

마취영역에서의 아포토시스(Apoptosis)

아주대학교 의과대학 마취과학교실

문 봉 기

= Abstract =

Anesthesiology and Apoptosis

Bong-Ki Moon, M.D.

Departments of Anesthesiology, College of Medicine, Ajou University, Suwon, Korea

Necrosis is, in general, an unnatural cell death that rapidly occurs in response to severe insults such as poisons, anoxia, infections and trauma. Apoptosis or programmed cell death, unlike necrosis, is a physiological cell death that causes cell deletion without inflammation, release of cellular contents. In apoptosis, individual cells separate from their neighbors and begin a characteristic sequence of structural and biological changes. These changes include cell shrinkage, condensation of chromatin, DNA degradation, activation of caspase cascade. Finally, the cell itself fragments to form apoptotic bodies that engulfed by nearby phagocytes. Apoptosis is distinguished from necrosis in that gene activation is a prominent mechanism regulating cell survival. It is an essential physiological process that plays a critical role in development and tissue homeostasis and cell population control. However, apoptosis plays an important role in the pathogenesis of a number of disease. In the anesthesiology, apoptosis may contribute to major organ damage associated with ischemic/reperfusion injury, it has long been considered to represent necrosis. Apoptosis remains the important clinical consequence of ischemic/reperfusion injury. Free radicals, tumor necrosis factor- α (TNF- α), protein kinase c (PKC), caspases, P53, bcl-2 family and calcium have been suggested and frequently cited as important mediators for apoptosis.

In this review, I will describe the known mediators and mechanism underlying apoptosis in major organ exposed to ischemic/reperfusion injury, because the usefulness and effectiveness of any therapeutic interventions for cell deaths after ischemic/reperfusion injury depends on a clear understanding of mechanism of apoptosis. (Korean J Anesthesiol 2002; 42: 563~574)

Key Words: Cells: necrosis, apoptosis. Hypoxia: ischemic/reperfusion injury.

서 론

최근들어 임상이나 기초연구에서 가장 각광받는

분야는 세포죽음의 일종인 아포토시스(apoptosis)라고 할 수 있다. 아포토시스가 처음으로 언급된 것은 1972년 Kerr에¹⁾ 의해서 인데 오래 동안 주목을 받지 못했다. 그러나 최근 세포 분자생물학의 눈부신 발전과 이에 따른 기제 및 기구의 발달은 아포토시스에 대한 많은 정보를 주게되었다. 아포토시스는 세포증식의 반대개념으로 세포가 과도하게 많거나, 불필요하거나, 손상을 입어 회복이 불가능한 경우에 세포를 제거하는 과정으로 생명체의 세포의 수를 일

논문접수일 : 2002년 3월 11일
책임 저자 : 문봉기, 경기도 수원시 팔달구 원천동 산 5
아주대학교 의과대학 마취과학교실
우편번호: 442-721
Tel: 031-219-6437, 5689 Fax: 031-219-5579
E-mail: mbk@madang.ajou.ac.kr

정하게 조절함으로써 생명을 유지하는데 중요한 역할을 한다.²⁾

아포토시스를 간단히 정의하면 세포가 스스로 자살하는 것이다. 이것은 생물체가 살아가는 과정에서 정상적으로 필요한 세포제거 과정이라 할 수 있겠다. 세포는 증식 분화라는 과정을 가지게 되며 이 과정에서 어느 것은 소멸되기도 하고 또 새로운 세포가 생기기도 한다. 생명체는 이러한 생성과 소멸이란 과정을 통해서 일정한 세포 수를 유지하여 생명을 유지하게 되는 것이다.

모든 세포는 이미 태어나면서부터 자기의 수명을 갖게 되는데 그것은 유전자에 의해서 결정된다. 즉 세포는 생성되면서 이미 자기의 수명을 조절하는 유전자를 가지게 되고 유전자의 결정에 따라서 자연히 소멸되게 되어 있어서 계획된 죽음에 이르는데 이런 이유로 해서 아포토시스를 “programed cell death”라고도 한다.^{2,3)} 이러한 생명을 유지하는데 필요한 세포의 죽음과정에 이상이 생길 경우 많은 질병이 발생하게 된다. 즉 아포토시스가 되어 사멸되어야 할 세포가 아포토시스가 되지 않을 경우는 세포가 변형적으로 증식되어 암을 유발하기도 하고^{4,5)} 또 반대로 알츠하이머 같은 질환은 대뇌피질 세포가 비정상적으로 과다하게 아포토시스가 일어나서 생긴 질환이라 할 수 있겠다.^{6,7)} 이처럼 아포토시스는 정상적으로 일어 날 경우는 생명을 유지하기 위한 필요한 과정이 되지만 이상이 생길 경우는 병리학적 변이를 초래하게 되어 많은 질환을 일으키게된다. 이런 이유로 아포토시스의 작용기전과 여기에 관련된 여러 가지 요소를 밝히는 것은 질병의 치료와 예방에 중요하다. 현재 전세계적으로 아포토시스에 대한 많은 기초 및 임상연구가 진행되고있고 괄목할 성과들이 보고되고 있다.⁸⁻¹⁰⁾

이러한 특징 이외에 외부적인 자극에 의해서 세포가 손상을 받는 경우에도 다양하고 복잡한 과정을 통해서 아포토시스가 일어나게 되는데 이것은 마취과영역과 매우 밀접한 관계가 있는 부분이라 할 수 있다. 저산소증, 뇌허혈, 심허혈, 허혈/재관류 손상 후에는 많은 세포가 죽어서 기관의 장애를 초래하게 되어 심각한 장애를 주거나 생명이 위협받게 되는데 지금까지 이러한 세포의 죽음은 주로 세포파열(necrosis)로만 알고 있었다.¹¹⁻¹³⁾ 그러나 최근의 보고에 의하면 이러한 손상을 받은 세포는 세포파열 뿐만

아니라 아포토시스 과정을 통해서도 세포가 제거되어 결국은 기관의 손상을 초래한다는 것이다.¹⁴⁻¹⁷⁾ 이러한 사실은 지금까지 세포파열에만 국한해서 치료하고 예방했던 여러 가지 치료법과 예방법들에 대해 새로운 개념들이 필요하다는 것을 의미하며 아포토시스를 방지하고 치료할 수 있는 방법도 추가되어야 한다는 것을 뜻하게 된다.

마취와 수술 중에는 아포토시스를 유발할 수 있는 많은 요인들이 생길 수 있다. 저산소증, 저혈압, 허혈, 허혈/재관류에 노출된 경우에도 아포토시스가 일어나며, 장기간 흡입마취제에 노출 경우도 혈액세포에서 아포토시스가 생긴다고 한다.¹⁸⁾ 그리고 마취와 수술 중에 일어나는 신진대사와 약리반응 그리고 물리적이고 생리적인 여러 반응들이 아포토시스에 영향을 미칠 수 있으리라 생각된다. 이처럼 아포토시스에 관련 된 많은 부분들이 마취과영역과 관계가 되고있으나 아직 마취과영역에서의 아포토시스에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 이에 앞으로 마취과영역에서도 아포토시스에 대한 폭넓은 이해와 지식이 필요하며 많은 연구와 실험이 진행되어야 한다.

아포토시스의 개요

Apoptosis의 용어: apo (off)와 ptosis (falling)가 합성된 그리스어로 “가을에 낙엽이 말라서 떨어진다.”는 의미이며 1972년 kerr가 처음으로 언급하였다.¹⁾

세포의 죽음: 세포의 죽음은 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 첫째는 세포파열(necrosis)로 세포가 외부로부터 직접적인 손상을 받아 세포가 팽창되어 결국 세포막의 파열로 인해 분비되는 물질에 대한 염증반응을 통해서 죽는 과정이고, 둘째는 세포자살(apoptosis) 혹은 아포토시스로 정상적인 세포가 외적 또는 내적 자극에 의해서 세포가 가지고 있는 유전자 내의 죽음인자가 발동되어 세포가 위축되고 결국은 자기 스스로 죽는 과정으로 세포파열과는 형태학적, 생화학적, 생리학적으로 다른 양상을 보인다(Table 1).¹⁹⁻²²⁾ 세포 분자생물학의 발전은 세포파열과 아포토시스가 구별될 수 있는 여러 가지 방법을 제공하여 주었다. 아포토시스가 된 세포만을 염색하여 구별할 수 있는 방법과 세포핵을 염색하여 구분하는 방법, flow cytometry를 통하여 아포토시스가 된 세포의 양을 측정, 미토콘드리아의 막전위를 관찰, cytochrome c 검사, 캐스페이즈 활성화도 측정 등의 방법들은 아포토시스를

Table 1. Necrosis vs Apoptosis

	Necrosis	Apoptosis
형태학적 특징	<ul style="list-style-type: none"> - 세포 부종 - 세포막 소실 - 세포내 소포가 없어짐 - 세포 분해 	<ul style="list-style-type: none"> - 세포 수축 - 염색질의 응축 - DNA의 분절화(fragmentation)
생화학적 특징	<ul style="list-style-type: none"> - 이온 항상성의 조절작용 상실 - 수동작용으로 에너지(ATP) 유입이 불필요 - DNA가 불규칙적으로 잘림 	<ul style="list-style-type: none"> - 활성화 작용과 효소작용이 엄격히 조절 - 능동적인 반응으로 에너지(ATP)유입이 필요 - DNA가 규칙적으로 잘림(ladder pattern) - 미토콘드리아로부터 세포질로 여러 가지 인자가 방출되어 세포사멸에 관여 - 캐스페이즈(Caspase)의 활성화
생리학적인 특징	<ul style="list-style-type: none"> - 외부적 자극에 의해서 야기됨 (저온, 허혈, poison, 바이러스 등) - Macrophage에 의한 식세포작용 - 중요한 염증반응 	<ul style="list-style-type: none"> - 생리적 자극이나 외부적 자극에 의해 야기됨. (growth factor, 호르몬의 변화, 허혈/재관류 등) - 염증반응이 아님

검사하기 위한 방법으로 널리 사용되고 있다.^{23,24)}

Apoptosis의 양상: 첫째, 태생기 때 기관형성에 필요 없는 부분들을 제거하여 기관의 모양을 결정하게 한다. 우리의 손 모양이나 심장들의 모양들은 태생기 때는 하나의 덩어리 모양을 하고 있었으나 점차 불필요한 부분들의 세포가 아포토시스의 과정으로 사멸되어서 지금의 손이나 심장 등의 기관의 모양을 형성한다.²⁵⁾ 둘째로는 역할을 다한 노화된 세포나 상처받아서 이상이 생길 것 같은 세포를 제거해 준다. 낡은 혈액세포나 간(장) 세포들이 아포토시스로 제거되고 새로운 세포들로 채워지면서 일정한 세포수를 유지한다.²⁶⁾ 셋째, DNA를 손상시키는 물질에 노출되거나, glucocorticoid, 자유기(free radical), 항암제, staurosporine (Kinase inhibitor), 허혈 등의 외부적 요인에 노출된 경우도 아포토시스가 일어난다. 기초나 임상에서는 이러한 유발인자를 이용하여 아포토시스를 촉진시키거나 억제시키는 연구를 진행하고 있으며 이를 통하여 아포토시스의 기전과 여기에 작용하는 여러 물질들을 규명하고 있다. 넷째, 세포가 병리학적인 변이에 의해서 비정상적으로 아포토시스가 일어나서 질병이 초래되는 경우다. 세포에서 정상적인 아포토시스가 일어나서 사멸되어야 할 세포에서 아포토시스가 안 일어나면 그 세포는 비정상적으로 성장하고 전이되는 암으로 변성이 된다.^{4,5)} 또

면역반응을 일으킨 세포가 아포토시스로 사멸되어야 하나 그렇지 못하여 면역체계에 이상을 초래하면 자가면역질환을 일으키기도 한다. 이러한 질병들은 아포토시스가 안 일어나서 생기는 질환으로 많은 연구진들은 이러한 질병에서 아포토시스를 일으킬 수 있는 방법을 찾고자 노력하고 있다. 이와 반대로 과도하게 아포토시스가 일어나는 경우는 대뇌나 소뇌의 신경세포가 과도하게 아포토시스로 사멸되어서 생기는 알츠하이머,^{6,7)} 흑색질(substantia nigra)과 도파민 뉴런이 과도한 아포토시스로 사멸해서 생기는 파킨슨씨병이나 alpha motor neuron의 과도한 아포토시스로 생기는 루게릭병, CD4⁺ 세포가 과도하게 아포토시스로 죽어서 생기는 에이즈 등의 질환을 초래하게 된다.²⁷⁾ 이 같은 질환에 대해서는 아포토시스를 억제하는 방법을 찾아서 질병을 치료하고자 노력하고 있다.

아포토시스의 기전: 외부적이거나 내부적인 아포토시스 유발인자에 세포가 노출되면 여러 가지 경로와 핵심인자들간의 유기적인 작용으로 최종적으로는 단백질 분해 효소인 캐스페이즈(caspase)에 의해서 DNA가 분해되면서 주변세포나 식세포에 의한 탐식작용(phagocytosis)으로 사멸하게 된다. 이 과정에는 여러 유전자들이 관여하게 된다. 대표적인 유전자들은 다음과 같다.

Bcl-2 군과 미토콘드리아; Bcl-2 유전 단백질 군은

15종 정도가 알려져 있으며 종류에 따라서 아포토시스를 억제(anti-apoptosis)하거나 아포토시스를 유발(pro-apoptosis)시키는 역할을 한다. 아포토시스에 관련되어서 가장 초기에 알려진 단백질인 Bcl-2, Bcl-xL은 소포체(endoplasmic reticulum), 핵막, 미토콘드리아 외막에 존재하는 복합 단백질로서 세포막에서 이온과 단백질의 이동에 중요한 역할을 한다. 이것은 미토콘드리아의 외막에서 채널을 형성하여 막의 탈분극화를 억제하여 또 막의 산화적 인산화(oxidative phosphorylation)를 증진시켜 mitochondrial permeability transition (MPT)을 억제한다. 억제된 MPT는 미토콘드리아의 permeability transition (PT) pore를 닫히게 하여 미토콘드리아 내에 존재하는 cytochrome c 분비를 억제함으로써 아포토시스의 최종 단계 단백질 분해효소인 캐스페이즈의 활성화를 막아서 아포토시스를 억제한다(Fig. 1A).²⁸⁻³⁰⁾ 이와 반대로 Bax나 Bad는 아

포토시스를 촉진시키는 역할을 하며 정상적인 상태에서는 세포내(cytosol)에 존재하며 세포가 아포토시스 유발인자에 노출된 경우에는 세포내에서 미토콘드리아로 이동되어 Bcl-2나 Bcl-xL의 작용을 억제하여 미토콘드리아 막을 탈분극화 시켜서 PT pore을 열게 하여 cytochrome-c를 분비시킨다. 미토콘드리아로부터 분비된 cytochrome-c는 아포토시스의 시초 단계에서 가장 중요한 물질이다. 이것은 캐스페이즈의 활성화를 촉진시키는 Apaf-1 (apoptosis activating factor-1)에 촉매작용을 해서 캐스페이즈를 활성화함으로써 아포토시스를 촉진시키게 된다(Fig. 1B).²⁸⁻³⁰⁾

p53; 정상적인 세포의 세포질에 소량 존재하는 암 억제 유전자(tumor suppressor gene)이다. 이것은 DNA가 손상을 받는 경우에 양과 기능이 증가되고 세포질에서 세포핵으로 이동되면서 아포토시스를 유발하는 bax, IGF-BP-3, p21 WAF1/Cipl, GADD45, mdm2 등의 유전자를 활성화시켜서 아포토시스가 일어나게 한다(Table 2).³⁰⁾

Apaf-1 (apoptosis activating factor-1); 이것은 미토콘드리아로부터 방출되는 cytochrome c와 pro-caspase 9과 ATP 활성화 하에 결합되며 이 복합체를 아포좀(aposome)이라 한다. 이것은 캐스페이즈 9을 활성화시켜서 아포토시스의 최종 작용물질인 캐스페이즈 3, 6, 7 등을 활성화시켜 세포의 DNA를 분해하여 세포의 아포토시스를 유발하게 하는 아포토시스 유발체라고 할 수 있다(Fig. 1B).^{31,32)}

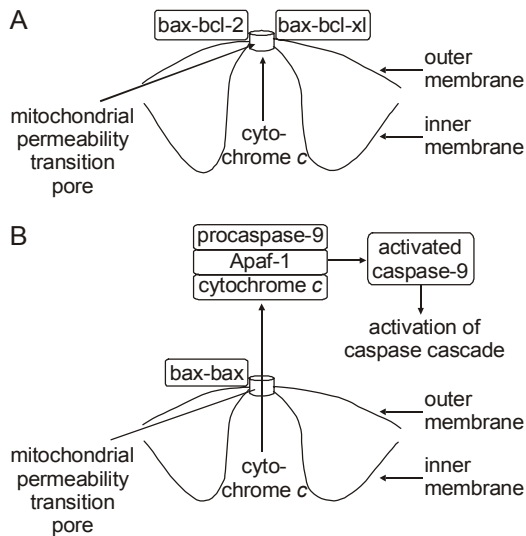


Fig. 1. Regulation of the mitochondrial permeability transition pore (PT). (A) Bcl-2-bax or bcl-xl-bax heterodimers maintain the PT in a closed state, preventing mitochondrial release of cytochrome c. Under conditions that lead to an increase in bax relative to bcl-2 or bcl-xl, bax homodimers are formed (B). The bax homodimer alters the conformation of the PT allowing mitochondrial release of cytochrome c. Cytochrome c then forms a trimeric complex with apaf-1 and procaspase-9. This complex cleaves procaspase-9 producing caspase-9 in the initial step of the mitochondrial-mediated caspase cascade.

Table 2. Genes Transactivated by p53

Gene	Mechanism of action
Bax	Promotes mitochondrial permeability transition; promotes apoptosis
IGF-BP-3	Inhibits cellular mitogenic response; promotes apoptosis
p21 ^{WAF1/Cipl}	Binds to cyclin-cdk complexes; inhibits cell cycle progression
GADD45	Binds to PCNA; inhibits cell cycle progression; facilitates DNA repair
mdm2	Facilitates proteolytic degradation of p53; inhibits p53 transcriptional activity; facilitates p53 transport from nucleus to cytoplasm

캐스페이즈(caspase); 아포토시스는 여러 가지 복잡한 과정으로 되어있다. 그러나 최종적으로는 단백질 분해효소인 캐스페이즈(caspase) 혹은 cysteine protease에 의해서 세포가 분해되면서 아포토시스가 일어나게 된다. 이러한 이유로 캐스페이즈는 아포토시스에서 필수적인 최종작용 단백질분해효소라 할 수 있다. 캐스페이즈는 1993년에 캐스페이즈 1이 발견된 이후로 지금까지 11개가 밝혀졌다. 캐스페이즈 8, 9, 10은 주로 초기 작용하여 캐스페이즈 캐스케이드(cascade)를 활성화하고, 캐스페이즈 2, 3, 6, 7 등이 최종적으로 DNA와 단백질을 분해하여 손상된 세포가 주변세포나 식세포에 의한 탐식작용으로 아포토시스가 일어나게 한다. 이것은 아포토시스를 수행하기 위한 필수적인 유전단백질로서 분자량이 30-50 KD인 단백질 분해효소이며 목표단백질을 특이 부위에서 절단하여 아포토시스가 일어나게 한다. 지금까지 밝혀진 캐스페이즈의 작용기전은 첫째로 목표단백질인 죽음기질(death substrate)을 선택적으로 분해하여 죽음기질을 활성화시킴으로써 아포토시스가 일어나게 하는데 대표적인 예로 단백질 인산화 효소(PKC)를 분해함으로써 PKC의 활성화가 아포토시스를 조장하게 되며, 둘째로 죽음기질을 절단하여 죽음기질이 오히려 불활성화가 되어 아포토시스가 일어나게 하는 경우로 세포핵의 유지에 중요한 역할을 하는 라민(lamin)이 캐스페이즈에 의해 절단되어 불활성화가 되면 이것이 세포핵의 붕괴와 DNA의 파괴를 초래하여 아포토시스를 조장한다.³¹⁾ 그러나 이러한 아포토시스의 과정에서 단순한 세포기질의 절단이 세포의 죽음을 초래한다고 할 수 없으며 여러 가지 물리적 화학적 생리적인 변화가 동반되어 아포토시스가 일어난다고 할 수 있으며 여기에 대한 연구는 계속 진행중이다.

이러한 캐스페이즈는 질병과도 밀접한 관계가 있다. 왜냐하면 캐스페이즈가 죽음기질을 절단하여 세포의 사멸에 중요한 역할을 하기 때문에 여기에 이상이 있을 경우 질병이 생기게 된다.³¹⁻³³⁾

헌팅틴병은 캐스페이즈가 헌팅틴이란 단백질을 절단함으로써 이것이 활성화되어 신경세포를 사멸시켜서 일어나는 병이라고 생각하고 있고 다운증후군도 캐스페이즈와 관련되었다고 한다.³⁴⁾ 또한 실험적으로 캐스페이즈 유전자를 세포에 주입한 세포군은 다른 세포군에 비해 아포토시스가 잘 일어나며 반대로 캐

스페이즈 억제제를 투여한 세포군은 그렇지 않은 세포에 비해서 아포토시스가 억제되는 것을 볼 수 있다. 이러한 캐스페이즈의 역할과 성질을 이용하면 캐스페이즈와 관련되었다고 생각되는 여러 질환들의 원인을 밝히고 치료방법을 개선할 수 있으리라 생각된다.³⁵⁾ 지금까지 캐스페이즈에 대한 많은 연구가 진행되고 있지만 아직 세포의 죽음과 연관된 많은 부분들이 아직 정확히 밝혀지지 않고 있어 앞으로 해결 해야될 숙제로 남아있다.

아포토시스 기전; 아포토시스는 많은 유전자와 단백질들의 유기적인 작용으로 일어나는 과정으로 아직 밝혀지지 않은 부분이 상당히 많다. 지금까지 밝혀진 기전으로는 첫째, 세포가 아포토시스 유발인자(성장호르몬 제거, 스트레스, 허혈, 화학물질에 노출 등)에 노출되면 스트레스에 의해 활성화되는 protein kinase인 JNK (c-jun N-terminal kinase)가 활성화되면서 아포토시스를 촉진시키는 유전자인 Bad, Bax를 활성화시킨다. 이것은 아포토시스 억제유전자인 Bcl-2 나 Bcl-xL의 작용을 억제하여 캐스페이즈 캐스케이드(caspase cascade)를 촉진시킨다.³⁶⁾ 캐스페이즈는 세포의 단백질을 분해함으로써 아포토시스를 유발한다. 둘째, 세포표면에 정상적으로 존재하는 Fas와 TNF (tumor necrosis factor) receptor에 아포토시스 유발인자에 의해서 생성된 죽음활성인자(death activator)인 FasL이나 TNF 등의 사이토카인(cytokines)이 붙으면 이러한 죽음신호가 세포질로 전달되어 이 신호가 캐스페이즈 8을 활성화시키고 이것이 아포토시스 촉진 유전자인 Bid를 활성화하여 Bcl-2과 Bcl-xL을 억제하여 cytochrome-c 분비를 촉진시켜, ATP 하에 Apaf-1 과 pro-caspase 9과 아포좀을 형성하여 캐스페이즈 9을 활성화하고 최종적으로 캐스페이즈 3, 6 등을 활성화시킨다. 캐스페이즈 8은 미토콘드리아에 영향을 주지 않고 바로 캐스페이즈 3, 6 등을 활성화시켜 아포토시스를 유발하기도 한다.^{3-5,37)} 셋째, 소포체(ER)에 스트레스가 가해지는 경우 Ca^{2+} 가 직접적으로 캐스페이즈 캐스케이드를 촉진시켜서 아포토시스가 일어나는 경우가 있다.³⁰⁾ 또한 Ca^{2+} 은 Bcl-2를 억제하여 미토콘드리아를 통하여 cytochrome-c 분비를 촉진시켜 캐스페이즈를 활성화하여 아포토시스를 유발하기도 한다(Fig. 2).³⁹⁾ 이 세 가지 기전에서 아포토시스는 미토콘드리아 PT pore이 열리면서 cytochrome-c가 분비되어 캐스페이즈 9이 활성화되는 경로와 미토콘드

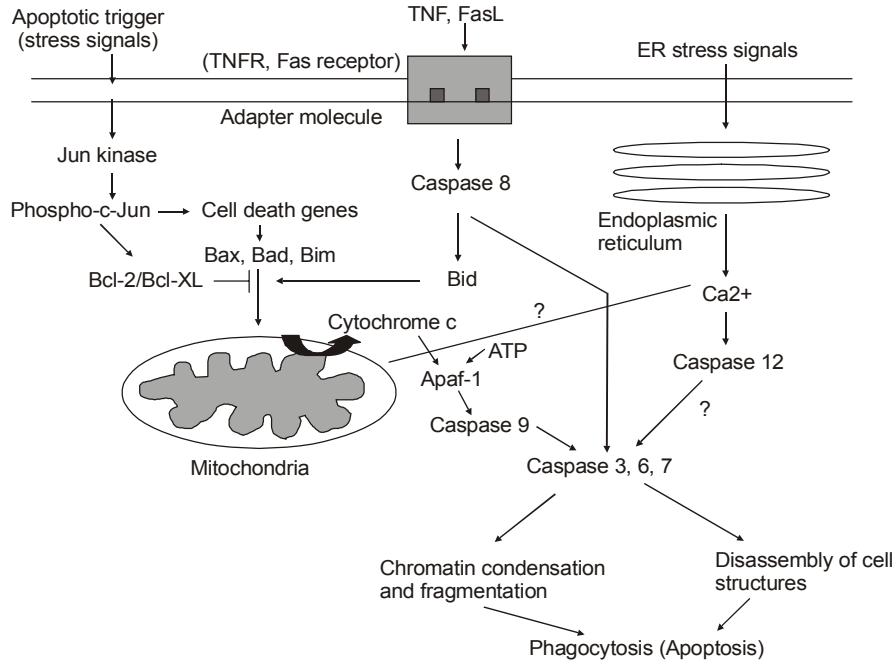


Fig. 2. Mechanisms of apoptosis.

리아와는 상관없이 바로 캐스페이즈가 활성화되는 두 가지 경로로 다시 정리할 수 있다.^{37,38)} 지금까지 밝혀진 이러한 기전들은 세포의 종류와 아포토시스 유발요인에 따라서 각각 따로 작용할 수도 있고 동시에 작용할 수도 있다. 그리고 유발인자와 세포 종류에 따라서 아포토시스가 일어나는 과정은 조금씩 다르다.

그러나 아직 아포토시스와 관련된 많은 유전자가 밝혀지지 않았고 그리고 아직 정확한 작용경로에 대해서도 많은 의견들이 있으며 점차적으로 새로운 사실들이 밝혀지기를 기대하고 있다.

마취영역에서의 apoptosis

지금까지 마취영역에서 보고된 아포토시스에 연구는 거의 없는 실정이다. 최근 들어 정맥마취제로 사용되고 있는 벤조다이제핀계통의 약물과 propofol 이 뇌허혈에 의한 뇌신경세포의 아포토시스를 억제한다는 보고도 있지만 주로 기초의학 부분에서 보고한 논문이다.^{40,41)} 이 같은 현실로 보아 마취과영역과 아포토시스에 관한 관련성을 체계적으로 정리하기란 매우 어렵다. 그러나 외부적 자극에 의한 아포토시스

스는 주로 스트레스, 저산소증, 허혈, 허혈 후 재관류 등에 의하여 일어날 수 있으며 이러한 외부적 유발인자는 모두 마취과와 관련된 부분이라고 할 수 있겠다. 이 중에서 현재 임상이나 기초에서 가장 활발히 연구되고 있는 부분은 허혈/재관류손상에 의한 아포토시스라 할 수 있다. 특히 최근에 장기이식이 활발하게 진행되고 있는 상황에서 이 부분에 대한 이해는 중요하다.

허혈/재관류 손상에 의한 아포토시스: 뇌, 심장, 간 등의 주요기관에서 허혈이나 재관류 손상은 치명적인 기관장애를 초래해서 생명을 위협하는 경우가 많아 이것을 방지하거나 손상을 최소한으로 줄이기 위한 노력은 끊임없이 진행되어왔다. 마취과 영역에서도 뇌허혈, 심장허혈 그리고 장기이식술에서 발생하는 허혈/재관류에 의한 기관손상을 줄이는데 많은 노력을 기울이고 있다. 최근의 여러 보고들은 이러한 외부적 손상 후에 생기는 기관장애는 아포토시스에 의한 세포죽음에 의해서 많이 일어난다고 한다.¹⁴⁻¹⁷⁾ 외부적 자극에 의한 세포죽음에서 세포파열(necrosis)과 아포토시스가 일어나는 조건에 대해서는 아직 정확히 밝혀지진 않았지만 미토콘드리아가 중

요한 역할을 한다고 한다. 미토콘드리아의 세포막이 탈분극화 되고 산화적 인산화(oxidative phosphorylation)가 억제되면 MPT가 발생하여 미토콘드리아 내막에 있는 PT pore이 열려 분자량 1,500 Da 이하의 물질이 일시적이고 가역적으로 미토콘드리아를 자유롭게 통과하게 된다. Ca^{2+} , ROS (reactive oxygen radicals), 산화물질 등은 MPT를 촉진시키고 Mg^{+} , 낮은 pH, cyclosporin A는 MPT 억제시킨다. MPT가 일어날 때 세포는 죽음에 이르게 되는데 ATP가 고갈되면 세포파열이 발생하고 ATP가 유지되면 아포토시스가 일어난다고 한다(Fig. 3).²⁸⁾ 하지만 세포파열

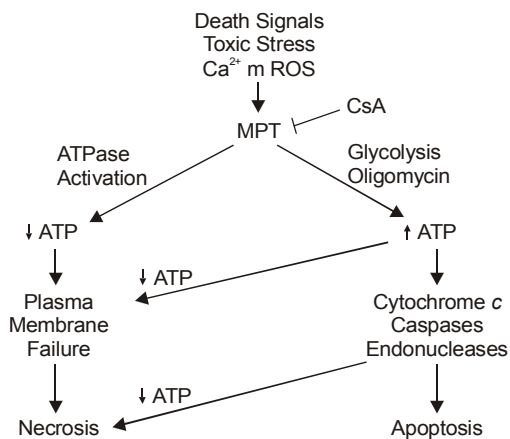


Fig. 3. Scheme showing the role of ATP in necroptosis mediated by the mitochondrial permeability transition. Death signals, toxic stresses, increased mitochondrial Ca^{2+} , and ROS formation all promote onset of the MPT. When the MPT occurs abruptly activation of mitochondrial ATPases causes ATP depletion, which leads to plasma membrane rupture and necrotic cell death. If the mitochondrial ATPase is inhibited with oligomycin and a glycolytic substrate is available, or if the MPT progresses relatively slowly through the population of a single cell, then ATP levels remain relatively preserved even after onset of the MPT. Under such conditions, cytochrome c release activates a cascade of caspases, endonucleases, and other degradative enzymes causing apoptotic rather than necrotic cell death. At any time ATP depletion can supervene to cause secondary necrosis. Both apoptosis and necrosis are prevented by cyclosporin A. the term, necroptosis, describes such death processes that begin with common death inducers, progress by shared pathways, and culminate in either cell lysis (necrotic cell death) or programmed cellular resorption (apoptosis) depending on other factors, such as ATP.

과 아포토시스가 일어나는 조건적 차이에 대해서는 아직 많은 연구가 필요하다.

동물실험에서 아포토시스를 억제하는 Bcl-2, Bcl-x1 유전자를 투여한 군들에서 허혈/재관류 손상을 유발할 경우는 Bcl-2, Bcl-xL을 투여하지 않은 군보다 그 손상의 정도가 훨씬 작았다. 그리고 캐스페이즈 억제제를 사용한 군들에서도 캐스페이즈 억제제를 투여하지 않은 군보다 허혈/재관류 손상의 훨씬 줄어든 것을 알 수 있었다.^{42,43)} 이는 허혈/재관류 손상이 아포토시스를 유발하고 이로 인해서 기관장애가 일어난다는 것을 알 수 있으며 우리가 주목해야 할 부분은 여러 실험에서 이러한 아포토시스를 방지하거나 억제한다면 허혈/재관류 손상을 최소한으로 감소시킬 수 있다는 사실이다.

허혈/재관류 손상에 의한 아포토시스의 기전은 첫째로 허혈에 노출되면 Fas ligand가 Fas 수용체에 결합하고 이로 인해서 캐스페이즈 8 활성화된다. 이것은 캐스페이즈 캐스케이드를 활성화시켜 아포토시스를 유발한다. 둘째, 재관류에 의한 산소공급은 다량의 산소자유기(oxygen free radicals)를 생성하게 한다. 산소자유기는 미토콘드리아로부터 cytochrome c 분비를 촉진시켜서 아포토시스를 일으키고, 셋째, 허혈/재관류는 미토콘드리아에 직접적인 손상을 입혀 PT pore을 열게 하여 cytochrome c 분비를 촉진시킨다.

이러한 경로들은 결국엔 최종적으로 세포의 DNA를 분해하여 아포토시스를 유발하는 캐스페이즈 3를 활성화함으로써 이루어진다고 할 수 있다.⁴²⁾

뇌에서의 허혈/재관류 손상 기전; 뇌허혈 시 뇌세포는 세포파열과 세포사의 두 가지 형태로 죽게되는데 주로 허혈 초기에는 세포파열이 일어난다고 하며 그리고 후기에는 대부분이 아포토시스가 일어난다고 된다는 보고가 있으며 허혈의 강도와 노출시간에 따라 세포파열을 초래하고 경할 경우는 아포토시스를 초래한다고 보고하고 있다. 이러한 이유는 미토콘드리아에서 ATP가 유지되느냐 고갈되는냐에 따라서 결정된다고 생각되어진다.³⁰⁾ 하지만 여기에 대한 논의는 계속되고 있다. 허혈로 인한 뇌세포의 아포토시스의 기전은 다음과 같이 몇 가지로 요약할 수 있다.

Free radicals: 미토콘드리아는 호흡을 하면서 O_2 , H_2O_2 를 생성한다. 정상적인 상태에서 O_2 는 superoxide dimutase (SOD)에 의해서 억제되어 있어 기능

을 못하고 있으나 저산소증, 허혈 등에 노출된 경우는 과량으로 생산되어 미토콘드리아에 작용하여 cytochrome c를 분비시켜 아포토시스를 촉진시킨다. 또한 한편으론 저산소증, 허혈, cytokines 등에 의해서 활성화된 nitric oxide synthetase (NOS)는 L-arginine에 의하여 발생된 nitric oxide (NO)에 작용해서 ONOO⁻ (peroxynitrite)를 만들기도 한다. NO는 cytochrome c 분비를 증가시키고 캐스페이즈 활성화를 촉진시켜서 아포토시스가 일어나게 한다(Fig. 4).⁴⁴⁾

Glutamate 활성화에 의한 아포토시스: 뇌신경세포

가 허혈에 노출되면 glutamate가 calcineurin을 활성화시키고 이것이 Bad를 탈인산화 시켜서 Bad가 미토콘드리아로 전위되면서 Bcl-2, Bcl-xL와 복합체를 이루어 Bcl-2, Bcl-xL의 아포토시스 억제 효과를 방해하여 미토콘드리아로부터 cytochrome-c의 방출을 촉진시킨다. 또 다른 경로는 glutamate가 암억제 유전자인 P53을 활성화시키고 이것이 Bax 활성화를 촉진시켜서 Bax가 Bcl-2나 Bcl-xL과 복합체를 형성함으로써 Bcl-2나 Bcl-xL의 작용을 억제하여 미토콘드리아로부터 cytochrome-c를 분비시킨다. 이것은 캐스

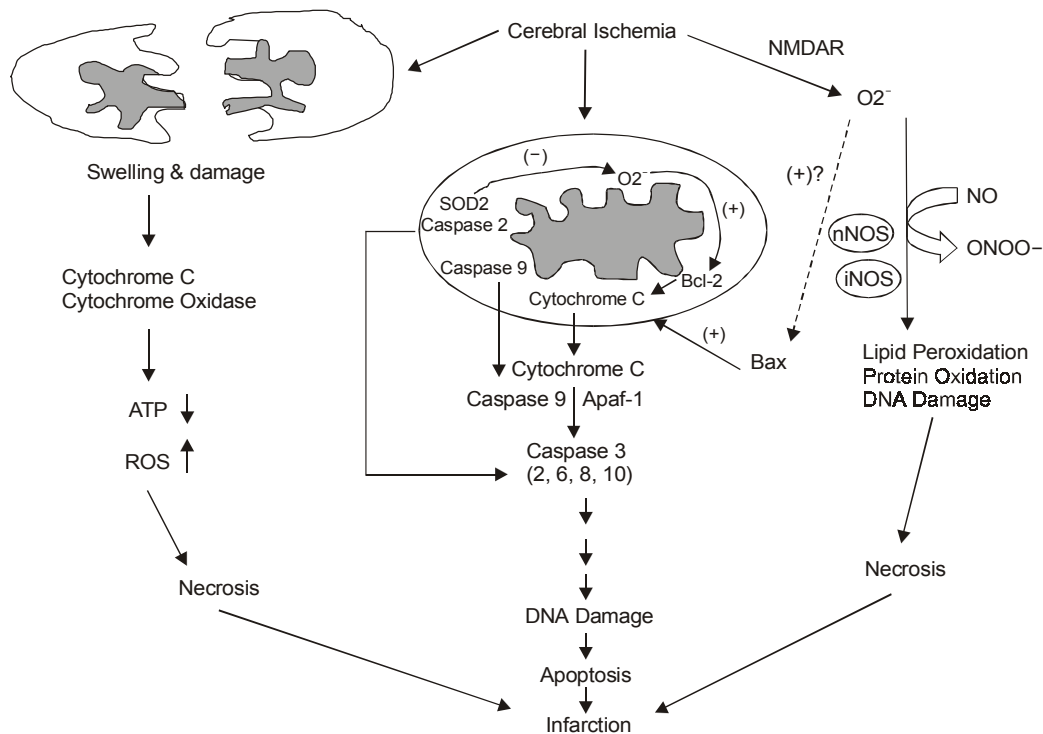


Fig. 4. Mitochondria as targets for oxidative stress signaling after cerebral ischemia. Cerebral ischemia and reperfusion generated reactive oxygen species (ROS) within the mitochondria, which then signal the release of cytochrome c by mechanisms that may be related to Bcl-2 and translocation of Bax. Cytochrome c, once released, binds to Apaf-1 followed by caspase-9 to form a complex that subsequently activates caspase-3 and other caspases, such as -2, -6, -8 and -10. Activated caspase-3 is known to cleave to many nuclear DNA repair enzymes, which then leads to nuclear DNA damage without repair, resulting in apoptosis. the activation of the *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor and formation of O₂⁻ and nitric oxide (NO) by neuronal nitric oxide (nNOS) may directly signal the mitochondrial release of cytochrome c or formation of peroxynitrite (ONOO⁻), and subsequent hydroxyl radical production can directly damage lipids, proteins, and DNA and lead to cell death, most likely necrosis. A more severe cerebral ischemia causes direct mitochondrial swelling and damage, which then causes the inhibition of adenosine triphosphate synthesis and increased ROS production, directly causing necrotic cell death. NO: nitric oxide radical.

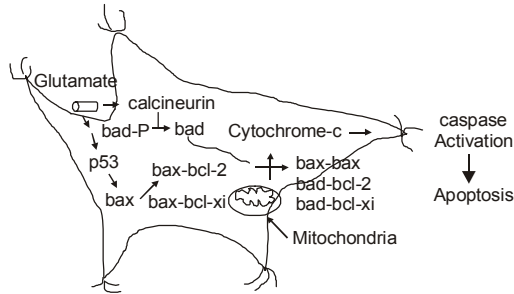


Fig. 5. Mechanisms of glutamate induced apoptosis.

페이즈의 활성화를 촉진시켜서 결국 아포토시스로 뇌신경세포가 사멸되게 한다(Fig. 5).³⁰⁾

유전자 활성화: 허혈이 발생하면 세포내에 존재하는 여러 가지 유전자는 이온 항상성이나 에너지 변화 등에 의해서 아포토시스를 촉진시키는 유전자와 억제하는 유전자들이 동시에 활성화된다. fos B, c-jun, NGFI-A, NGFI-C, P53, Bax 등은 아포토시스를 촉진시키는 역할을 하며, Bcl-2, Bcl-xL, P21, GADD45 등은 아포토시스를 억제하는 역할을 한다. 뇌신경세포는 부위에 따라 허혈에 예민하거나 둔감한데 그 이유는 아포토시스 유발인자에 노출된 경우 해마(hippocampus)의 CA1, 편도(amygdala), 시상(thalamus) 등의 매우 손상 받기 쉬운 부위에는 아포토시스를 촉진시키는 유전자들이 많이 활성화되어 있고 반면 아포토시스를 억제하는 유전자의 활성도가 떨어져있다. 해마의 CA3, 치아이랑(dentate gyrus) 부분은 허혈에 손상을 잘 받지 않는 부분인데 허혈에 노출된 경우 이 부분에는 아포토시스를 억제하는 유전자들의 활성도가 높기 때문이다.^{30,45)}

Cytokines의 활성화: 뇌신경세포가 허혈에 노출되면 TNF- α , Fas, TRAIL, TNFRI 등의 사이토 카인들이 증가한다. cytokine mediated receptor가 활성화되면 캐스페이즈 8이 활성화되고 이것은 캐스페이즈 활성화 경로를 촉진시켜서 아포토시스를 유발하게 된다.^{30,46)}

심장에서의 아포토시스: 심장의 전도장애나 심부전등은 생명을 위협하는 심각한 질환이다. 그러므로 많은 국가에서 심혈관 질환의 예방과 치료에 막대한 예산을 투자하고있다. 최근보고에 의하면 이러한 심혈관계 질환들은 아포토시스와 매우 밀접한 연관이 되어있다고 한다. 심근세포가 여러 가지 아포토시스 유발인자에 노출되면 심근세포에서 아포토시스가 일

어나고 이로 인해서 전도장애나 심부전이 생기고 심장의 기능저하 발생하게 된다. 또 혈관내막세포에 아포토시스가 일어나면 여러 가지 혈관관련 질환이 발생한다는 것이다.⁴⁷⁾ 이러한 사실은 심혈관 질환과 관계된 아포토시스의 이해와 응용은 심장질환의 치료와 예방에 매우 중요하다는 것을 시사한다.

Free radicals: 허혈/재관류 시 ROS의 생성은 이미 여러 논문에서 증명되었다. 이때 생성되는 hydrogen peroxide와 superoxide는 심근세포에서 아포토시스 억제유전자인 Bcl-2의 작용을 억제하고 아포토시스 촉진인자인 P53 유전자를 촉진시켜서 아포토시스를 조장하게된다.^{47,48)}

PKC: 보고에 의하면 PKC가 아포토시스를 유발한다고 한다. 허혈/재관류시 PKC가 생성되고 이것이 심근세포의 아포토시스를 촉진시킨다고 한다. 실험에서 허혈/재관류 전에 PKC 억제제를 투여한 경우는 심근세포의 아포토시스가 많이 억제되어서 PKC가 허혈/재관류에 의한 심근세포의 아포토시스에 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있다.⁴⁷⁻⁴⁹⁾

캐스페이즈: 심장에 허혈/재관류의 손상이 주어질 경우 많은 보고에서 캐스페이즈, 2, 3, 7이 활성화된다고 한다. 이러한 캐스페이즈의 활성화는 심근세포의 아포토시스를 유발하게 한다. 최근 여러 실험에서 이러한 캐스페이즈 억압제(caspase inhibitor)를 사용하면 심근세포의 아포토시스를 억제할 수 있다고 하며 이것을 임상적으로 적용하기 위한 여러 가지 시도가 시행되고 있다.⁴⁷⁻⁴⁹⁾

칼슘: 허혈/재관류로 인한 칼슘의 증가는 미토콘드리아의 기능장애, DNA 분해, 가수분해효소(hydrolases) 등의 증가를 초래한다. 이로 인해서 심근세포의 아포토시스가 초래된다. 세포내의 칼슘의 증가는 세포파열의 중요한 원인이기도 하다. 그러므로 심근세포에서 허혈/재관류 시 칼슘증가를 막는 것은 심근세포의 세포파열과 아포토시스 둘 다를 억제할 수 있을 것이다.⁴⁷⁻⁴⁹⁾

간에서의 apoptosis; 간이식 시 허혈/재관류 손상은 이식된 간의 급성 거부반응, 간기능 활동의 회복저하나 장기적인 이식된 간의 부전 등을 초래하여 이것을 방지하는 것은 수술 후후를 결정하는 주요한 요인이 된다. 여러 보고에 의하면 간이식 시 발생하는 허혈/재관류 시기에도 세포파열 뿐만 아니라 아포토시스가 발생하여 이식간의 기능장애를 초래한다

고 한다. 이러한 아포토시스의 기전은 다른 기관과 비슷하게 TNF- α , Protease, ROS, Ca²⁺ 증가에 의한 캐스페이즈의 활성화에 기인한다고 한다. 지금 많은 분야에서 이것을 방지하기 위한 여러 가지 시도가 진행되고있다. 동물실험에서 캐스페이즈 억제제를 허혈/재관류 전에 투여한 군이 투여하지 않은 군에 비해 현저하게 아포토시스가 감소했으며, ROS 억제제를 투여하여 아포토시스를 감소시킨 보고들도 많이 있다.⁴⁹⁾ 그리고 아포토시스를 억제할 수 있는 유전자인 Bcl-2 등을 함유한 바이러스를 이용하여 아포토시스를 억제하는 방법과 캐스페이즈 억제제를 이용한 유전자치료법들도 많이 보고되고 있다.⁵¹⁾

결 론

저산소증, 허혈, 허혈/재관류 등이 세포의 아포토시스를 초래한다는 사실은 많은 생명분야 관련기관으로 하여금 보다 효과적인 새로운 치료법과 약제개발에 박차를 가하게 했다. 그리고 현재 동물실험에서는 괄목할 만한 성과가 있었고 그것을 바탕으로 임상실험을 위한 준비를 잘 진행하고 있다. 이런 각 분야의 의학 발전에 따라 마취영역에서도 아포토시스에 대한 다각적인 연구와 관심이 필요하다. 그러나 마취영역에서는 기초연구실이 잘 갖춰진 선진국에서조차 현재 여기에 대한 연구가 미비한 실정이다.

아포토시스에 대한 각분야의 많은 연구는 새로운 사실들을 계속적으로 밝혀주고 있지만 아직은 밝혀야 할 부분들이 많이 남아있는 실정이다. 그런 의미에서 마취영역의 아포토시스에 대한 연구와 투자는 새로운 지식과 성과를 선점할 수 있으며 이에 대한 부가적인 학문발전과 그에 따른 많은 변화를 쉽게 적용할 수 있으리라 생각된다. 그리고 아포토시스에서 가장 중요한 매개체인 캐스페이즈를 측정할 수 있었던 것이 불과 2-3년 밖에 되지 않은 사실로 미루어 보아 단기간 내 수많은 새로운 사실들이 밝혀질 것으로 생각되며 마취영역에서도 지금부터 기본적인 토대는 갖추어야 할 때라고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR: Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide-ranging implica-

tions in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-45.

2. Kozinets GI, Pogorelov VM, Khazem GM, Novoderzhkina IUK, Diagileva OA: Physiological (programmed) cell death in hemopoiesis. *Klin Lab Diagn* 1996; 1: 35-8.

3. Evan G, Littlewood T: A matter of life and cell death. *Science* 1998; 281: 1317-22.

4. Staunton MJ, Gaffney EF: Apoptosis: basic concepts and potential significance in human cancer. *Arch Pathol Lab Med* 1998; 122: 310-9.

5. Kuchino Y, Kitanaka C: Apoptosis in cancer. *Hum Cell* 1996; 9: 223-8.

6. Rohn TT, Head E, Nesse WH, Cotman CW, Cribbs DH: Activation of caspase-8 in the Alzheimer's disease brain. *Neurobiol Dis* 2001; 8: 1006-16.

7. Selznick LA, Holtzman DM, Han BH, Gokden M, Srinivasan AN, Johnson EM Jr, et al: In situ immunodetection of neuronal caspase-3 activation in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999; 58: 1020-6.

8. Shao L, Diccianni MB, Tanaka T, Gribi R, Yu AL, Pullen JD, et al: Thioredoxin expression in primary T-cell acute lymphoblastic leukemia and its therapeutic implication. *Cancer Res* 2001; 61: 7333-8.

9. Yslas I, Alvarez MG, Marty C, Mori G, Durantini EN, Rivarola: Expression of Fas antigen and apoptosis caused by 5, 10, 15, 20-tetra (4-methoxyphenyl) porphyrin (TMP) on carcinoma cells: implication for photodynamic therapy. *Toxicology* 2000; 149: 69-74.

10. Shinoura N, Koike H, Furu T, Hashimoto M, Asai A, Kirino T, et al: Adenovirus-mediated transfer of caspase-8 augments cell death in gliomas: implication for gene therapy. *Hum Gene Ther* 2000; 11: 1123-37.

11. Lea PM, Faden AI: Traumatic brain injury: developmental differences in glutamate receptor response and the impact on treatment. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2001; 7: 235-48.

12. Regan RF, Choi DW: The effect of NMDA, AMPA/kainate, and calcium channel antagonists on traumatic cortical neuronal injury in culture. *Brain Res* 1994; 633: 236-42.

13. Dugan LL, Choi DW: Excitotoxicity, free radicals, and cell membrane changes. *Ann Neurol* 1994; 35 Suppl: S17-21.

14. Rudiger HA, Clavien PA: Tumor Necrosis Factor alpha, But Not Fas, Mediates Hepatocellular Apoptosis in the Murine Ischemic Liver. *Gastroenterology* 2002; 122: 202-10.

15. J Hutchison JS, Derrane RE, Johnston DL, Gendron N, Barnes D, Fliss H, et al: Neuronal apoptosis inhibitory protein expression after traumatic brain injury in the mouse. *Neurotrauma* 2001; 18: 1333-47.
16. Suzuki K, Murtuza B, Smolenski RT, Sammut IA, Suzuki N, Kaneda Y, et al: Overexpression of interleukin-1 receptor antagonist provides cardioprotection against ischemia-reperfusion injury associated with reduction in apoptosis. *Circulation* 2001; 104: 1308-13.
17. Soeda J, Miyagawa S, Sano K, Masumoto J, Taniguchi S, Kawasaki: Cytochrome c release into cytosol with subsequent caspase activation during warm ischemia in rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: 1115-23.
18. Matsuoka H, Kurosawa S, Horinouchi T, Kato M, Hashimoto Y: Inhalation anesthetics induce apoptosis in normal peripheral lymphocytes in vitro. *Anesthesiology* 2001; 95: 1467-72.
19. Coleman ML, Sahai EA, Yeo M, Bosch M, Dewar A, Olson MF: Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 339-45.
20. Wyllie AH: Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activity. *Nature* 1989; 284: 555-6.
21. Roy C, Brown DL, Little JE, Valentine BK, Walker PR, Sikorska M, et al: The topoisomerase II inhibitor teniposide (VM-26) induces apoptosis in unstimulated mature murine lymphocytes. *Exp Cell Res* 1992; 200: 416-24.
22. Wyllie AH: apoptosis: Death gets a brake. *Nature* 1994; 369: 272-3.
23. Gaumann A, Tews DS, Mayer E, Dahm M, Petrow PK, Otto M, et al: Expression of apoptosis-related proteins, p53, and DNA fragmentation in sarcomas of the pulmonary artery. *Cancer* 2001; 92: 1237-44.
24. Marshman E, Ottewell PD, Potten CS, Watson AJ: Caspase activation during spontaneous and radiation-induced apoptosis in the murine intestine. *J Pathol* 2001; 195: 285-92.
25. Cole LK, Ross LS: Apoptosis in the developing zebrafish embryo. *Dev Biol* 2001; 240: 123-42.
26. Sapunar D, Vilovic K, England M, Saraga-Babic M: Morphological diversity of dying cells during regression of the human tail. *Ann Anat* 2001; 183: 217-22.
27. Raulin J: Human immunodeficiency virus and host cell lipids. Interesting pathways in research for a new HIV therapy. *Prog Lipid Res* 2002; 41: 27-65.
28. Lemasters JJ, Quian T, Bradham CA, Brenner DA, Cascio WE, Trost LC, et al: Mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of necrotic and apoptotic cell death. *J Bioenergetics and Biomembranes* 1999; 31: 305-19.
29. Szabo I, Zoratti M: The giant channel of the inner mitochondrial membrane is inhibited by cyclosporin A. *J Biol Chem* 1991; 266: 3376-9.
30. Banasiak KJ, Xia Y, Haddad GG: Mechanisms underlying hypoxia-induced neuronal apoptosis. 2000; 62: 215-49.
31. Thornberry NA, Lazebnik Y: Caspases: enemies within. *Science* 1998; 281: 1312-6.
32. Cain K, Brown DG, Langlais C, Cohen GM: Caspase activation involves the formation of the apoptosome, a large (approximately 700 kDa) caspase-activating complex. *J Biol Chem* 1999; 274: 22686-92.
33. Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR, Chapman KT, Howard AD, Kostura MJ, et al: A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 beta processing in monocytes. *Nature* 1992; 356: 768-74.
34. Gulesserian T, Engidawork E, Yoo BC, Cairns N, Lubec G: Alteration of caspases and other apoptosis regulatory proteins in Down syndrome. *J Neural Transm Suppl* 200; 161: 163-79.
35. Shinoura N, Koike H, Furitu T, Hashimoto M, Asai A, Kirino T, et al: Adenovirus-mediated transfer of caspase-8 augments cell death in gliomas: implication for gene therapy. *Hum Gene Ther* 2000; 11: 1123-37.
36. Chen YR, Tan TH: The c-Jun N-terminal kinase pathway and apoptotic signaling. *Int J Oncol* 2000; 16: 651-62.
37. Adams JM, Cory S: The Bcl-2 protein family: Arbiters of cell survival. *Science* 1998; 1322-6.
38. Krajewski S, Krajewski M, Ellerby LM, Welsh K, Xie Z, Deveraux QL, et al: Release of caspase 9 from mitochondria during neuronal apoptosis and cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 5752-7.
39. 남궁욱, 김경태: 비전과 토포 II: 뇌과학; 신경세포의 사멸과 신경질환. *Biozine* 2001; 4: 1-15.
40. Bono F, Lamarche I, Prabonnaud V, Le Fur G, Herbert JM: Peripheral benzodiazepine receptor agonists exhibit potent antiapoptotic activities. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 265: 457-61.
41. Sagara Y, Hendler S, Khoh-Reiter S, Gillenwater G, Carlo D, Schubert D, et al: Propofol hemisuccinate protects neuronal cells from oxidative injury. *J Neurochem* 1999; 73: 2524-30.
42. Saikumar P, Dong Z, Weinberg JM, Venkatachalam

- MA: Mechanisms of cell death in hypoxia/ reoxygenation injury. *Oncogene* 1998; 17: 3341-9.
43. Grunenfelder J, Miniati DN, Murata S, Falk V, Hoyt EG, Kown M, et al: Upregulation of Bcl-2 through caspase-3 inhibition ameliorates ischemia/reperfusion injury in rat cardiac allografts. *Circulation* 2001; 104: I 202-6.
 44. Becker BF, Kupatt C, Massoudy P, Zahler S: Reactive oxygen species and nitric oxide in myocardial ischemia and reperfusion. *Z Kardiol* 2000; 89: IX/88-91.
 45. Ishii S, Abe T, Saito T, Tsuchiya T, Kanno H, Miyazawa M, et al: Effects of preconditioning on ischemia/reperfusion injury of hepatocytes determined by immediate early gene transcription. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2001; 8: 461-8.
 46. Ashkenazi A, Dixit VM: Death receptor: signaling and modulation. *Science* 1998; 281: 1305-8.
 47. Narula J, Arbustini E, Chandrashekhar Y, Schwaiger M: Apoptosis and the systolic dysfunction in congestive heart failure. Story of apoptosis interruptus and zombie myocytes. *Cardiol Clin* 2001; 19: 113-26.
 48. Holleyman CR, Larson DF: Apoptosis in the ischemic reperfused myocardium. *Perfusion* 2001; 16: 491-502.
 49. Nagoya J: Pathogenesis and the role of Ca²⁺ overload during myocardial ischemia/reperfusion. *Med Sci* 2000; 63: 91-8.
 50. Cursio R, Auberger P, Gugenheim J: Inhibition of apoptosis: a new therapeutic approach to prevent liver ischemia-reperfusion lesions? *Gastroenterol Clin Biol* 2000 Jun-Jul; 24: 607-8
 51. Bilbao G, Contreras JL, Eckhoff DE, Mikheeva G, Krasnykh V, Douglas JT, et al: Reduction of ischemia-reperfusion injury of the liver by in vivo adenovirus-mediated gene transfer of the antiapoptotic Bcl-2 gene. *Ann Surg* 1999; 230: 185-93.
-