, Yanagihara T, et al: C57BL/6 strain is most susceptible to cerebral ischemia following bilateral common carotid occlusion among seven mouse strains: Selective neuronal death in the murine transient forebrain ischemia. *Brain Res* 1997; 752: 209-18.

=ABSTRACT=

Cardiovascular Effects of Hind-limb Unweighing in Mice

Cho, Jun Hyun
Dept. of Medicine
The Graduate School
Yonsei University

Introduction: Orthostatic intolerance is a debilitating problem following prolonged bed-rest, exposure to microgravity, and in the elderly. Although the mechanism underlying the impaired response to a hypotensive stimulus remain poorly understood, there are likely multifactorial and may include hypovolemia, autonomic dysfunction, and vascular and cardiac alterations. We examined the integrated cardiovascular response to baroreceptor activation in hind-limb unweighing mouse model of microgravity to test the hypothesis that both pressor and contractility response are attenuated in hind-limb unweighing mice.

Methods: C57BL/6 mice(25 - 30g body wt, 8 - 10 wk old) were used in this experiment. Myocardial contractile response to bilateral carotid artery occlusion were measured with a left ventricular micromanometer-conductance catheter.

We performed bilateral carotid artery occlusion, and open-loop baroreceptor stimulus, in mice exposed to hind-limb unweighing for 2 Weeks. In isolated

myocyte studies, simultaneous sarcomere shortening and calcium transient were measure in isolated myocytes in response to increasing concentrations of the β -agonist isoproterenol.

Results: In controls, bilateral carotid artery occlusion increased heart rate and mean arterial pressure. These response were markedly attenuated in hind-limb unweighing mice. Bilateral carotid artery occlusion increased the slope of the end-systolic pressure volume relation(Ees) by 70 ± 11 mmHg/ml and this inotropic response was markedly attenuated to 10 ± 8 mmHg/ml in hind-limb unweighing. Isoproterenol increased sarcomere shortening in a dose-dependent manner in control and hind-limb unweighing mice. However the contractile response to isoproterenol was significantly attenuated in the hind-limb unweighing mice.

Conclusions: Both pressor and contractility responses appear to be impaired in a model of microgravity. The chronotropic, inotropic, and pressor contributions to the overall baroreflex response and decreased myofilament Ca^{2+} sensitivity can have further crucial implications in providing countermeasures for orthostatic intolerance in prolonged bed-rest patients.

Key Words: baroreflex, hind-limb unweighing, microgravity, orthostatic intolerance.