

흰쥐의 心臟을 利用한 Modified Isolated Working Heart Perfusion Technique

李 鍾 國* · 崔 亨 鎬*

- Abstract -

Perfusion Techniques using the Modified Isolated Working Rat Heart Model

Chong Kook Lee, M.D.,* Hyung Ho Choi, M.D.*

We have modified an isolated perfusion rat heart model of cardiopulmonary bypass, with which we are able to screen the effects of various cardioplegic solutions and hypothermia upon the ability of the heart to survive during and recover from period of ischemic arrest.

The modified experimental model was differed from the original as follow: a heat coil chamber of atrial and aortic reservoir provided temperature control, and the perfusate was gassed with each pure oxygen and pure carbon dioxide in 95:5 ratio.

The Langendorff perfusion was initiated for a 10 minute period by introducing perfusate at 37°C into the aorta from the aortic reservoir located 100 cm above the heart. The isolated perfused working rat heart model was a left heart preparation in which oxygenated perfusion medium (at 37°C) entered the cannulated left atrium at a pressure of 20 cm H₂O and was passed to the ventricle, from which it was spontaneously ejected (no electrical pacing) via an aortic cannula, against a hydrostatic pressure of 100 cm H₂O. During this working period various indices of cardiac function were measured. The cardiac functions were stable for over 3 hour with perfusion of Krebs-Henseleit bicarbonate buffer solution containing only glucose (11.1 mM/L). The percentage of cardiac functions were maintained about 94% on heart rate, 80.6% on peak aortic pressure, 87.7% on coronary flow and 76.3% on aortic flow rate after 3 hour of working heart perfusion at a pressure of 20 cm H₂O.

We believe this preparation to be a good biochemical model for the human heart which offers many advantages including economic, speed of preparation, reproducibility, and the ability to handle large numbers.

I. 緒 論

開心術時에 心臟保護를 위해 많은 保護法이 강구되어 왔으며, 최근에는 cardioplegic solution 및 局所冷却法을 併用 利用하므로써 좋은 手術成績을 얻고 있다. 그러나 心臟外科에서 使用하고 있는 cardioplegic solution의 組成이나 低溫法은 나라와 병원에 따라 다르

* 朝鮮大學校 醫科大學 胸部外科學教室

* Dept. of Thoracic and Cardiovascular Surgery Chosun University Hospital

며, 제각기의 優秀性을 주장하고 있어서 모두가 贊成하는 완벽한 心臟保護를 얻을 수 있는 cardioplegic solution이나 보조方法이 아직 開發되지 않은 실정이다. 어떤 cardioplegic solution이나 局所冷却法이 心臟保護에 얼마만큼의 效果를 가지고 있는가를 評價하기 위해서는 많은 實驗의 검토를 거쳐야만 한다.

實驗評價를 위해 대체로 잠중견의 心臟이 人間心臟을 대신한 유용한 實驗대상이 될 수 있으나 數的인 문제와 경제적 문제뿐 아니라 체외순환 時間의 難異性으로 짧은 시간에 많은 實驗을 할 수 없는 단점이 있다⁹⁾. 이에 흰쥐의 摘出心을 利用한 實驗模型을 利用하므로써 操作

및 體外循環의 간헐성뿐 아니라 經濟的이며 그 結果의 再現性이 용이하여 단시간에 大量 實驗이 가능하므로 원래의 心臟을 利用한 體外循環 實驗模型이 人間 心臟의 좋은 biochemical model 이 될 수 있으며, 各 心筋保護法이 얼마만큼 效果가 있는가를 心臟의 機能的, 酵素的, 生化學的 및 構造的인 변화에 대한 評價가 모두 가능하므로 本 教室에서는 원래의 摘出心을 利用한 實驗模型을 간단하게 변형 조립하여 心筋保護效果에 관한 評價方法으로 利用할 수 있나를 검토하였다.

II. 實驗材料 및 方法

A. 實驗材料

本 實驗에서는 숫놈 흰쥐(sprague-Dawley strain)의 무게는 190에서 320 gram짜리를 利用하였으며 實驗前 약 4時間정도 絶食시켰다. 경한 ether 점적 마취하에 대퇴정맥내로 Heparin(5 mg)을 주사한 후 정중개흉술에 의한 心臟摘出 즉시 4°C의 생리 식염수에 담구어 心搏動이 소실되면(약 2分 경과) Krebs-Hen-seleit 중화용액으로 충전된 회로의 大動脈 插入管을 흰쥐의 大動脈에 약 5 mm 정도 插入한 후 大動脈을 결찰하며 곧 Langendorff 의 역류순환(100 cm H₂O 壓)을 心臟上方 100 cm 높이의 大動脈 貯藏槽 (Aortic Reservoir)로부터 약 10分間 실시함으로써 心臟機能을 anoxia로부터 回復시키고 心臟血管內的 모든 血液成分을 제거하며 이 시기에 肺臟 및 기타 주의組織을 결찰하여 제거하고 左心房內에 左心房管을 插入한다.

B. 實驗方法

1. 實驗模型(The Experimental Model)

本 實驗에 利用한 흰쥐 心臟의 체외순환 회로는 Langendorff에 의해 고안된 非作業性 心臟循環系(non-working Langendorff perfusion system)와 Neeley^{1,2)}에 의해 고안된 作業性 心臟循環系(working heart perfusion system)의 원리를 동시에 利用하여 설계하였다. Langendorff의 非作業性 心臟循環은 心臟上方 100 cm 높이의 大動脈 貯藏槽에서 100 cm 水壓으로 大動脈內로 역류순환되는 회로로서, 역류순환에 의한 冠灌流에 의해 心臟機能이 유지되지만 左心室을 통한 心搏出이 없으므로 非作業性 心臟循環이라 한다. 이 回路의 循環은 摘出心臟을 大動脈插管한 직후 약 10分間 配素缺乏에 대한 心臟回復을 目的으로 실시하며, 인위적으로 ischemic arrest를 誘發시킨 후에도 利用한다. 또 作業性 心臟循環時 心機能이 不良할 경우에도 再次 Langendorff 循環을 시켜 心臟機能이 回復될 때 까지 보조적인 心機能 回復方法으로 利用한다.

a. Langendorff 循環模型의 部位別 機能

(1) 大動脈貯藏槽은 37°C의 灌流液이 100 cm 水壓으로 大動脈內에 역류순환될 수 있는 灌流液의 저장槽으로써, 本 實驗에서는 Shiley 회사의 인공산화기(oxygenator S-100A)의 열교환장치 部分만을 使用하여 제작하였으므로 大動脈貯藏槽內에서 독자적인 酸化 및 加溫이 동시에 가능하며, 자동수위조절장치(constant head device) 및 犯濫回路(overflow system)를 부설시켜 一定壓(100 cm H₂O 壓)이 계속 유지될 수 있도록 하였다.

(2) Aortic Pressure Chamber(Elasticity Chamber)

心臟의 약 20 cm 上方에 위치되는 室房(chamber)으로 이 房內에 1/3 정도가 공기(1 ml)로 차여 있다. 大動脈貯藏槽에서 灌流液이 100 cm 水壓으로 역류순환될 때 이 Aortic Pressure Chamber內에서 彈性을 얻어 순환시키므로 elasticity chamber라고도 한다. 또 作業性 心臟循環에서는 左心房을 통해 左心室로 流入된 灌流液이 大動脈으로 擄出될 때 단단한 회로로부터 받는 저항에 대한 彈性을 제공함으로써 心室收縮期의 心筋損傷도 방지할 수 있다. 이 房에 의해 非作業性 및 作業性 心臟循環時에 정상 上行大動脈의 압력곡선 모양과 비슷한 重搏性 切痕(dicrotic notch)을 포함한 압력곡선을 얻을 수 있었으나 이 方法에 의한 이완 기압은 다소 낮았으며 反面에 冠灌流量은 충분하였다.

(3) 大動脈插入管

Heart chamber의 윗부분(male portion)에 大動脈插入管과 左心房管을 고정시켰으며 大動脈 插入管은 금속관(13 Gauge)으로 결찰이 용이하도록 홈이 파여져 있다.

(4) Heart Chamber

摘出心을 大動脈插入管에 고정한 후 心臟이 계속 일정한 溫度下에서 搏動하게끔 주위에 water Jacket을 설치하여 加溫에 利用하였으며 冠灌流液이 肺動脈 기시부의 裂傷部位를 통해 heart chamber內로 流出될 때 이것을 모아 冠灌流量이라 하였으며, 이것을 測定하여 配素的 檢査에 利用하였다.

b. Neeley의 作業性 心臟循環 回路의 部位別 機能

(1) 心房貯藏槽(Atrial Reservoir)

大動脈貯藏槽과 같은 模型으로서, 灌流液의 酸化 및 加溫을 위한 보조 저장조로 酸化 및 加溫된 灌流液은 펌프를 통해 atrial bubble trap內로 계속 循環되며 필요시 재순환회로를 利用하여 大動脈貯藏槽으로도 循環시킬 수 있다.

(2) Atrial bubble trap

作業性 心臟循環에서 20 cm H₂O 壓으로 左心房內로

灌流될 수 있도록 心臟 上方 20 cm 높이에 설치되어 있으며 心房貯藏槽로부터 펌프에 의해 계속 일정량이 공급되고 大動脈貯藏槽에서 넘치는 灌流液도 이곳으로 流入되도록 고안되었으며 또한 20 cm H₂O 壓 以上일 경우에는 心房貯藏槽로 流出될 수 있도록 범람회로를 설치하므로써 항상 일정압으로 左心房内 灌流될 수 있도록 하였다^{1,4,6,8)}.

(3) 左心房管

Atrial bubble trap 内の 灌流液을 左心房内에 流入시키기 위해 6 French Polyethylene 管을 利用하였으며 左心房管을 左心房内 고정시 탄력성을 고려하여 금속관을 利用하지 않았다.

(4) Aortic bubble trap

作業性 心臟循環系에서 左心房을 통해 左心室内로 流入된 灌流液이 大動脈으로 搏出될 때, Aortic pressure chamber 를 통과하여 彈性을 얻은 후 心臟 上方

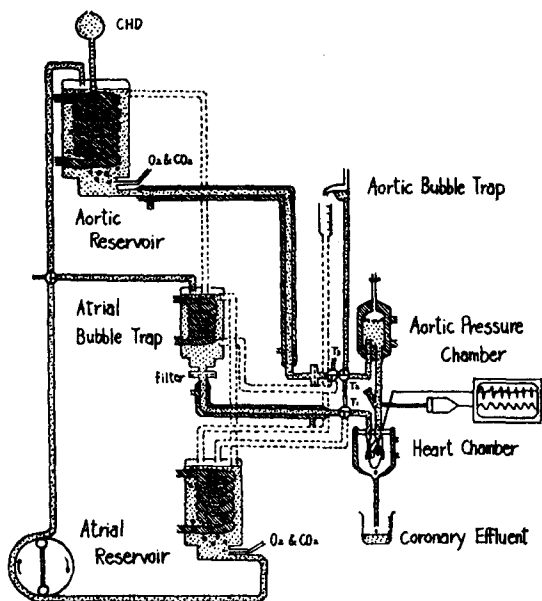


Fig. 1. Modified isolated working heart model(Chosun Univ. Hosp.).

The rat heart was cannulated via the left atrium and aorta and maintained in a thermostatically controlled chamber(Heart chamber). In Langendorff perfusion, T₁ was opened and, T₂ closed on the side of aortic bubble trap, perfusion fluid entered the heart via the aorta from the aortic reservoir located 100 cm. above the heart. Aortic reservoir which was the thermostatically maintained oxygenator, carried out a perfusate to aorta at a pressure of 100 cmH₂O maintained with the use of constant head device(CHD). In the working model, taps T₁ and T₂ were open and perfusion fluid entered the heart via the left atrium from an atrial bubble trap located 20 cm. above the heart. The left ventricle ejected perfusate via the aorta and an elasticity chamber(Aortic pressure chamber) against a 100 cm H₂O hydrostatic pressure to the aortic bubble trap. The overflow of the aortic bubble trap is aortic flow rate. The perfusion fluid was reoxygenated in the thermostatically maintained oxygenator(Atrial reservoir) and returned via a roller pump to the atrial bubble trap and aortic reservoir. The coronary perfusate exited into the heart chamber and was collected for measurement of coronary flow rate. EKG and aortic pressure were monitored by EKG lead and a pressure transducer. The entire apparatus was thermostatically maintained by water jacketing and coil heat chamber at the temperature required for the studies. Simulated bypass with ischemic arrest would be achieved by closing taps T₁, T₂ and T₃. Infusion of cardioplegic solution would be achieved via injection cap above aortic cannula.

100 cm 높이의 Aortic bubble trap으로 tygon 管을 통해 搏出되며, 이때 100 cm H₂O 壓 以上되어 넘치는 灌流液을 모아 大動脈搏出量이라 하며 左心房貯藏槽로 再循環시킨다.

c. 기 타

(1) 循環回路

大動脈貯藏槽와 Atrial bubble trap에서 心臟으로 灌流는 1/8 인치 tygon 管을 利用하며, 加溫된 灌流液의 통과시에 적정온도를 유지하기 위해 주위에 water Jacket 을 부착시켰다.

(2) Water Jacket 및 Heart coil chamber

灌流液이 항상 37°C로 유지될 수 있게 하기 위해 大動脈貯藏槽, Atrial bubble trap 및 左心房貯藏槽의 内部에 Heat coil 을 설치하였으며 순환회로, Aortic pressure chamber 및 heart chamber 의 주위에 water jacket 을 부착시키므로써 모든 灌流液의 일정한 溫度조절이 가능하였다.

(3) 循環 펌프

心房貯藏槽에서 Atrial bubble trap 内로 灌流液을 일정하게 계속적으로 공급시키기 위해 순환이 가능한 roller 型 펌프(Travenol Blood Pump)를 利用하였다.

(4) 2 Channel monitor

心臟의 機能을 測定하기 위해 Heart chamber의 윗 周圍에 소형 lead(Ⅲ)를 부착하여 심전도 및 心搏動數를 얻을 수 있었으며 大動脈插入管 上方에 Y-管을 使用하여 pressure transducer를 설치하므로써 心臟의 압력곡선을 얻을 수 있게 하였다(圖 2, 3).

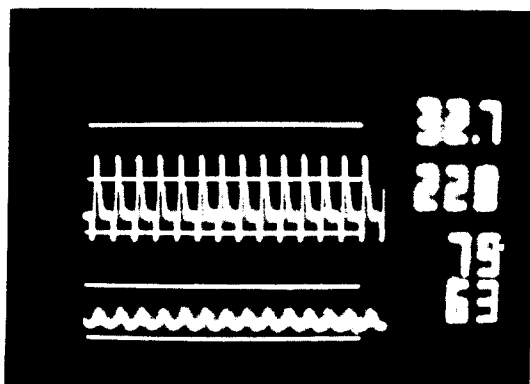


Fig. 1. EKG and aortic pressure pattern during Langendorff perfusion(100 cm H₂O). Values are temperature in heart chamber(32.7°C), heart rate(228 beats/min.), systolic and diastolic pressure(79/63 mmHg).

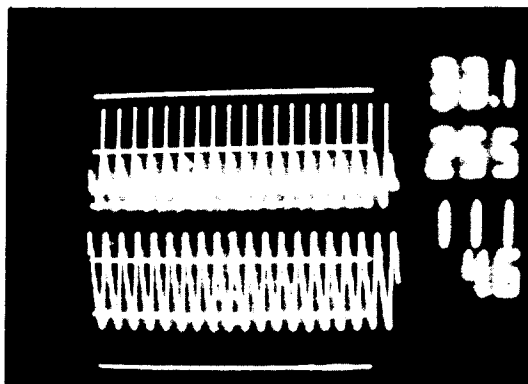


Fig. 2. EKG and aortic pressure pattern during left atrial working heart perfusion (20 cm H₂O). Values are temperature in heart chamber(33.1°C), heart rate (255 beats/min.), systolic and diastolic pressure(111/46 mmHg).

(5) 필터(filter)

灌流液内的 침전물을 제거하기 위해 本 實驗에서는 20 ~ 40μ 필터를 使用하여 灌流液을 回路内에 추진하였으며, 大動脈貯藏槽와 Atrial bubble trap에서 心臟으로 流入되는 回路의 中間에도 각각 같은 크기의 필터를 부착시켜 칼슘 침전물 및 변성 단백질 제거를 도모하였다.

2. 灌流液

a. 組成

本 實驗 循環에 利用한 灌流液은 modified Krebs Henseleit bicarbonate 중화 용액을 利用하였으며 포도당 11.1 mM/L을 첨가시켰다^{3,7,21}. 灌流液의 세부 組成은 表 1과 같다(表 1).

Table 1. The composition of modified Krebs-Henseleit bicarbonate buffer solution

Components	mM/L
NaCl	118.0
KCl	4.7
CaCl ₂ · 2H ₂ O	2.5
MgSO ₄ · 7H ₂ O	1.2
KH ₂ PO ₄	1.2
Na · EDTA	0.5
NaHCO ₃	25.0
Glucose	11.1

b. 酸化 및 加溫

Modified Krebs-Henseleit 中화 용액을 灌流시키

기 전에, 回路內의 大動脈貯藏槽와 心房貯藏槽內에서 95 : 5의 비율로 100% 농도의 산소와 탄산가스를 혼합 주입시켜 pH가 7.4 및 酸素分壓이 500 mmHg 以上되게 유지시키며, 本實驗에서는 分當 酸素 2 liter 및 탄산가스 80 ~ 100 ml 를 혼합주입한 결과 pH는 7.42 ± 0.04, PO₂ 500 mmHg 以上 및 PCO₂ 32.2 mmHg 정도였다(血液 가스 分析器 IL micro 13, IL Co.). 한편 灌流液의 溫度가 항상 37°C 를 유지하기 위해 heat coil chamber 및 water jacket 內에, Blanketrol 열교환기(Cincinnati, Ohio)를 利用하여 40°C 물이 계속 循環되게 하므로써 心臟에 직접 灌流되는 溶液의 溫度가 약 37°C 가 되도록 하였다.

c. 再循環 및 여과

本實驗模型의 回路內에 Krebs-Henseleit 중화 용액을 처음 충전시 약 1,000 ml 정도 使用하였으며 心房貯藏槽의 心臟을 抽出하기 직전까지 灌流液을 roller 型 펌프 및 범함피로를 利用하여 계속 循環시키므로써 全回路內의 灌流液 酸化 및 加溫이 일정하게 되며 實驗中에도 Langendorff 循環時에는 心房貯藏槽에서 roller 펌프에 의해 再循環回路를 통해 계속 灌流液이 혼합되며 作業性 心臟循環時에는 大動脈貯藏槽 및 心房貯藏槽에서 Atrial bubble trap 內로 균등한 灌流液이 공급되게 한다. 한편, Heart chamber 內로 流入된 冠灌流量도 本實驗에서는 再循環에 利用하지 않고 大動脈 搏出量만 心房貯藏槽內로 再循環되게 하여 利用하였다. 冠灌流量만큼 손실된 순환회로內의 灌流液은 계속 새로운 Krebs-Henseleit 중화 용액으로 대체하였다.

3. 徑時的 實驗過程(Experimental Time Course)

開胸하여 즉시 心臟을 抽出해낸 다음 4°C 생리식염수에 담구어 心搏動이 소실되면 大動脈插管을 하여 미리 酸化 및 加溫된 灌流液을 바로 Langendorff 循環시키며 약 10 분정도 역류순환에 의한 冠灌流로 心臟內의 血液成分 제거 및 細胞間質內의 溶液質과 灌流液의 其質농도가 평형되게 하며, 左心房插管도 이 時期에 실시한다. 插管時에는 공기색전을 방지하기 위해 插管時에 各管에서 灌流液이 點滴되게 한다. 또한 Langendorff 순환시 心機能 測定인 心搏動數, 最大 大動脈 收縮期壓, 冠灌流量의 成績値를 일정간격으로 구한다. 이때의 循環은 大動脈 貯藏槽에서 灌流液이 100 cm H₂O 壓으로 1/8 인치 tygon 管 및 Aortic pressure chamber 를 통과한 후 大動脈으로 역류순환되며 第1圖의 Trap T₂ 의 Aortic bubble trap 쪽을 폐쇄시킨다. 그 후 10 分 뒤 作業性 心臟循環을 시키기 위해 Langendorff 循環을 차단(圖 1, T₃ 차단)함과 동시에 左心房 灌流(T₁, T₂ 개통)를 Atrial bubble trap에서 20

cm H₂O 壓으로 유지시키므로써 抽出心이 作業性 心臟循環이 되게 하며, 이때 大動脈으로 灌流量이 搏出된다. 本實驗의 순환방법으로 어느정도 心機能을 유지할 수 있나를 測定하기 위해 매 일정간격으로 心搏動數, 最大 大動脈 收縮期壓, 冠灌流量 및 大動脈 搏出量을 구한다. 本實驗에서는 左心房灌流를 180 分間 실시하였고 그후 乾燥重량을 測定하기 위해 回路에서 心臟을 빼어낸다.

4. 心臟乾燥重량 測定

心臟組織內의 부종과 잔류관류액의 存在 가능성 때문에 冠灌流量과 大動脈 搏出量의 成績結果를 gram 當단위로 환산하기 위해 心臟을 回路에서 제거한 후 건조기內에서 12 時間 乾燥시킨 후 Vacuo 內에서 냉각시켜 乾燥重량을 測定하였다.

5. 實驗模型의 소독法

실험도중 再循環된 灌流液에 의한 단백질 제거와 멸균을 위해 回路 使用後에 2% NaOH 용액 및 과산화수소로 세척한 후 100°C 끓인 증류수로 여러차례 씻어낸 후 증류수를 충전시켜두었다가 다음 실험직전에 새로 끓인 증류수로 세척한 후 灌流液을 충전시킨다.

III. 觀 察 成 績

本實驗에서는 心房貯藏槽의 抽出心을 10 分間 Langendorff 循環시킨 후 약 180 分間 左心房 灌流시킴으로써 作業性 心臟循環을 실시하였는데, 本實驗模型 및 灌流液을 利用할 경우, 各 cardioplegic solution 및 低溫法을 실시했을 때 心筋保護에 어느정도 效果가 있나를 비교, 검토할 수 있는지 여부를 결정하기 위해 실시한 實驗으로 다음과 같은 좋은 成績을 얻었다(表 2).

A. 心搏動數

Langendorff 循環時 10 分値는 分當 282 ± 12 회였으며 作業性 心臟循環時 첫 10 分은 268 ± 10 회, 60 分은 261 ± 10 회, 120 分은 258 ± 10 회 및 180 分은 252 ± 10 회로서 本實驗 回路 및 灌流液으로 매우 안정된 心搏動을 얻을 수 있었다.

B. 最大 大動脈 收縮期壓

左心房灌流壓을 20 cm H₂O 壓으로 일정하게 유지시키므로써 最大 大動脈 收縮期壓은 作業性 心臟循環 첫 10 分은 119 ± 4 mmHg, 60 分은 110 ± 4, 120 分은 104 ± 4 및 180 分은 96 ± 6 mmHg 로서 약 3 시간 동안 76.3%의 안정성을 보여주었다.

C. 冠灌流量

冠灌流量은 分當 단위를 心臟 건조 중량 그램 當으로

Table II. Effect of time on the performance of modified isolated working heart preparation.

Determination	Langendorff perfusion (min.)					
	Left atrial working heart perfusion (min.)					
	10	10	30	60	120	180
Heart rate (beats/min.)	282 ± 12	268 ± 10	265 ± 10	261 ± 10	258 ± 10	252 ± 10
Peak aortic pressure (mmHg)	72 ± 3	119 ± 4	114 ± 4	110 ± 4	104 ± 4	96 ± 6
Coronary flow (ml/min./gm. dry wt.)	64.7 ± 3.72	64.2 ± 4.68	62.8 ± 3.10	61.4 ± 4.68	58.9 ± 2.95	56.3 ± 2.95
Aortic flow (ml/min./gm. dry wt.)		102.7 ± 5.6	38.5 ± 5.5	95.6 ± 5.3	85.9 ± 5.8	78.4 ± 5.9

Values are means ± SE. Hearts were perfused with Krebs-Henseleit buffer solution containing 11.1 mM/L glucose at 20 cmH₂O left atrial perfusion pressure and 100 cmH₂O Langendorff perfusion pressure. Fifteen hearts were perfused. The average of dry heart weight was 0.22gm.

환산하여 ml/min/gram dry weight 로 표시하였으며 Langendorff 순환 10 分値는 64.7 ± 3.72 ml/min/gram dry weight 였으며 作業性 心臟循環 10 分은 64.2 ± 4.68, 60 分은 61.4 ± 4.68, 120 分은 58.9 ± 2.95 및 180 分은 56.3 ± 2.95 로서 매우 일정하였다.

D. 大動脈 搏出量

20 cm H₂O 壓으로 左心房 灌流시켜 100 cm 水壓에 해당하는 높이의 Aortic bubble trap 을 넘쳐흐른 관류액을 모아 그 양을 分當 건조중량으로 환산하여 ml/min/gram dry weight 로 표시하였다. 本 實驗에서는 各 실험개체별로는 分當 약 20 ~ 30 ml 정도 搏出되었으며 건조중량환산時 첫 10 分은 102.7 ± 5.6 ml/min/gm dry wt, 60 分은 95.6 ± 5.3, 120 分은 85.9 ± 5.8 및 180 分은 78.4 ± 5.9 이었다.

IV. 考 按

心筋保護法들의 效果에 관한 실험적 評價方法으로서 는 다양한 실험 동물을 利用한 실험回路가 보고되고 있다. 이들 실험方法들의 心筋保護效果를 평가하기 위해서는 術後의 心機能의 變化인 Cardiac Index, 心搏動數, 左心室이완기 말기壓(LVEDP) 및 心室壓의 First time derivative(dp/dt) 등의 測定과 術後 Cathecolamine 使用여부 및 心電圖의 變化, 心筋代謝에 의한 酸素, 心筋소소 소비량(MVO₂) 心筋脂質 및 糖代謝測定 등이 있으며 最近에는 血清酵素學的 評價인 CPK 및 CPK-MB isoenzyme, Lactic dehydrogenase 및 GOT 등의 測定도 利用되며 電子顯微鏡上으로는 型態學的 조직變化에 관한 檢査와 동위원소를 利用한 心筋 血流分布 관찰등을 들 수 있다. 本 modified isolated

working heart model 을 利用한 경우 각종 Cardioplegic solution 과 심근의 다양한 온도변화를 얻을 수 있을 뿐 아니라 Ischemic arrest 유발의 용이성을 들 수 있으며 앞의 심근보호 평가방법인 모든 측정법들을 실시할 수도 있다. 그뿐아니라 本 實驗회로는 경제적이며 그 結果의 再現성이 용이하며 단시간에 대량 실험이 가능하기도 하나¹⁸⁾ Langendorff 순환時에는 대동맥內로 역류 순환에 의한 冠灌流만 可能하므로 左心室內에서 心搏出이 없으므로 非作業性 心臟循環로서의 기능만 유지될 뿐이다. 그러나 左心房內에서도 Thebesian Vein 이나 대동맥 관막의 유출을 통해 들어온 灌流液이 1 分에 약 1 ~ 6 ml 정도 搏出된다고 하였다¹⁾. Langendorff 의 역류순환은 대부분에서 100 cm H₂O 壓으로 利用하였으며^{11~18)}, 本 實驗회로서도 같은 양을 유지하였다. Neely¹⁾에 의하면 Langendorff 순환壓을 40 mmHg 에서 120 mmHg 로 올리면, 冠灌流量은 약 4 배以上 증가하며 心搏動數도 증가하였다. 그리고 심근 산소 소비량도 약 3 배정도 증가된다고 하였다. 左心房 관류에 의한 灌流液이 左心室을 지나 大動脈內로 心搏動時 搏出되므로서 大動脈 搏出량을 얻을 수 있기에 作業性 心臟循環이라 한다.^{1,2,11~18)}

한편 유입壓과 대동맥 이완기壓은 같다고 하였으나, 本 實驗에서는 수축기壓과 역류유입壓과 같았다.

左心房 灌流壓을 점차 증가시킴으로서 心搏出量이 증가하였으며, 20 cm H₂O 壓일 때 冠灌流量은 心搏出量의 30% 정도였다. 左心房 灌流壓이 0 cm H₂O 에서 20 cm H₂O 로 증가될 경우 수축기 최대 대동맥壓은 증가하나 反面 이완기壓은 48 mmHg 에서 36 mmHg 로 감소하였으며 左心室 수축기압은 최대 수축기 대동맥壓보다 약 2 ~ 4 mmHg 정도 높으나 이완말기 左心房壓은 거의 左心房內 灌流壓과 같았으며 左心房 灌流壓의 증가

로 심근 산소 소비량은 약 2 배정도 증가하였다고 하였다¹⁾.

Neely¹⁾ 및 Tyers⁴⁾는 20 cm H₂O 壓으로 左心房 관류시 70 cm 높이의 Aortic bubble trap 으로 넘쳐 흐른 대동맥 박출량이 141 ± 22 ml/min/gram dry weight 이었으며 本 實驗에서는 20 cm H₂O 壓에 100 cm 높이의 Aortic bubble Trap 內로 103 ± 5.6 ml/min/gram dry weight 로 약 30% 가 감소되는 차이점이 있으나 本 實驗에서는 100 cm H₂O 壓에 해당하는 높이로 搏出된 것이므로 차이가 있기도 하다. 그러나 실험과정에서 똑같은 조건을 제공하므로서 각 心筋 保護法의 效果에 대한 評價法으로서 本 실험회로는 유효하게 사용될 수 있다고 생각한다. 한편 Aortic pressure chamber 에서 心搏出量이 Aortic bubble trap 內로 搏出되는 回路의 內面の 직경 크기가 2.4 mm 에서 4 mm 정도 되면 대동맥 壓 증가 없이도 心搏出量이 약 3 배 정도 증가한다고 하였다¹⁾.

本 實驗에 이용된 Aortic 및 Atrial reservoir 는 Neeley^{1,2)}, Tyers^{4,5,6)} 및 Hearse¹⁰⁾ 등이 灌流液을 加溫하기 위해 주위에 water Jacket 을 부착한 것과 달리 저장槽內에 Heat Coil Chamber 를 설치하여 加溫을 도모하였다. 그러나 他部位의 Water Jacket 부착은 같은 方法을 利用하였다. Water Jacket 內 순환온수의 온도를 37°C 정도로 하여 灌流液이 35.5°C 정도 되었으며¹⁾, Hearse^{10~18)}는 37°C 정도였다.

本 實驗에서는 40°C 의 순환온수를 이용 관류액이 37°C 되게 하였다. Modified Krebs-Henseleit 중화용액內에서는 Glucose, acetate 및 acetoacetate 등을 첨가시키므로서 심장기능 유지에 보조적 에너지源으로 작용하게 하며 Neeley¹⁾는 5 mM의 Glucose, Hearse¹⁰⁾ 및 Tyer⁶⁾는 11.1 mM을 灌流液에 첨가시켰다. 灌流液의 組成中 칼슘 사용에 의한 침전에 대한 주의를 요하며 대부분이 5 Micron Cellulose acetate 膜을 利用하여 침전물 제거에 使用하였다^{1,10)}. Tyers⁴⁾는 25~40 Micron 정도 Filter 를 使用하고 있다. 灌流液의 酸化를 95:5 비율의 O₂ 및 CO₂ 혼합 가스를 使用하므로서 적정 pH(7.4)와 산소분압(500 mg 以上)을 얻을 수 있었다고 하였으며^{1,3,4,10)} 本 實驗에서는 100% O₂ 와 100% CO₂ 를 95:5 의 비율로 이용 分當 산소 2 l 로서 탄산가스 100 ml 를 혼합 주입하므로서 pH 7.42 ± 0.04, PO₂ 500 mg 以上, PO₂는 32 ± 2 의 범위內에서 灌流시킬 수 있었다. 이와같은 Krebs-Henseleit 중화 용액에 포도당을 약간 첨가시켜서 Isolated Working Rat Heart Perfusion 을 시키므로서 Neeley 는 10 cm H₂O 壓으로 左心房 관류시 3 시간동안 심장기능의 成績이 안정됨을 보였으며 20

cm H₂O 壓 관류시에는 약 1.5 시간 정도 안정되었다고 하였다. 한편 Langendorff 순환시에는 4 시간 以上 일정한 심장 기능이 유지되었다고 하였다¹⁾. Tyer 는 一定 壓下 左心房 灌流時 7 時間까지 안정성 있는 心臟機能狀態를 보여주었다고 하였으며⁴⁾ 本 實驗에서는 약 3 時間 정도까지 摘出心臟의 機能이 적정 유지되었다. 한편 흰쥐의 摘出心臟의 크기가 心臟機能 유지에 많은 관계가 있다고 하였는데 乾燥心臟重量이 0.13 gm 群보다 0.24 gm 群에서 Stroke Volume 이 약 60% 정도 증가함을 보여주었다. 그리고 순환회로의 一定한 搏出 抵抗下에서 심장무게가 큰 群일수록 最大 大動脈 收縮期 壓은 증가하였으나 心搏動數는 감소하였다. 이와같은 결과 心搏出量이 0.13 gm 群보다 0.24 gm 群에서 그람 중량당 환산시 약 40% 정도 증가함을 보여주는 것이다¹⁾. 이에 本 實驗에서도 心臟乾燥重量을 測定하여 冠灌流 및 大動脈 搏出量 환산에 利用하였다.

V. 結 論

조선의대 흉부외과학 교실에서 開心術時에 心筋 保護를 위해 使用되는 各種 Cardioplegic Solution 및 국소냉각법의 효과 측정을 위한 實驗模型(Experimental Model)을 Langendorff 및 Neeley 등에 의해 고안된 흰쥐의 摘出心臟을 이용한 作業性 및 非作業性 心臟模型을 변형 조립하여 체외순환시켜 아래와 같은 성적을 얻었으며 이 실험모형을 이용하므로서 조작 및 체외순환의 간편성 뿐 아니라 경제적이며 그 결과의 재현성이 용이하여 단시간에 대량실험이 가능하므로 흰쥐의 심장을 이용한 Modified Isolated Working rat heart model 이 人間 心臟의 좋은 Biochemical model 이 될 수 있을 것이다.

1. Krebs-Henseleit 중화용액에 에너지源으로 포도당 11.1 mM/L 을 첨가하였으며 95:5 의 비율로 산소와 탄산가스를 혼합한 37°C 灌流液의 pH는 7.42 ± 0.04, 산소 분압은 500 mmHg 以上 및 탄산가스분압은 32 ± 2 mmHg 였다.

2. 心臟機能 유지는 20 cm H₂O 壓으로 左心房 灌流時 3 시간후 心搏動數 94%, 最大收縮期 大動脈 壓 80.6%, 冠灌流量 87.7% 및 大動脈 搏出量 76.3% 가 유지되었다.

REFERENCES

1. Neely, J.R., Liebermeister, H., Battersby, E.J., and Morgan, H.E.: Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart, *am. J.*

- Physiol.* 212:804-814, 1967.
2. Neeley, J.R., Rovetto, M.J., Whitmer, J.T., and Morgan, H.E.: *Effect of ischemia on function and metabolism of the isolated working rat heart*, *Am. J. Physiol.* 225:651-658, 1973.
 3. Proctor, E., and Parker, R.: *Preservation of isolated heart for 72 hours*, *Brit. Med. J.* 4:296-298, 1968.
 4. Tyers, G.F.O., and Morgan, H.E.: *Isolated heart perfusion techniques of rapid screening of myocardial preservation method*, *Ann. Thorac. Surg.* 20:56-65, 1975.
 5. Tyers, G.F.O., Williams, E.H., Hughes, H.C., and Todd, G.J.: *Effect of perfusate temperature on myocardial protection from ischemia*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 73(5):766-771, 1977.
 5. Todd, G.J., Tyers, G.F.O.: *Amelioration of the effects of ischemic cardiac arrest by the intracoronary administration of cardioplegic solution*, *Circulation* 52:1111-1117, 1975.
 7. Gay, W.A.: *Potassium-induced cardioplegia*, *Ann. Thorac. Surg.*, 20:95-100, 1975.
 8. Brown, A.H., Nelson, R.N., Niles, N.R., Braimbridge, M.V., *of cold physiological solution as assessed by ventricular function, histochemistry and birefringence*, *J. Surg. Res.* 14:46-57, 1973.
 9. Hearse, D.J., Stewart, D.A., and Chain, E.D.: *Recovery from cardiac bypass and elective cardiac arrest*, *Cir. Res.* 35:448-457, 1974.
 10. Hearse, D.J., Stewart, D.A., and Braimbridge, M.V.: *Hypothermic arrest and potassium arrest*, *Cir. Res.* 36:481-488, 1975.
 11. Hearse, D.J., Stewart, D.A., and Braimbridge, M.V.: *Cellular protection during myocardial ischemia*, *Circulation* 54(2):193-201, 1976.
 12. Hearse, D.J., Stewart, D.A. and Braimbridge, M.V.: *Myocardial protection during bypass and arrest*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 72:880-884, 1976.
 13. Jynge, P., Hearse, D.J., and Braimbridge, M.V.: *Myocardial protection during ischemic cardiac arrest*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 73:848-855, 1977.
 14. Hearse, D.J., Stewart, D.A., and Braimbridge, M.V.: *Myocardial protection during ischemic cardiac arrest*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 75:877-885, 1978.
 15. Tyngge, P., Hearse, D.J., Leiris, J.D., Feurray, D., and Braimbridge, M.V.: *Protection of the ischemic myocardium*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 76:2-13, 1978.
 16. Hearse, D.J., Stewart, D.A., and Braimbridge, M.V.: *Myocardial protection during ischemic cardiac arrest*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 76:16-21, 1978.
 17. Tyngge, P., Hearse, D.J., and Braimbridge, M.V.: *Protection of the ischemic myocardium*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 76:698-705, 1978.
 18. Hearse, D.J., Stewart, D.A., and Braimbridge, M.V.: *The additive protective effects of hypothermia and chemical cardioplegia during ischemic cardiac arrest in the rat*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 79:39-43, 1980.
 19. Gharagozloo, F., Bulkley, B.H., and Braimbridge, M.V.: *Protection of the ischemic myocardium*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 76:698-705, 1978.
 20. Morgan, H.E., Henderson, H.J., Regen, D.M., and Park, C.R.: *Regulation of Glucose uptake in muscle*, *J. Biol. Chem.* 236:253-261, 1961.
 21. Sink, J.D., Currie, W.D., Pellom, G.L., Hill, R.C., Randolph Chitwood, W. and Wechsler, A.S.: *Correlation of mitochondrial function and ischemic contraction*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 79:570-578.