

Prevention of Ischemic Injury in Donor Kidney

연세대학교 원주의과대학 신장내과

최 승 옥

서 론

성공적인 신장이식을 위해서는 신장의 적출과 이식 사이에 발생하는 허혈-재관류 손상이나 수술시 문제점을 최소화 하고 수술 후 거부반응의 예방을 위한 최적의 면역억제를 유지하여야 한다. 특히 donor kidney의 적출과 이식 사이에 발생하는 신장의 허혈-재관류 손상을 적게 받은 신장을 이식하게 되면 recipient의 치료에 여러 가지 임상적인 이점이 있고 세포면역이나 체액면역 수준의 면역학적인 문제점도 많이 줄어들게 되어 초기 이식신의 기능과 급성 거부반응 또는 장기적인 이식신의 기능 변화에도 영향을 주게 된다.^{1, 2)}

외국의 경우와는 다르게 우리나라의 경우 사체 신이식 보다 생체 신이식이 더 많고 뇌사자의 경우도 심박동이 있는 상태에서 동일 장소에서 이식을 시행하는 경우가 많아 donor kidney의 허혈-재관류 손상을 줄이는 것에 대한 관심과 연구가 외국에 비해 적었던 것이 사실이다. 그러나 신장이식의 장기관리를 KONOS에서 하게 됨에 따라 뇌사자가 발생한 병원에서 신장이식을 하는 경우가 줄고 프로그램에 따라 적합한 환자가 있는 곳으로 적출된 장기를 옮기는 일이 많아지고 이식 장기의 부족으로 marginal donor로부터의 장기적출이 빈번해져 한국에서도 신장이식시 donor kidney의 손상을 줄이는데 보다 많은 관심과 연구가 필연적이다.

허혈-재관류 손상의 예방과 치료

현재 신장이식시 donor kidney의 허혈-재관류 신 손상을 예방하거나 치료하는 방법으로는 신장을 신속히 냉각시키고 이미 알려진 병태생리의 원인별로 치료하는 방법과 여러 가지 방법으로 preconditioning 하

여 신손상으로부터 자체 방어능력을 유도하는 방법이 있다.

1. Donor의 일반적 처치

Living donor의 경우 신적출시 혈액량이나 세포의 액은 적절한 수액요법을 통해 유지하며 이뇨를 유지하기 위해 흔히 mannitol을 사용한다.

Warm ischemia는 신장적출 즉시 찬 수액으로 신장을 냉각시켜 수초 동안 진행되고 전체 허혈은 15-30분 정도로 donor와 recipient를 동시에 수술할 경우는 1시간을 넘기지 않는다. 최상의 신기능을 유지하기 위해 신장을 얼음으로 냉각시키면서 보존액을 신동맥을 통해 관류시키고, 냉각 보존상태에서 신장을 꺼내 신장의 동맥과 정맥을 연결하기까지의 rewarm ischemia time 동안에도 신손상을 최소화 하기 위해 지속적인 신장의 냉각이 필요하다.

Cadaver donor인 경우 장기간의 신장 보존시간이 필요할 때 신장의 허혈손상을 피하는 것이 매우 중요하다. Living donor와 같은 방법을 심박동이 있는 cadaver donor에서도 적용할 수 있다. 효과적인 보존을 위해서는 적절한 체액량, 신혈류량, 요량 및 신체 대사가 신적출 전까지 잘 유지되어야 하고 혈관의 수축이나 신독성 약물 등을 피해야 한다.

뇌사자에서는 요붕증이 40-80% 정도로 흔하고³⁾ 고나트륨혈증이나 저칼륨혈증이 나타날 수 있어 주의해야 한다. 필요할 경우 desmopressin을 투여하고 소변량이 300 mL/h 이상일 경우 arginine vasopressin을 0.002-0.01 IU/h로 투여한다. Donor의 수축기 혈압을 100 mmHg 이상, 소변양을 100 mL/h 이상 유지하기 위해 혈관 내 체액용적을 증가시켜야 하고, 신혈류량을 증가시키기 위해 도파민을 투여할 수 있다. 신혈관의 수축은 shock나 신적출시 발생할 수 있는데 이러한 신혈관 수축을 최소화하기 위해 적절한 약물을 donor에게 수술 전에 투여한다. Methylpred-

nisolone, phenothiazine, mannitol 등이 사용되며 수액이나 스테로이드에 반응이 없는 경우 dopamine, dobutamine, isoproterenol, epinephrine 등을 투여한다^{4,5}. 칼슘통로 차단제도 급성 신부전시에 유용하고 특히 norepinephrine이나 epinephrine을 투여한 donor에 도움이 된다. 또한 aminoglycoside계 항생제와 같은 신독성 물질의 사용을 피하고 대사성 산혈증이 있으면 교정하며 신장 혈관 내 응고를 피하기 위해 헤파린을 투여한다.

2. Cold ischemia에 의한 신손상과 치료

신장 허혈손상을 극복하는데 기본적인 방법으로 냉각방법이 이용된다. Warm ischemia에 의한 세포손상은 (Fig. 1) cold ischemia에 의한 것과 다른 면이 있는데 냉각은 대사활동을 줄이고 보존된 조직의 산소 요구량을 줄이지만 얼음 속에 저온으로 장기를 보존하는 동안에도 신진대사는 계속 진행된다. 산소요구량은 10°C에서 10%, 5°C에서 5%로 줄어드는데 신장의 표면을 냉각하는 방법은 12시간 정도 허혈손상에 견딜 수 있고⁶ 찬 보존액으로 관류 후 냉장보관하면 12-120시간 동안 보존 가능하다⁷. 그러나 냉각효과는 모든 대사과정에 일률적으로 작용하지 않으며 정상 체온에서 유지되던 metabolism이 파괴되어 세포의 항상성은 저온 보관시 정상적으로 보존되지 않는다 (Fig. 2). 냉각에 의한 각 효소 작용의 억제는 일률적이지 않은데 glycolysis나 fatty acid oxidation의 주요 효소는 불활성화 되지만 glycoliphosphate 경로는 냉각에도 영향받지 않는다⁸.

세포막을 통한 이온의 수동 이동은 영향받지 않는데 비해 Na/K ATPase나 Ca/Mg ATPase를 포함하

는 능동 이동은 영향을 받고⁹ 세포 내 pH도 유지되지 않는데 anaerobic glycolysis는 cold ischemia 시에도 진행되어 pH는 감소되게 된다. Cold ischemia 동안에 free radical은 계속 생성되고 ATP는 dephosphorylation되어 ADP로 되는데 이것이 mitochondria 내로 들어가지 못하고 xanthine으로 분해되어 세포 밖으로 나간다¹⁰. 세포막의 lipid fluidity가 감소되어 불필요한 분자가 세포 내로 유입되며 적혈구, 백혈구 및 혈소판이 신장 혈관에 응집되게 된다¹¹.

이러한 cold ischemia 동안 나타나는 항상성 변화에 따른 신손상을 예방 또는 치료하기 위하여 metabolism을 위한 에너지원으로 포도당을 관류액에 넣고 아미노산, 지방산, ATP, adenosine, phosphate 등을 첨가하기도 한다¹². 조직의 pH를 유지하기 위하여 phosphate, citrate, histidine 등을 사용하며 지속적으로 관류시키는 경우에는 bicarbonate가 사용된다. 세포의 부종을 예방하기 위하여 mannitol이나 glucose를 사용하고 고농도의 potassium과 magnesium, 저농도의 sodium이 함유된 보존액을 사용한다. 세포 내 칼슘의 유입을 방지하고 신혈류량을 증가시키기 위해 diltiazem이나 verapamil 같은 칼슘길항제를 보존액에 포함시키고^{13,14} free radical에 의한 손상을 예방하기 위해 allopurinol이나 xanthine oxidase inhibitor를 보존액에 섞거나 donor 또는 recipient에게 투여하기도 한다¹⁵.

3. 재관류에 의한 신손상과 예방

재관류시 공급되는 산소는 hypoxanthine과 반응하여 superoxide radical을 생성하는 xanthine oxidase를 활성화 시킨다. 또한 superoxide는 hydrogen per-

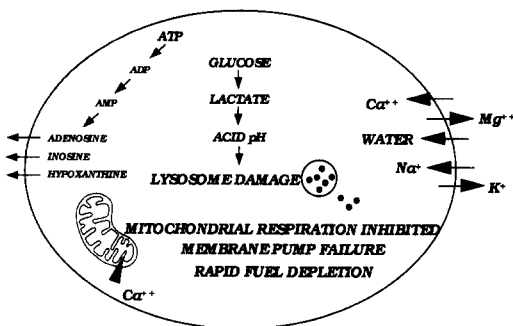


Fig. 1. Effect of warm ischemia and anoxia on renal cellular metabolism.

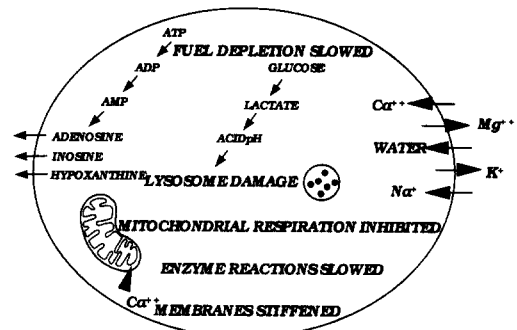


Fig. 2. Effect of cold ischemia: fuel depletion slowed, cellular homeostasis still impaired.

oxide로 변할 수 있고 hydroxy free radical을 만들게 된다. 이러한 superoxide, hydrogen peroxide, hydroxy radical은 세포막의 lipid peroxidation을 통해 세포나 미세혈관에 손상을 주게 된다 (Fig. 3). 정상적인 상태에서는 이러한 free radical을 제거하는 기전 (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase)이 활성화 되지만 장기를 냉각보존시 이들은 급격히 감소되어 세포손상을 쉽게 받게 된다. 보존액에 allopurinol, glutathione, histidine을 첨가시키고 수여자에게 superoxide dismutase, catalase, α -tocopherol 등을 미리 투여하면 이식 후 신기능 회복에 도움이 된다.

4. Preconditioning에 의한 허혈-재관류 손상의 예방과 치료

Preconditioning은 일시적인 허혈이나 고온에 노출 또는 약물의 투여로 추가 손상자극에 대한 일시적인 tolerance를 유도하는 것으로 허혈 (ischemic preconditioning)이나 고온 (hyperthermia preconditioning)에 의한 방법은 여러 가지 심리적이거나 윤리적인 문제를 안고 있으나 최근 동물실험에서 좋은 결과를 보이고 있는 약물 (pharmacologic preconditioning)에 의한 방법은 허혈이나 고온에 의한 문제점을 어느 정도 완화시키고 임상에 적용시킬 수 있는 근접한 방법이라고 생각된다. 여기서는 각 방법별로 몇 가지 유용한 연구결과들을 소개하기로 한다.

1) Ischemic preconditioning

Ischemic preconditioning은 Murry 등¹⁶⁾이 처음으로 심장의 ischemic preconditioning이 심장 근육의

경색을 의미있게 줄임을 보고한 이래 심장, 간, 소장, 뇌와 같은 장기에서 주로 연구되어 왔으며 신장에서의 연구는 많지 않다. Lee 등¹⁷⁾은 허혈-재관류 손상백서 모델에서 8분 허혈, 5분 재관류 방법을 4 cycle 시행하여 신기능의 호전을 보고하였고 보다 간단한 방법인 15분 허혈과 10분 재관류 방법이 허혈-재관류 손상이나 신장이식 후 신기능이 preconditioning을 하지 않은 군보다 좋은 것을 보고하고 신조직 내 nitric oxide의 증가가 하나의 기전으로 작용함을 보고하였다^{18, 19)}.

2) Hyperthermia preconditioning

Thermal stress에 대한 반응으로 세포를 보호하려는 단백질의 발현이 증가되는데 이를 heat shock proteins (HSP)라 부른다²⁰⁾. Hyperthermia preconditioning은 고온에 노출시켜 이러한 HSP의 발현을 증가시킴으로서 허혈-재관류 손상으로부터 조직손상을 예방하려는 것이다. Preconditioning 방법으로 체온을 42°C에서 20분간 유지시키는데²¹⁾ 이때 HSP72나 HSP32 등이 증가하여 허혈-재관류 신손상 모델이나 신이식 모델에서 신기능이나 형태학적 손상을 줄이고 이식 후 생존율을 높일 수 있다²²⁻²⁴⁾.

3) Pharmacologic preconditioning

약물에 의한 preconditioning은 전술한 두 가지 방법보다 간편하고 안전하며 현재까지 주로 연구된 약물은 신이식 후 면역억제제로 널리 사용되는 cyclosporine A (CsA), FK506, prednisolone, mycophenolate mofetil 등이 있다. CsA나 FK506과 같은 약물은 신장이식에서 사용시 신독성이 문제가 되나 허혈손상 전에 단 한번만의 투여로 신기능의 변화 없이 조직세포의 tolerance를 유도할 수 있다.

Sakr 등²⁵⁾은 허혈-재관류 손상 모델에서 허혈 손상 전에 소량의 FK506을 투여하면 신기능을 호전시킬 수 있으며 기전으로 tumor necrosis factor의 생성을 억제하는 것으로 설명하였으며 Yang 등²⁶⁾은 HSP70의 유도가 그 기전이라고 설명하였다. 또한 CsA와 FK506은 신장 근위세뇨관 세포막의 콜레스테롤을 증가시키는 것으로 알려졌는데 이러한 증가는 여러 스트레스에 대한 세포저항을 증대시키는 것으로 알려져 있다²⁷⁾. Choi 등²⁸⁾은 신장이식 모델에서 donor 신장 적출 24시간 전에 donor에 FK506을 투여하여 preconditioning 시킨 후 신장이식을 하면 이식 신 기능을 향상시키고 (Fig. 4) 조직학적인 손상도 줄

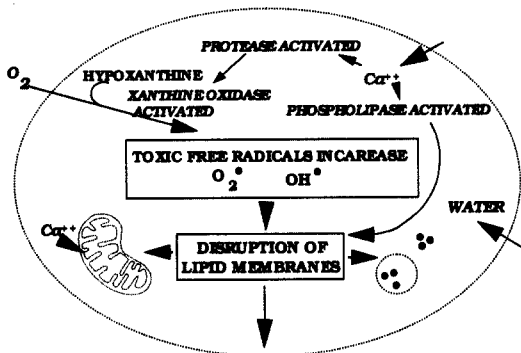


Fig. 3. Free radical production causing reperfusion damage after ischemia.

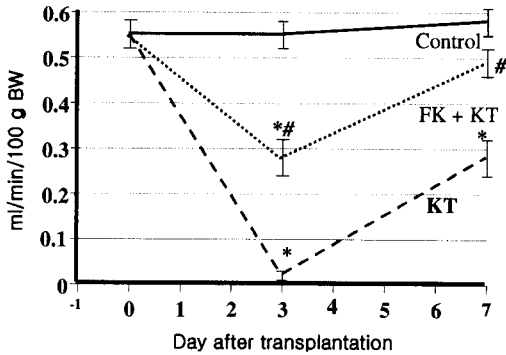


Fig. 4. GFR in each group, preconditioning with FK506 significantly improved renal function. * $p < 0.05$ vs control; # $p < 0.05$ vs KT.

어느 것을 보고하였고 이식신 근위세뇨관 세포막에서 FK506에 의한 콜레스테롤 증가가 그 기전이라고 설명하였다. 또한 cobalt-protoporphyrin으로 preconditioning 시키면 heme oxygenase-1을 발현시켜 손상이나 apoptosis로부터 세포를 보호할 수 있다²⁹⁾.

4) 기타 약물의 투여에 의한 허혈-재관류 손상의 예방과 치료

허혈-재관류 손상 모델에서 endothelin receptor antagonist인 tezosentan³⁰⁾이나 nitric oxide donor인 molsidomine을 투여³¹⁾시 신기능의 감소를 줄일 수 있고 Dobashi 등³²⁾은 N-acetylcysteine (antioxidant), sodium nitroprusside (nitric oxide donor), phosphoramidon (endothelin converting enzyme inhibitor)을 병합투여시 신손상을 호전시킬 수 있다고 하였다.

신이식 모델에서는 이식 전에 donor에 ICAM-1 antisense oligodesoxynucleotides를 투여하거나³³⁾ FTY 720과 병합 투여³⁴⁾시 또는 보존액에 polyethylene glycol을 첨가하여 관류시킨 후 이식시 신기능의 호전을 가져올 수 있다³⁵⁾.

참 고 문 헌

- 1) Troppmann C, Gillingham KJ, Benedetti E, Almond PS, Gruessner RW, Najarian JS, Matas AJ: Delayed graft function, acute rejection, and outcome after cadaver renal transplantation: a multivariate analysis. *Transplantation* 59:962-968, 1995
- 2) Chertow GM, Milford EL, Mackenzie HS, Bren-

- ner BM: Antigen-independent determinants of cadaveric kidney transplant failure. *JAMA* 276: 1732-1736, 1996
- 3) Wijnen RM, van der Linden CJ: Donor treatment after pronouncement of brain death: a neglected intensive care problem. *Transplant Int* 4:186-190, 1991
- 4) Collins GM, Green RD, Boyer D, Halasz NA: Protection of kidneys from warm ischemic injury: dosage and timing of mannitol administration. *Transplantation* 29:83-84, 1980
- 5) Pentlow BD, Kostakis AJ, Wall WJ: Preservation of ischemically injured canine kidneys with hypertonic citrate solution. *Transplantation* 27:99-101, 1979
- 6) Collins GM, Bravo-Shugaman M, Tarasaki PI: Kidney preservation for transportation: initial perfusion and 30 hours' ice storage. *Lancet* 2: 1219-1222, 1969
- 7) Marshall VC, Howden BO, Thomas AC, Baxter K, Wilson N, Kumar A, Jablonski P: Extended preservation of dog kidneys with modified UW solution. *Transplant Proc* 23:2366-2367, 1991
- 8) Lundstam S, Claes G, Jonsson O, Pettersson S, Schersten T: metabolism in the hypothermally perfused kidney: production and utilization of lactate and utilization of acetate in the dog kidney. *Eur Surg Res* 8:300-310, 1976
- 9) Leaf A: Maintenance of concentration gradients and regulation of cell volume. *Ann NY Acad Sci* 72:396, 1959
- 10) Southard JH, Senzig KA, Belzer FO: Effects of hypothermia on canine kidney mitochondria. *Cryobiology* 17:148-153, 1980
- 11) Chapman D: Phase transitions and fluidity characteristics of lipids and cell membranes. *Q Rev Biophys* 8:185-235, 1975
- 12) Biguzas M, Jablonski P, Howden BO, Thomas AC, Walls K, Scott DF, Marshall VC: Evaluation of UW solution in rat kidney preservation: II. the effect of pharmacological additives. *Transplantation* 49:1051-1055, 1990
- 13) Wagner K, Neumayer HH: Influence of the calcium antagonist diltiazem on delayed graft function in cadaveric kidney transplantation: result of a 6-month follow up. *Transplant Proc* 19:1353-1357, 1987
- 14) Puig JM, Lloveras J, Oliveras A, Costa A, Aubia J, Masramon J: Usefulness of diltiazem in reducing the incidence of acute tubular necrosis in Euro-Collins-preserved cadaveric renal graft. *Transplant Proc* 23:2368-2369, 1991

- 15) Winchell RJ, Halasz NA :Lack of effect of oxygen-radical scavenging system in the preserved reperfused rabbit kidney. *Transplantation* **48**:393-396, 1989
- 16) Murry CE, Jennings RB, Reimer KA :Preconditioning with ischemia : a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* **74**: 1124-1136, 1986
- 17) Lee HT, Emala CW :Protective effect of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment :Role of A1 and A3 receptors. *Am J Physiol* **278**:F380-F387, 2000
- 18) Riera M, Herrero I, Torras J, Cruzado JM, Fatjo M, Lloberas N, Alsina J, Grinyo JM :Ischemic preconditioning improves post-ischemic acute renal failure. *Transplant Proc* **31**:2346-2347, 1999
- 19) Torras J, Herrero-Frenseda I, Lloberas N, Riera M, Ma Cruzado J, Ma Grinyo J :Promising effects of ischemic preconditioning in renal transplantation. *Kidney Int* **61**:2218-2227, 2002
- 20) Lindquist S :The heat-shock response. *Annu Rev Biochem* **55**:1151-1191, 1986
- 21) Wagner ACC, Weber H, Jonas L, Nizze H, Strowski M, Fiedler F, Printz H, Steffen H, Goke B :Hyperthermia induced heat shock protein expression and protection against cerulin-induced pancreatitis in rats. *Gastroenterology* **111**:1333-1342, 1996
- 22) Perdrizet GA, Kaneko H, Buckley TM, Fishman MA, Schweizer RT :Heat shock protects pig kidneys against warm ischemic injury. *Transplant Proc* **22**:460-461, 1990
- 23) Perdrizet GA, Kaneko H, Buckley TM, Fishman MS, Pleau M, Bow L, Schweizer RT :Heat shock and recovery protects renal allografts from warm ischemic injury and enhances HSP72 production. *Transplant Proc* **25**:1670-1673, 1993
- 24) Redaelli CA, Tien YH, Kubulus D, Mazzucchelli L, Schilling MK, Wagner AC :Hyperthermia preconditioning induces renal heat shock protein expression, improves cold ischemia tolerance, kidney graft function and survival in rats. *Nephron* **90**:489-497, 2002
- 25) Sakr M, Zetti G, McClain C, Gavalier J, Nalesnik M, Todo Satoru, Starzl T, Thiel DV :The protective effect of FK506 pretreatment against renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Transplantation* **53**:987-991, 1992
- 26) Yang CW, Ahn HJ, Han HJ, Kim WY, Li C, Shin MJ, Kim SK, Park JH, Kim YS, Moon IS, Bang BK :Pharmacological preconditioning with low-dose cyclosporine or FK506 reduces subsequent ischemia/reperfusion injury in rat kidney. *Transplantation* **72**:1753-1759, 2001
- 27) Zager RA, Andoh TF, Bennett WM :Renal cholesterol accumulation :A durable response after acute and subacute renal insults. *Am J Pathol* **159**:743-752, 2001
- 28) Choi SO, Bennett WM, Valente JF, Andoh TF :Preconditioning of donors with tacrolimus improved organ quality and function after kidney transplantation. (abstract) *J Am Soc Nephrol* **13**:358A, 2002
- 29) Tullius SG, Nieminen-Kelha M, Buelow R, Reutzel-Selke A, Martins PN, Pratschke J, Bachmann U, Lehmann M, Southard D, Iler S, Schmidbauer G, Sawitzki B, Reinke P, Neuhaus P, Volk HD :Inhibition of ischemia/reperfusion injury and chronic graft deterioration by a single-donor treatment with cobalt-protoporphyrin for the induction of heme oxygenase-1. *Transplantation* **74**:591-598, 2002
- 30) Wilhelm SM, Stowe NT, Robinson AV, Schulak JA :The use of the endothelin receptor antagonist, tezosentan before or after renal ischemia protects renal function. *Transplantation* **27**:211-216, 2001
- 31) Ozturk H, Aldemir M, Buyukbayram H, Dokucu AI, Otcu S :The effect of the nitric oxide donor molsidomine prevent in warm ischemia-reperfusion injury of the rat renal-- a functional and histopathological study. *Int Urol Nephrol* **32**: 601-607, 2001
- 32) Dobashi K, Singh I, Orak JK, Asayama K, Singh AK :Combination therapy of N-acetylcysteine, sodium nitroprusside and phosphoramidon attenuates ischemia-reperfusion injury in rat kidney. *Mol Cell Biochem* **240**:9-17, 2002
- 33) Dragun D, Tullius SG, Park JK, Maasch C, Lukitsch I, Lippoldt A, Gross V, Luft FC, Haller H :ICAM-1 antisense oligodeoxynucleotides prevent reperfusion injury and enhance immediate graft function in renal transplantation. *Kidney Int* **54**:590-602, 1998
- 34) Ortiz AM, Troncoso P, Kahan BD :Prevention of renal ischemic reperfusion injury using FTY 720 and ICAM-1 antisense oligonucleotides. *Transplant Proc* **35**:1571-1574, 2003
- 35) Huet T, Goujon JM, Baumert H, Petit I, Carreterier M, Eugene M, Vandewalle A :Polyethylene glycol reduces the inflammatory injury due to cold ischemia/reperfusion in autotransplanted pig kidneys. *Kidney Int* **62**:654-667, 2002