

적출심장의 장시간(24시간) 보존에 관한 실험적 연구 - 4°C 관류 보존법 -

이 종 국* · 김 길 동* · 김 은 기* · 조 범 구*

- Abstract -

Experimental Study of Isolated Canine Heart Preservation for 24 Hours at 4°C - A Portable Continuous Hypothermic Perfusion System -

Chong Kook Lee, M.D., Ph.D.* , Kil Dong Kim, M.D.*
Eun Gi Kim, M.D.* , Bum Koo Cho, M.D., Ph.D.*

After 24 hours of preservation under 15 mmHg perfusion pressure the recovery rates of isolated canine hearts were determined. Preservation was performed in a cold room maintained at 4°C with 4 different types of perfusates bubbled with a mixture of 95% O₂ and 5% CO₂ using a modified perfusion unit designed in our institute. The perfusates used were as follows; Group 1: Krebs-Henseleit solution, Group 2: Krebs solution added by albumin and PGE₁, Group 3: Modified Wicomb's solution, Group 4: Modified Collin's solution.

The extent of myocardial recovery was evaluated using a modified isolated canine perfusion model by measuring heart rate, systolic arterial pressure, left atrial pressure(LAP) and cardiac output. In addition to the above hemodynamic parameters, biochemical and enzymatic assays from perfusates and electron microscopic changes of the myocardium were also studied. The results were as follows:

1) The heart recovery rates were 41.6%, 53.4% and 108.9% in groups 1, 2 and 3, respectively, and group 3 elicited the best result($p < 0.001$). The heart beat was never recovered in group 4.

2) Recovered systolic arterial pressures(mmHg) were 63.3% in group 1, 94.9% in group 2 and 94.3% in group 3.

3) LAPs(mmHg) were 20 in group 1, 13.5 in group 2 and 11.2 in group 3, which suggested that the best myocardial preservation was elicited in group 3($p < 0.05$).

4) Cardiac output, the sum of aortic stroke volume and coronary leakage, were 69.1% in group 2, and 90.7% in group 3, but these were not statistically significant($p = 0.24$). No aortic stroke output was measured in group 1 and 4.

5) The degree of myocardial edema increase was 17.5% in group 1, 24.6% in group 2, 20.9% in group 3 and 55.3% in group 4. But there were no statistical differences in each group($p = 0.08$).

* 연세대학교 의과대학 흉부외과학교실

* Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Yonsei University, College of Medicine.

** 본 연구논문은 1986년도 연세대학교 교수연구비로 이루어졌음.
1988년 5월 31일 접수

6) CPK-MB(U/L) levels were increased 750% and 332%($p < 0.05$), glucose levels(mg/dl) 60.5% and 78.2% and SGOT(U/L) levels 523% and 333%, in groups 2 and 3, respectively. Biochemical and enzymatic assays could not be performed in group 1 and group 4, because of poor recovery of heart beat.

7) Electron microscopic findings in the myocardium of most groups revealed slight to moderate muscle cell and mitochondrial edema. But all these findings were within the limits of reversible change.

From these above results, it is suggested that modified Wicomb's solution seems to be the most useful physiologic salt solution for preservation of the heart. We propose that after further study and improvement, our portable continuous hypothermic perfusion system will contribute to the development of a better preservation method for donor hearts for human heart transplantation.

I. 서 론

적출장기의 보존에 인위적인 순환의 개념은 1812년 Legallois⁶⁶⁾에 의해 처음 고안되었으며, Ringer⁶⁷⁾은 1881년 적출심장의 순환에는 혈액외의 용액은 나트륨 뿐 아니라 칼륨의 성분도 요함을 증명하여 첫 인위적 순환액을 조성하였다.

1895년 Langendorff⁶⁸⁾은 고양이 및 개의 적출심장의 순환관류장치를 고안 발전시켰으며, 1903년 Brodie⁶⁹⁾는 혈액 순환시에 필터 사용의 중요성을 강조하였다. 1935년 Carrel^{71,72)}은 일정기간 박동순환을 유지할 수 있는 Lindburgh 장치를 사용하여 4일간 심장이 생존할 수 있었다 하였다.

1967년 12월부터 인간심장이식술이 시행된 이후 1986년 6월까지 전세계적으로 약 2505례 이상이 시술되었으며⁶²⁾, Stanford 대학에서 Shumway 등이 263례 이식술을 시행하여 최장 13년 4개월까지 총 106례가 생존중이라 하였다⁶¹⁾.

지금까지의 심장이식 수술수기 자체는 완전히 성공적으로 확립되고 있다고 볼 수 있으며, 안정성 또한 높게 나타나고 있다. 그러나 동시에 장기이식에 공통되는 과제는 이식면역기전의 해명과 적출장기의 장기간 보존이라는 2가지 큰 난제가 남아있다^{1,2,28,57,59)}. 이중 적출심장의 장시간 보존법을 확립한 경우 충분한 기능적 회복을 할 수 있는 심장을 필요한 기간만큼 보존할 수 있어 시간적 여유가 있으므로, Donor Heart의 채취장소 및 운송시간에 구애됨이 없이 여유있게 조직 적합점사나 수술준비도 충분히 행할 수 있다고 본다.

최근 장기보존의 유효한 방법으로는 연속순환관류

법과 단순수세침습보존법 2가지가 있으며³⁾, Lower 등⁴⁾은 1962년 견적출심을 2~4°C 생리식염수내 6~7시간 단순침습보존후 심이식을 성공하였다하였으나 적출심장의 단순침습보존에 의한 장시간 보존을 위해서는 심근세포의 손상이 없는 보존을 요하므로 현재 개심술시에 사용되는 심근보호액(Cardioplegia)으로 약 4~5시간 정도는 안정성 및 유효성이 확립되어 있으나, 그이상 장시간 단순보존법은 개발되어야 한다^{1,4,27,28,51,63)}.

한편 Proctor 및 Parker(1968) 등은 견적출심을 저온연속 관류법에 의해 72시간 보존이 가능하였다고 하였다⁵⁾. 관류보존방법을 개발하기 위하여 본 연구에서는 심장적출 보관법, 보존 장치의 설계 및 개발, 심근 보호액 및 관류액을 선택 사용하여 심장소생의 정도를 알아 그 보존방법 및 관류액의 우수성을 확립하고자 하며 한편 심장이식술을 실시할 경우에 본 실험결과를 이용하여 좋은 수술결과를 얻고자 한다.

II. 실험재료 및 방법

1) 실험재료 및 적출법

동물실험은 10~12kg 정도의 잡종견에 Nembutal sodium(30 mg/Kg) 마취하에 삽관하여 인공 환기하에 헤파린(5 mg/Kg) 투여후, 심폐장을 속히 절제하여 Krebs-Hensleit solution으로 된 ice slush 용액내 넣고서 Cardioplegic solution(St. Thomas Solution; NaCl 5.35, KCl 1.10, CaCl₂·2H₂O 0.18, NaHCO₃ 2.10, MgSO₄·7H₂O 0.31, MgCl₂·6H₂O 3.05, KH₂PO₄ 0.16, Procaine HCl 0.27 gm/L)을 대동맥을 통해 주입(80 mmHg압, 20 ml/Kg)한 후 대동맥관 및 좌심방관을

전술한 quick connect system을 이용하여 삽관연결한다⁶⁵⁾.

2) 보존장치의 방법

적출심장의 장시간 보존 장치는 4°C 보존 관류액에 95% 산소 및 5% 이산화탄소를 혼합시키면서 관류액을 대동맥 상부 저장조로 모으는 장치인 Air lift pump를 이용하였으며 20 micro pore size membrane filter를 통과시켜 일정한 압력(15 mmHg)으로 역류순환시키는 장치로서 장치 전체가 4°C 냉장실내에 보관하여 사용한다(Fig. 1).

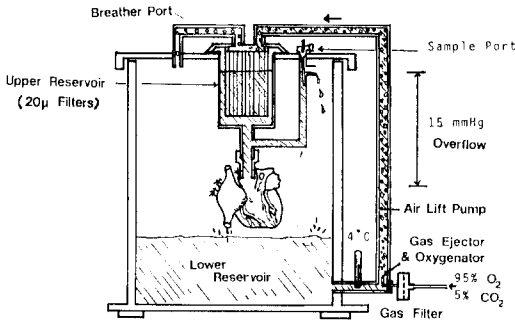


Fig. 1. Schematic view of 4°C heart preservation chamber using an air lift pump. Heart chamber was placed in refrigerator at 4°C

3) 관류액

본 실험에서 적출심장 보존에 이용된 용액은

- I) Extracellular nature인 Krebs-Henseleit 용액
- II) Krebs-Henseleit 용액에 Albumin 및 PGE₁ 첨가용액

III) Modified Wicomb's 용액

IV) Intracellular nature인 Modified Collin's 용액으로 4군으로 사용하여 그 보존효과의 성적을 얻고자 하였다(표 1). 상기 관류액은 사용전 혼합가스(95% O₂+5% CO₂ gas)를 이용하여 PO₂ 400~600 mmHg, PCO₂ 20~30 mmHg, pH 7.4~7.5, 4°C상태로 순환되게 하여 사용하였다.

4) 심장기능 측정 및 보존법

적출심장을 4°C 보존 관류장치에 부착하기전 적출심장 무게를 측정하여 전술한 심장기능 평가를 위한 견적출 심장관류장치⁶⁵⁾를 이용하여 Non-working

heart perfusion을 약 10분 시키면서 심장 박동을 얻으며(심실세동시 Defibrillator도 사용) 심장이 회복된후 약 30분간 Working heart perfusion을 이용 심박동수, 대동맥압, 좌심방압, 대동맥박출량 및 관관류량을 측정하여 기준치로 이용한다. 그후 심보존 장치에 보존직전 cardioplegia 용액을 재차 주입(20ml/Kg, St. Thomas Solution) 한후 심장을 떼어내어 재차 심장무게 측정후 4°C 보존 장치에 옮겨 24시간 15 mmHg 압으로 역류순환보존시킨다(Fig. 2).

5) 심장의 소생 및 기능 측정

4°C순환 보존 장치에 일정시간(24시간) 보관후 보존장치에서 심장을 떼어내 심장 무게를 측정하여 심부종 정도를 측정한다. 보존심장을 견적출심장 관류장치를 이용한 재순환장치를 이용⁶⁵⁾, 실온(20°C 전후)의 Hemodilution Krebs-Henseleit(1:1) 용액을 10분간 Retrograde non-working perfusion을 시키면서 10분후 서서히 가온, 심장의 온도가 30°C 전후되게 한후 심박동을 얻어 심장을 회복시키며, 이때 약물은 Dopamine(5µg/Kg)을 저혈조 내로 1회 주입한다. 심실세동시 전기 제세동만(AC100 volt)만 이용하며

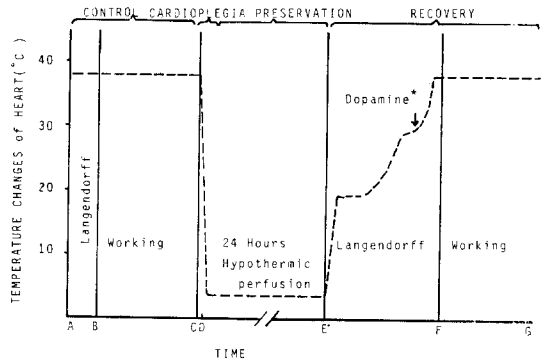


Fig. 2. Experimental time course

Hearts were perfused in a Langendorff mode between A and B (10 minutes), were converted to a working preparation between B and C(30 min), were subjected to coronary infusion of cardioplegic solution between C and D, and were translated to 4°C hypothermic perfusion chamber with low pressure between D and E(24 hours). Hearts were reperfused at point E initially as Langendorff preparation(20°C) for 10 minutes and rewarming started. Dopamine (5µg/kg) was injected into reservoir after heart beating at 30°C. Hearts were converted at point F to a working preparation for 30 minutes.

Table 1. Compositions of 4°C perfusates

Group Perfusate	Group 1 Krebs-Henseleit Sol.	Group 2 Krebs+Albumin+PGE ₁	Group 3 Wicomb's Sol.	Group 4 Collin's Sol.
NaCl	6.896 gm/L	6.896 gm/L	6.76 gm/L	— gm/L
KCl	0.35	0.35	—	1.118
KH ₂ PO ₄	0.163	0.163	1.12	1.769
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.296	0.296	3.48	0.739
NaHCO ₃	2.10	2.10	2.1	0.840
Na-EDTA	0.168	0.168	—	—
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.367	0.367	0.16	—
Glucose	2.0	2.0	2.0	25.042
K ₂ HPO ₄	—	—	—	6.967
Chlorpromazine	—	—	0.005	—
Sucrose	—	—	2.5	—
Glycerol	—	—	12.6	—
Taurine	—	—	0.5	—
Procain HCl	—	—	0.27	—
Albumin	—	5.0	—	—
PGE ₁	—	10.0 rg	—	—

37°C가 되제한후 정상적 혈행동태가 유지되면(20~30분 경과) Working heart perfusion model을 이용하여 재차 혈행동태를 측정하여 기록분석하며 약 30~60분간 Working heart perfusion후 재차 심장무게측정후 심근 조직검사를 위해 심장절편을 조직보관용액(Formalin, Glutaraldehyde)에 담구어둔다(Fig. 2).

6) 견 심장이용 목적

흰쥐 적출심 이용은 심장이 작아서 장치에 부착의 어려움이 있고 크기에 비해 관류액의 대량소비를 초래하며 혈액사용이 불가능하다. 견적출심장 이용시는 자체 혈액을 이용할 수 있으며 장치에 접속뿐아니라 제반 실험조작이 용이하며 관류중의 우심실 심근 채취가 가능한 장점이 있을뿐아니라 적출심장의 심장이식술후 혈행동태와 이식 면역기전에 관한 조사 연구가 가능하여 견적출심장을 이용하였다.

7) 심기능 평가 위한 순환장치

관류장치의 전체는 제 3도에서와 같이 심장보온조, 저혈조, 인공산화기, 보온장치, 송혈펌프, 좌방 및 대동맥 저혈조, 대동맥 및 좌심방 케뉴라와 부속회로 등으로 이루어져 있다(Fig. 3).

Non-Working 상태의 Langendorff 역류순환시(Fig. 3, T1, T4 차단)에는 산소화된 Hemodiluted

Krebs-Henseleit 용액은 송혈 회로에 의해 동맥 케뉴라를 통해 심장으로 역류순환되며, 혈류는 동맥측 저혈조를 Overflow 시키므로 송혈압을 일정하게(100 CM H₂O) 유지한다. 관관류된 혈액은 개방된 우심계를 통해 심장보온조에서 저혈조내로 유입되며 이때 유량을 관관류량으로 측정기록한다.

Working 순환시(T1, T4 개통 및 T2, T3 차단)는 좌심방측 저혈조에서 좌심방내로 일정량(900ml/min)으로 송혈되며, 좌심방압이 20 mmHg압 이상일 경우 Overflow 되게 하였다. 한편 좌심실에서 대동맥으로 박출된 혈액은 압조를 통과 80 cm 높이압을 Overflow 시키며, 이것을 대동맥류량으로 측정 이용하며 재 순환시킨다.

인공 산화기 및 저장조는 Cobe 회사의 막형 인공산화기(VPCML) 1/3을 이용하였으며 95% O₂+5% CO₂ 혼합가스를 분당 1리터 정도 이용 pH 7.45, PO₂ 400 mmHg 및 PCO₂ 25 mmHg 정도 유지시켰다.

회로내 충전용액은 실험동물 자체혈액 500 ml와 Krebs-Henseleit 용액(Table 2) 500 ml을 이용하였으며 5% NaHCO₃ 5ml와 Heparine 50 mg을 첨가한다. 순환회로는 1/4인치 실리콘 튜브를 사용하며, 열교환기는 저혈조 및 심장보온조에 내장되어 있으며 외부에서 38.5°C 물이 순환되게 하여 송혈온도를 37°C, 심

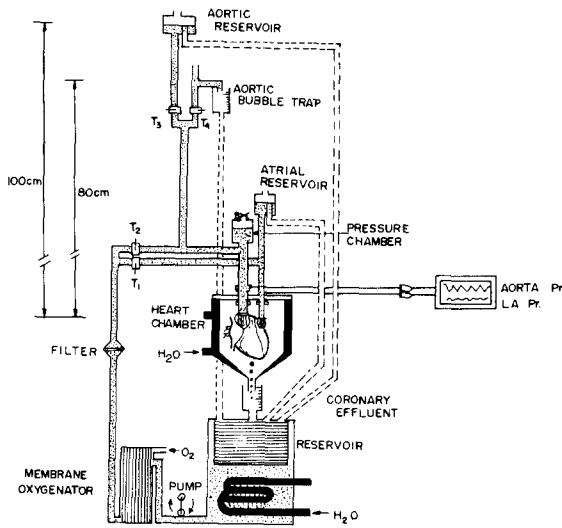


Fig. 3. Modified isolated canine heart perfusion model(YUMC)

The dog heart was cannulated via the left atrium and aorta and maintained in a thermostatically controlled chamber(Heart chamber). In Langendorff perfusion, T2 and T3 were opened and perfusion fluid entered the heart via the aorta from the aortic reservoir located 100cm above the heart.

In the working model, taps T1, and T4 were opened and perfusion fluid entered the heart via the left atrium from an atrial reservoir 20 mmHg overflow system. The left ventricle ejected perfusion via the aorta and an elasticity chamber(pressure chamber) against a 80 cm H₂O hydrostatic pressure to the aortic bubble trap. The overflow of the aortic bubble trap is aortic flow rate.

The coronary perfusion exited into the heart chamber and collected for enzyme study and measurement of coronary flow rate.

The entire perfusate was thermostatically maintained by coil heat system of reservoir at the temperature required for the study.

저장조내 공기 온도가 36°C되게 유지시켰다. 송혈 펌프는 Roller 펌프(Sarns 2800형)를 이용하였으며, 송혈관에 동맥혈 필터 20 μ pore size)을 부착하였다.

III. 관찰 성적

4°C 관류 보존액은 세포외액 정상인 Krebs-Henseleit 용액(제 1군), Krebs 용액에 Albumin 및 PGE₁ 첨가 용액(제 2군), Modified Wicomb's 용액

Table 2. The composition of Krebs-Henseleit Solution.

Component	Concentration
NaCl	118.0 mM/L
KCl	4.7
CaCl·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

(제 3군), 및 세포외액 정상인 Modified Collin's 용액(제 4군)을 각각 이용하여 적출심장을 24시간 보관 후 본교실에서 제작한 심기능 평가를 위한 전 적출심장 관류장치(65, Fig. 3)를 이용하여 각군의 심장의 혈액학적 회복상태와 심근손상의 지표인 호소적 변화 및 심근의 미세구조적 변화에 관하여 관찰하였으며 다음과 같은 성적을 얻었다. 그러나 제 4군은 심박동 계가 되지 않아 혈액학적 관찰 성적표에서 제외시켰다. 본 실험에서 얻은 각군의 성적은 Oneway ANOVA, Scheffé procedure(Multiple range test), Student t-test를 이용하여 통계적 유의성을 검정하였다.

A. 혈액학적 변화

1. 심박동수

전례에서 심실제세동기(defibrillator)를 사용하였으며 Working Heart 30분에 제 1군은 55.5±7.5회/분(42%), 제 2군은 65±2.0회/분(53%), 제 3군은 129.0±6.3회/분(91%) 회복한 반면 제 4군은 경한 심실제동만 출현했을 뿐 심장박동을 얻을 수 없었다(표 3). 심박동을 회복한 3군중 제 3군에서 가장 양호한 회복율을 관찰할 수 있었다(p<0.001).

2. 최대 대동맥 수축기압 및 좌방압

좌심방 관류를 일정량(900 ml/min) 유지 시키면서 20 mmHg압 이상인 경우 Overflow 되게 하였으며, Dopamine(5 μg/kg)은 심실제세동직전 1회만 주입하였다. 최대 대동맥 수축기압이 24시간 보존후 Working heart perfusion 30분에 제 1군은 73.5±3.5 mmHg(63%), 제 2군은 103.0±14 mmHg(95%), 제 3군은 108.2±2.1 mmHg(94%)로 회복하여 제 2군 및 제 3군에서 양호한 회복을 관찰하였다(p<0.05)(표

Table 3. Recovery of heart rate after 24 hours preservation at 4°C

Perfusate	control (beats/min)	Post-preservation		Recovery	Time (min)	n
		10	30	60	60	
Group 1 (Krebs)	133.5±0.5	53.5± 7.5 (40.1± 5.5)	55.5±7.5 (41.6±5.5)	—	—	2
Group 2 (Krebs+Alb)	122.0±8.0	69.5± 5.5 (56.9± 0.8)	65.0±2.0 (53.4±1.9)*	85.0± 8.0 (70.4±11.2)	—	2
Group 3 (Wicomb)	118.4±4.1	111.8± 9.5 (95.0±20.2)	129.0±6.3 (108.9±3.4)*,**	122.4± 5.6 (103.6± 4.1)	—	5

Alb: Albumin

Hearts were subjected to 24 hours hypothermic perfusion(4°C).

Control data was obtained from 30 minutes value of working perfusion.

The postpreservation recovery values were obtained 10, 30 and 60 minutes working mode after termination of post preservation Langendorff perfusion. Value within parenthesis is meant percentage of recovery of the control value. Values for all groups are the mean and standard error of mean is indicated.

Heart beat was not recovered in Group 4(Collin) and only atrial fibrillation was observed, so the group was excluded from statistical comparison.

** P<0.001. Oneway ANOVA

* p<0.05. Scheffe procedure

Table 4. Recovery of peak aortic pressure after 24 hours preservation at 4°C

Perfusate	control (mmHg)	Post-preservation		Recovery	Time (min)	n
		10	30	60	60	
Group 1 (Krebs)	116.0±2.0	73.5±1.5 (63.4±0.2)	73.5± 3.5 (63.3± 1.9)	—	—	2
Group 2 (Krebs+Alb)	109.5±5.6	81.5±7.5 (74.3±3.1)	103.0±14.0 (94.9±17.6)	127.5± 8.5 (117.1±13.6)	—	2
Group 3 (Wicomb)	115.2±4.4	113.8±5.2 (99.2±5.1)	108.2± 2.1 (94.3± 2.9)*	103.8± 5.1 (90.8± 5.8)	—	5

Control data was obtained from 30 minutes value of working perfusion.

The postpreservation recovery values were obtained 10, 30 and 60 minutes working mode after termination of post preservation Langendorff perfusion. Value within parenthesis is meant percentage of recovery of the control value. Values for all groups are the mean and standard error of mean is indicated.

* p<0.05, Oneway ANOVA, Scheffe procedure

4). 한편 좌심방압은 분당 일경관류량 순환하에서 Working heart 30분에 제 1군이 20.0±0.5 mmHg, 제 2군이 17.6±0.5 mmHg, 제 3군이 11.2±0.9 mmHg였으며, 제 3군에서 가장 낮게 유지 되어 좌심실의 양호한 심장보존 상태를 관찰할 수 있었으며, 각군간의 매우 유의한 차이를 보여주었다(p<0.01)(표 5).

3. 대동맥 박출량

좌심방내 관류를 일정량(900 ml/min)으로 유지하면서 20 mmHg Overflow를 이용하여 좌심실 박출량이 80 cm 수압높이에 해당되는 Aortic bubble trap을 넘어서 흐른 관류액의 양을 실험계체변 마리당 ml/min

으로 표시하여 대동맥박출량으로 이용하였다.

본 실험에서 각군을 30분간 Working heart perfusion후 제 1군에서는 심장박출상태 불량으로 대동맥 박출량을 얻을 수 없었으며, 제 2군은 545±12.5 ml/min(67%), 제 3군은 656±70.2 ml/min(86%)으로 제 3군에서 가장 큰 박출량을 볼 수 있었으나 제 2군과 제 3군의 차이에는 통계적 유의성이 없었다(p=0.29)(표 6).

4. 관관류량

관관류량은 마리당 분당량으로 측정하였으며 제 1군 92.5±2.5 ml/min(74%), 제 2군 86.5±5.7

Table 5. Recovery of mean left atrial pressure after 24 hours preservation at 4°C

Perfusate	control (mmHg)	Post-preservation		Recovery	Time (min)	n
		10	30			
Group 1 (Krebs)	8.0±0.5	21.5±1.5	20.0±0.5	—	—	2
Group 2 (Krebs+Alb)	7.5±1.5	17.5±1.5	13.5±0.5 ⁺			2
Group 3 (Wicomb)	8.0±0.4	11.4±1.5	11.2±0.9 ^{*+}	11.4±1.2		5

Control data was obtained from 30 minutes value of working perfusion.

The postpreservation recovery values were obtained 10, 30 and 60 minutes working mode after termination of post preservation Langendorff perfusion. Value within parenthesis is meant percentage of recovery of the control value. Values for all groups are the mean and standard error of mean is indicated.

* p<0.05, Oneway ANOVA

+ p<0.01, Scheffe procedure

Table 6. Recovery of aortic flow after 24 hours preservation at 4°C

Perfusate	control (ml / min)	Post-preservation		Recovery	Time (min)	n
		10	30			
Group 1 (Krebs)	790±50.0	—	—	—	—	2
Group 2 (Krebs+Alb)	810±30.0	325±15.5 (40.9±20.7)	545±12.5 (66.8±12.9)		—	2
Group 3 (Wicomb)	766±14.0	680±80.7 (89.0±10.6)	656±70.2 (65.6± 8.8)	680±62.2 (88.9± 8.1)		5

Control data was obtained from 30 minutes value of working perfusion.

The postpreservation recovery values were obtained 10, 30 and 60 minutes working mode after termination of post preservation langendorff perfusion. Value within parenthesis is meant percentage of recovery of the control value. Values for all groups are the mean and standard error of mean is indicated.

Difference of recovery rate between the group was statistically significant.

(p=0.29, Student t-test)

ml/min(89%), 제 3군이 134.8±9.6 ml/min(124%)로 제 3군이 가장 높았으나 각군간의 유의한 차이는 없었다(p=0.15)(표 7). 한편 각군의 15 mmHg순환압하 24시간 보존 관류중의 관류량은 측정하지 않았다.

5. 심박출량

개체 마리당 관류량과 대동맥 박출량을 합산한 것을 심박출량이라 하였으며 제 1군은 92.5±2.5 ml/min(10%), 제 2군은 632±129 ml/min(69%), 제 3군은 793±78 ml/min(90%)로 제 3군의 회복율이 가장 높았다(p<0.01)(표 8).

6. 심근중량의 변화

각군에서 심장의 중량은 심장적출시와 심장을 30분간 working heart perfusion시행후 직후에, 24시간 보

존후 재관류를 시행하기 전에 각각 측정하였다. 각군의 심장중량 변화는 제 1군이 17.5±2.5% 증가, 제 2군은 24.6±8.8% 증가, 제 3군은 20.9±5.6% 증가, 제 4군은 55.3±16.9% 증가를 보였으며, 24시간 보존 후 견적출심 관류 장치 부착시 심장보존상태를 예측하기 위해 수회 실험자의손으로 심막사지할 경우 심근상태가 유연한 것이 회복이 좋으며(Group 2, 3), 약간 경직된 군이(제 4군) 회복이 되지 않았다. 그러나 각군의 심장중량 변화의 유의한 차이는 없었다(p=0.08).

B. 생화학적 및 심근효소적 변화

견적출 심관류 장치의 순환회로내 충전액을 일정한

Table 7. Recovery of coronary flow after 24 hours preservation at 4°C

Perfusate	control (ml / min)	Post-preservation		Recovery	Time (min)	n
		10	30			
Group 1 (Krebs)	125.0± 5.0	92.5± 7.5 (74.4± 8.9)	92.5± 2.5 (74.2± 4.9)		--	2
Group 2 (Krebs+Alb)	97.0±10.9	87.6± 4.0 (90.1± 4.4)	86.5± 5.7 (88.9± 3.3)		--	2
Group 3 (Wicomb)	114.0±14.0	139.2± 9.1 (127.7±14.5)	134.8± 9.6 (124.1±15.3)		134.0±10.3 (123.3±15.6)	5

Control data was obtained from 30 minutes value of working perfusion.

The postpreservation recovery values were obtained 10, 30 and 60 minutes working mode after termination of post preservation Langendorff perfusion. Value within parenthesis is meant percentage of recovery of the control value. Values for all groups are the mean and standard error of mean is indicated.

Difference of recovery rate between the groups was not statistically significant (p=0.15, Oneway ANOVA)

Table 8. Recovery of cardiac output after 24 hours preservation at 4°C

Perfusate	control (ml / min)	Post-preservation		Recovery	Time (min)	n
		10	30			
Group 1 (Krebs)	915±55.0	92.5± 7.5 (10.2± 1.4)	92.5± 2.5 (10.2± 0.8)		--	2
Group 2 (Krebs+Alb)	907±37.5	412±152 (46.2±18.7)	631±128 (69.1±11.3)*		--	2
Group 3 (Wicomb)	880±25.1	819±85.4 (93.9±10.6)	790±77.1 (90.3± 9.2)*+		814±70.5 (93.1±9.5)	5

Control data was obtained from 30 minutes value of working perfusion.

The postpreservation recovery values were obtained 10, 30 and 60 minutes working mode after termination of post preservation Langendorff perfusion. Value within parenthesis is meant percentage of recovery of the control value. Values for all groups are the mean and standard error of mean is indicated.

+ p<0.01, Oneway ANOVA

* p<0.05, Scheffe procedure

Table 9. Changes of heart weight(gm) after 24 hours preservation at 4°C

Perfusate	Wet heart weight	Control		$\frac{B-A}{A}$ %	n
		30 min Working (A)	After 24hr perfusion (B)		
Group 1 Krebs	95.0±15.0	112.5±12.5	132.5±17.5	17.5± 2.5	2
Group 2 Krebs+Alb	72.5± 7.5	85.0±10.0	105.0± 5.0	24.6± 8.8	2
Group 3 (Wicomb)	87.4± 3.8	106.6± 3.8	128.2± 3.6	20.9± 5.5	5
Group 4 (Collin)	77.6±12.5	92.5±12.5	130.0±25.0	55.3±16.9	2

Difference of means between the groups was not statistically significant. (P=0.08, Oneway ANOVA).

격으로 채취하여 검사 하였으며 전술한 본심장 관류장치에 2시간 박동관류시 SGOT, CPK-MB치는 시간이 경과함에 따라 현저한 상승을 보이며 Glucose치는 경한 감소를 보여주었다⁶⁵⁾. 이에 24시간 보관전 30분간 working heart perfusion시 측정치를 기준으로 이용 24시간 후 재순환시켜 working heart perfusion 30분치를 비교하였으나 각군간의 유의한 차이는 없었다.

1. SGOT

SGOT(U/L) 검사는 Enzyme법, 30℃(Impact 400)로 측정하였으며, 제 1군과 제 4군은 회복상태가 불량하여 제외하였다. 각군의 측정치는 제 2군이 117.5±5.5U/L(523%), 제 3군이 11.46±11.2U/L(333%)로 양군 간의 유의한 차이는 없었다(p=0.26) (표 10).

2. CPK-MB

CPK-MB 검사는 Immunoprecipitation법(Boeringer Mannheim Co.)에 의하여 측정 심근 100 gm Wet weight 당 환산하여 표시하였다(U/L/100 gm Wet weight). 각 군의 측정치는 제 2군이 151±22.3(750%), 제 3군이 161.4±34.2(332%)으로 제 3군에서 가장 적은 효소적 변화를 보였으며 제 3군이 제 2군보다 심근보존 상태가 양호함을 보여주었다(p<0.05) (표 11).

3. Glucose

혈당치는 (mg/dl)는 Glucose oxidase법(Astra 8.)에 의해 측정하였다. 각군의 측정치는 제 2군에서 80.8±2.0 mg/dl(61%), 제 3군에서 92.2±3.3(78%)로 제 3군에서 더 적은 감소 변화를 보였다(p<0.05). 각

Table 10. Change of SGOT after 24 hours preservation at 4°C

Perfusate	control (unit / L)	Post-preservation	Recovery	Time (min)	n
		10		30	
Group 1 (Krebs)	37.5±5.5	—		—	2
Group 2 (Krebs+Alb)	22.5±1.5	107.5± 9.5 (477.1±10.4)		117.5± 5.5 (522.9±10.4)	2
Group 3 (Wicomb)	39.4±6.6	95.8± 7.6 (278.7±72.2)		114.6±11.2 (333.3±89.6)	5

Control data was obtained from 30 minutes value of working perfusion. The postpreservation recovery values were obtained 10 and 30 minutes working mode after termination of post preservation Langendorff perfusion. Value within parenthesis is meant percentage of recovery of the control value. Values for all groups are the mean and standard error of mean is indicated. Difference of means between the groups was not statistically significant. (P=0.26, Oneway ANOVA).

Table 11. Change of CPK-MB after 24 hours preservation at 4°C

Perfusate	control (unit / L)	Post-preservation	Recovery	Time (min)	n
		10		30	
Group 1 (Krebs)	48.1± 0.8	—		—	2
Group 2 (Krebs+Alb)	20.9± 5.5	98.1± 5.8 (497.0±102.3)		151.5±22.3 (749.9±89.1)	2
Group 3 (Wicomb)	53.8±14.0	114.5± 19.2 (226.9± 56.4)		161.4±34.2 (332.1±96.2)	5

Control data was obtained from 30 minutes value of working perfusion. The postpreservation recovery values were obtained 10 and 30 minutes working mode after termination of post preservation Langendorff perfusion. Value within parenthesis is meant percentage of recovery of the control value. Values for all groups are the mean and standard error of mean is indicated.

* p<0.05, Oneway ANOVA

Table 12. Change of Glucose after 24 hours preservation at 4°C

Perfusate	control (mg / dl)	Post-preservation	Recovery	Time (min)	n
		10		30	
Group 1 (Krebs)	116.0±4.0	—		—	2
Group 2 (Krebs+Alb)	132.5±3.2	92.5±3.5 (69.9±4.5)		80.0±2.0 (60.5±3.5)	2
Group 3 (Wicomb)	118.8±6.3	97.4±3.7 (82.5±3.1)		92.2±3.3 (78.2±3.8)*	5

Control data was obtained from 30 minutes value of working perfusion.

The postpreservation recovery values were obtained 10 and 30 minutes working mode after termination of post preservation Langendorff perfusion. Value within parenthesis is meant percentage of recovery of the control value. Values for all groups are the mean and standard error of mean is indicated.

* p<0.05, Oneway ANOVA

군 성적 비교시 혈당치가 정상범위에 가까운 군이 회복율이 좋은 것으로 나타나 관류장치이용 기능 평가시 기준치 혈당량 유지를 위해 일정간격 포도당 첨가를 요하였다(표 12).

C. 심근조직검사

심근 조직검사는 24시간 보관후 Working heart perfusion 30분~60분간 실시한후 채취하였으며 2.5% Glutaraldehyde 용액에 고정하였다. 각군의 전자현미경적 소견은 대부분이 경한 부종과 미토콘드리아의 부종소견만을 보였으나, 제 1군과 제 4군은 심회복이 안되어 즉시 생검한 반면, 제 2, 3군은 30분~60분간 Working heart perfusion 실시후에 생검하였으므로 견적출심 관류장치 가동시 일어나는 심부종 및 미토콘드리아 변화⁶⁵⁾에 비교시 제 2, 3군의 심보존 상태가 더 양호하다고 볼수 있다. 각군의 전자현미경적 소견에서 관찰되는 변화율은 심근세포의 손상 정도가 다 소간에 차이는 있으나 회복가능한 가역성 손상이라고 볼수 있으므로 제 4군의 심박동 회복불량도 생리학적 기전의 손상에 기인한 것으로 추정된다(사진 1~사진 10).

IV. 고 찰

적출장기의 보존에 인위적인 순환법의 개념이 1812년 Legallois⁶⁶⁾에 의해 처음 고안된 이래 많은 연구가 계속되어 최근에 장기보존 방법에 가장 유용하며 효과적인 방법은 연속관류순환 보존법과 단순수세침습보존법 2가지를 들 수 있다³⁾. 연속관류순환보존법은 4

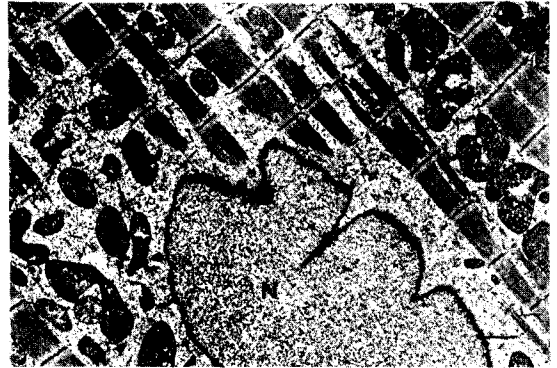


Photo. 1. Myocardium of dog, control group. Muscle cell shows intact structures of mitochondria and muscle fibrils. M; mitochondria, N; nucleus. Uranyl acetate and lead citrate, X10000.



Photo. 2. Myocardium of dog, control group. Muscle cells demonstrates well preserved mitochondria and fibrils. M; mitochondria, N; nucleus. Uranyl acetate and lead citrate, X10000.

~10°C 저온하 이용으로 보존장기의 대사요구량을 감소시키며 대사물질의 공급과 분해산물의 제거를 실시하여야하나, 잇점은 장시간 보존이 가능하여 신장의 경우 8일, 심장은 48시간 정도 가능하다고 하였다. 그러나 순환장치가 복잡하며 고라로서 운반의 어려움이 있으며 예상외의 사고유발위험이 있다.

단순수세보존법(Simple flush preservation)은 0°C 까지 저온을 이용하여 대사기전의 유지가 필요치 않으나, 시간의 제한이 있으며 반면 단순하고 간단하며 저

가로서 다른 타기구가 필요없어 기증장기적출시에 다른 외과팀의 협조가 가능하다. Lower 등은 건적출심을 2~4°C 생리식염수내 담구어 냉각마비 시킨후 6~7시간 보관후 동종이식을 성공하였다고 하였다¹⁾. 한편 단순수세보존에 개심술시 이용되는 4°C 심근 보호액(Cardioplegia)을 이용 매 20~30분 간격 재주입하는 경우 4~5시간정도 심보존이 가능하며 Oxygenated Cardioplegia에 Fluosol을 첨가시 더 좋은 결과를 얻을 수 있다고 하였다^{4,27,37)}. 한편 Cardioplegia 용액



Photo. 3. Myocardium of dog perfused with Krebs-Henseleit solution. Muscle shows moderate edema. Mitochondria are slightly swollen. Intracristal inclusions(arrow heads) are present in the mitochondria. M; mitochondria. Uranyl acetate and lead citrate, X15000.



Photo. 5. Myocardium of dog perfused with K-H-albumin solution. Muscle cell is slightly edematous(*). Mitochondria show mild swelling(arrow heads). M; mitochondria. N; Nucleus. Uranyl acetate and lead citrate, X10000.

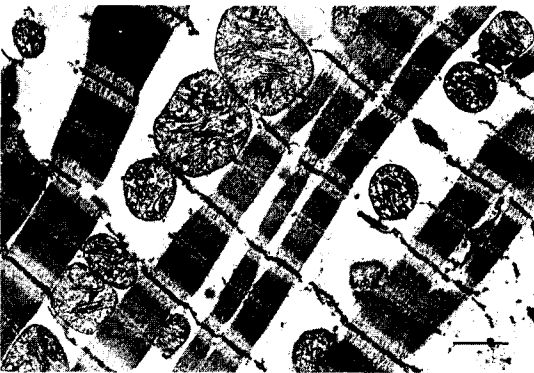


Photo. 4. Myocardium of dog perfused with Krebs-Henseleit solution. Mitochondria reveal mild edema and intracristal inclusions(arrow heads). Muscle cell is markedly edematous. M; mitochondria. Uranyl acetate and lead citrate, X15000.

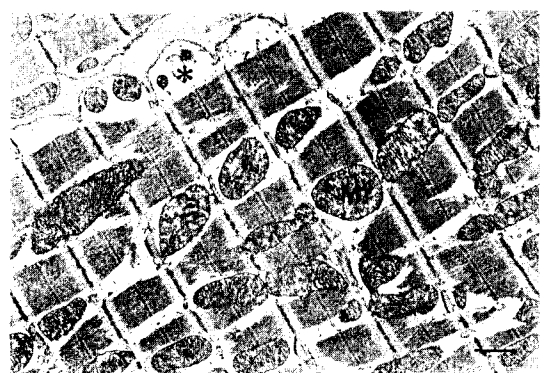


Photo. 6. Myocardium of dog perfused with K-H-albumin solution. Mitochondria are well preserved except mild swelling. Cytoplasm is edematous(*). M; mitochondria. Uranyl acetate and lead citrate, X12000.

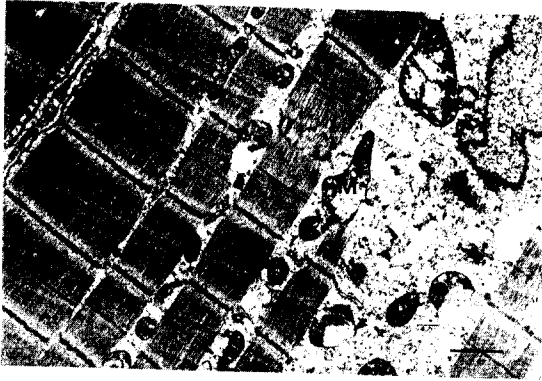


Photo. 7. Dog myocardium perfused with Wicomb's solution. Mitochondria demonstrate low-amplitude swelling(arrow heads). Muscle fibrils are intact in structure. M; mitochondria, N; nucleus. Uranyl acetate and lead citrate, X15000.

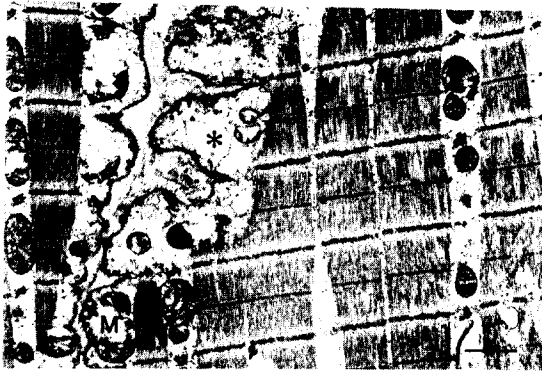


Photo. 8. Dog myocardium perfused with Wicomb's solution. Muscle cell is moderately edematous(*). Mitochondria show mild swelling. M; mitochondria, N; nucleus. Uranyl acetate and lead citrate, X15000.

내 침습보다 심근보호액주입후 Collin's 용액으로 수세 및 침습시킬 경우 효과가 크다³⁸⁾.

Proctor 및 Parker(1968)가 견적출심장을 정상기압에서 72시간 동안 5°C 순환 보존하여 성공하였으며 관류액의 연속필터시키는 것이 매우 중요하다고 강조하였다⁵⁾. Warner는 24시간 연속저온관류법이 3시간 단순침습보다 심근의 손상이 적게 나타난다고 하였다²⁸⁾. 적출심을 24시간정도 보존하려면 순환관류법이 침습법보다 좋고, 관류액에 Fluorocarbon 및 알부민 첨가가 더 유용한 것 같다³⁵⁾.

Wicomb 등은 민간에서 직접 이동형 저온순환관류

보존장치를 이용하였으며 4례에서 기증 심장이 이식 전 6시간 55분에서 16시간 50분까지 보관되어, 이 시간에 조직형검사, 기증심장의 시술병원으로 이송 및 심장이식 수술 준비 등이 이루어졌다고 하였다¹⁷⁾.

최근 심장을 포함한 적출장기의 보존방법에는 기본대사유지에 의한 보존과 대사억제 및 감소된 장기대사의 보조 등으로 대분할 수 있으며 기본대사 유지 보존법은 전혈을 이용, 장기에 정상온도 순환에 기초를 두며 생체외에서도 가능하나 많은 어려움이 있다.

1905년 Carrel과 Guthrie는 견적출심을 경부에 이식 보존을 성공하였으며, Mann 등도 이방법으로 약 4일

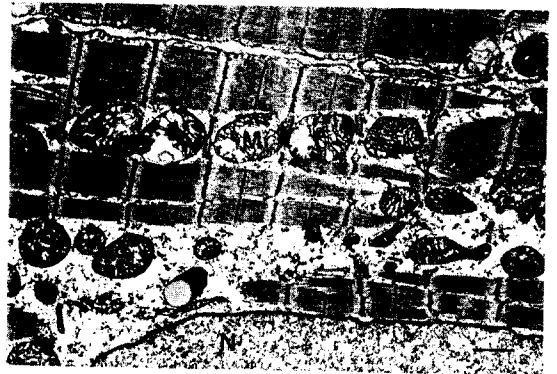


Photo. 9. Dog myocardium perfused with Collin's solution. The muscle cell is slightly edematous. Mitochondria show focal vacuolization(arrow heads). M; mitochondria, N; nucleus. Uranyl acetate and lead citrate, X12000.

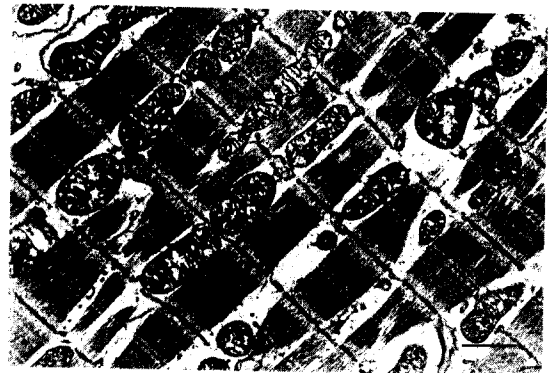


Photo. 10. Dog myocardium perfused with Collin's solution. Mitochondria show slight edema(arrow heads). The muscle cell is mild edematous. M; mitochondria. Uranyl acetate and lead citrate, X15000.

정도 강력한 심박동이 유지되었으며 면역요법으로 최장 46일간 생존하여 그후 이식술에 성공하였다^{45,73}). 그러나 인강심장의 실온순환보존은 중간개체 등의 어려움이 있다. Reitz 등은 실온의 자가순환박동 심폐모델을 이용 심폐 동시 이식시, 술전 보존법으로 6시간 정도 이용 가능하다고 하였다. Pitzele와 Dobell은 인공순환장치를 이용 견적출심을 정상온도에서 8~10시간정도 보존 유지시켰으나, 이경우에는 영양공급, 대사부유물제거 및 혈액소파과 제거를 위해 일정간격으로 신선혈액으로 교환하여 주어야 하는 불편이 있으며 일정한 감시 및 생리기능 측정을 요한다^{74,75}).

냉동보존법에 의한 대사억제법은 보존시에 감시나 생리기능 측정이 필요없으며, 장시간 보존이 가능하다. 그러나 냉동보호액인 glycerol, DMSO, glycols 등을 사용하여야 하나 이에 따른 독성이 문제가 될 수 있다.

Jacob은 어린개의 심장을 dimethyl sulfoxide(DMSO)와 dimethyl sulfone 혼합액으로 약 2시간 순환시킨후 $-6^{\circ}\text{C} \sim -8^{\circ}\text{C}$ 에서 약 20시간 보관한후 제거한 시켜 심장의 정상기능 회복이 약 30시간 유지되었으나, 성숙한 포유동물의 심장은 -20°C 이하의 냉동상태에서는 보관할 수 없으며, 더 높은 온도조건에서 단지 수분정도 보존이 가능하다고 하였다^{76,81}).

심근 대사를 감소시켜 보존하는 법으로 화학억제제, 저온법, 고압법 및 순환관류법 등의 복합방법을 이용할 수 있으며 화학억제제로는 Allopurinol, Phenoxybenzamine, Magnesium, 헤파린 및 glucocorticoid를 들 수 있다^{10,11}).

MgSO_4 의 효능은 조직의 대사요구의 감소뿐만아니라 심근의 세포막 이동잠재정의 보존과 관계가 있으며, Webb 등은 세포막의 보존유지를 도와 이온펌프의 기능을 연장시킨다고 하였다^{82,83}). Mg^{++} 은 또한 Calcium efflux를 방해하는 작용을 가지고 있다¹⁸). Holland는 Procaine과 Magnesium은 칼륨손실율을 감소시키며⁸⁴), Eyal은 대사 억제제에 Chlorpromazine을 첨가시 세포투과율과 안정성, Mitochondria 부종감소 등으로 세포파괴, Lysosomal 누출과 세포용해를 예방할것이라 하였다⁸⁵). Kamiyama 등은 4°C 저온과 MgSO_4 동시 사용시 위심장 보존기간을 단독보다 2배정도 연장할수 있다고 하였다⁸⁶).

Phenoxybenzamine은 α -receptor blocker로서 혈관경련을 예방하며, Steroid는 세포막 안정성, Lysosomal 효소유리예방, 항염증성, 면역억제 및 강심효

과 등을 가지므로 자가순환 심폐보존장치에 이용시 9시간내에 24시간보존이 가능하다고 하였다^{5,7}). 헤파린은 기증장기의 적출직전 대량(5mg/Kg) 주입하므로 미세순환장애를 예방하는 효과가 있다⁷). 저온법은 체온이 10°C 내려가면 산화대사는 50% 감소하며, 2°C 가 되면 정상체온치의 약 5% 정도 일어난다⁸⁷). Webb 및 Howard는 Tyrode 용액내 10% 혈장첨가하여 견심장을 4°C 에서 8시간 보존 시도하여 경부 이식술후 정상적인 회복을 얻었다고 하였으며⁸⁸), Lower, Shumway 등은 견심장을 $2\sim 4^{\circ}\text{C}$ 생리식염수내 4~7시간 보관후 이식술에 성공하였으나, 12시간 보관시 성공하지 못하였다^{89,90}).

고압산소요법은 조직에 직접 개스 통과로 장기의 대사요구를 충족시킬 것이라는 가정하 이용되었으나 적출장기의 조직내로 산소확산은 매우 제한되어 있다는 것을 알았으며, Lyons와 Feemster는 고압산소요법으로 조직대사를 감소시켜 장기보관에 이용될 수 있다 하였다^{91,92}). Huntley 등은 3기압하 보존시 산화효소계를 억제하며 산호 습취량을 감소시켜 부종과 세포내 효소유리를 감소시키는 효력이 있다고 보고하였다⁹³).

저온법과 고압산소법 동시 이용시 Lillehei, Manax 등은 견적출심을 pH 7.4의 2°C Tris-U 용액에 5% Dextran을 첨가하여 3기압하 보존시 24시간, 8기압하 48시간, 15기압하 최대 72시간 보관후 심장기능 회복을 얻을 수 있다고 하였으나 그 이상은 무리라 하였다⁹⁴⁻⁹⁷). Kondo는 원숭이 심장을 3~4기압하 $2\sim 4^{\circ}\text{C}$ 에 보관시 12시간이 안정보존의 한계였고⁹⁸), Siska는 $2\sim 3^{\circ}\text{C}$ Bretschneider 심근보호액내 담구어 7기압 고압산소 이용시 24시간 보존된다 하였다⁹⁹). 그외의 보고는 폐장 보관은 3기압, 심장은 8기압하 48시간 보존이 가능하다고 하였으나⁴⁴), 최근에는 고압법은 사용시 감압과정의 어려움과 공기색전발생위험 등으로 별로 이용하지 않는 경향이이다.

순환보존법은 장기에 계속적인 산소 및 영양공급이 가능하며 저온법 또는 고압산소법을 동시에 이용할 수 있다^{9,11}). 순환보존액에는 생물학적인 전혈, 혈장, 혈청 같은 혈액제와 인공순환제(Balance salt, Fluorochemical, Oil emulsion)로 대분된다. 전혈순환보존은 적정중화 및 산호운반능 제공으로 정상온 또는 저온하 이용되며 Levy 등은 기포형 인공산화기를 사용하여 견적출심을 11시간 이상 심박동 유지 시켰으며¹⁰⁰), 막형 인공산화기를 이용 전혈순환시 30°C 에서 9~11시간, $20\sim 28^{\circ}\text{C}$ 에서 12~14시간, 28°C 저온순환

시 36시간 심보존이 가능하였다^{75,101-103}).

Webb 등은 1983년 인간심장이식술에 성공하였으며 기증심장을 체외순환 시키는 혈액을 4°C로 만들어 1시간 정도 관류시켜, 이때 이식수술준비 하였으며 이식술중에도 관류시켰다²). Tago 등은 전혈순환보존시 30~32°C에서 85~90 mmHg압으로 순환하며 20 μ filter와 적정혈당치(100~200 mg/100ml) 유지시 24시간 동안 좋은 세포미세구조 보존을 얻었으며 경한 부종만 나타났다⁵⁹). 그러나 저온하에서는 적혈구의 산소운반이 필요치 않으며 Sludge, 파괴된 적혈구의 혈액소 침전 및 저온하 헤모그로빈 산소 결합이 강해 조직내 유리가 지연되는 등 여러가지 합병증이 올수 있으며⁷), 전혈은 혈구파괴, 백혈구 및 혈소판 파괴에 의한 응집과 혈장담백변성이 일어날 수 있는 단점이 있다¹¹). 혈장은 순환보존시 산소운반능이 낮으나, 저온하(26~28°C)에서는 용해산소운반능이 우수하지만, 많은 부담순환량을 요한다^{7,11}).

Feemster, Lillehei 등은 견적출심보관시 18~24°C 저온하 혈장순환으로 3기압이용 24시간 이상 심보관이 가능하였으나 이식심장의 생존은 보존시간이 길수록 짧다고 하였다^{104,105}). 알부민을 함유한 보존액은 팽창압제거 및 세포막 안정효과로 심장보존시 좋은 결과를 얻었으나, 본실험에서 알부민 첨가시 산화과정의 기포형성에 문제가 있었으며 기포제거 장치를 별도로 부착 하여야했다. Fluorchemical 용액은 높은 산소운반능을 가지고 있으며, Gollan 등은 독성문제에 대한 검토가 필요하다 했으며¹⁰⁸), 24시간 이상 보존성공도 보고되고 있다^{4,13}).

인위적 순환액인 등장염액의 잇점은 제조가 용이하며 다양한 조성을 이용할수 있으나 혈액이나 혈장같은 팽창압이나 점도의 결여가 있다. 혈장의 전해질 구성과 비슷한 조성액으로 저온하 심장순환관류시 1~6시간에 부종이 출현하며 심부전증이 나타난다^{109,112}). 저온하 관류보존시 보존온도는 24시간 보존시 0~3°C²³), 2.5°C¹⁸), 2~4°C⁹), 4°C^{27,28,33,57}), 5°C⁵), 4~7°C^{24,29}) 및 7°C^{25,46}) 등으로 대부분 8°C 이하의 저온을 유지하였다.

한편 PH 유지는 7.2¹⁷), 7.4^{5,46}), 6.85~6.95^{18,33}) 등을 이용하였으나 Wicomb 등은 저온 순환 보조시 칼슘항상성이 심근보호에 중추적 역할을 하므로 pH가 높은 상태(pH 7.2~8.0)에서는 Calcium dependent ATPase가 최대활동이나 근세망내로 칼슘축적을 방해하여 세포내 유리 칼슘농도가 증가하여 "Stone

heart"를 초래하므로 PH를 7.4에서 Phosphate buffer를 이용 6.85~6.95로 낮추므로 계속되는 에너지 생성하에서 세포칼슘유동의 에너지 소비를 제한하였다¹⁸). 인공관류액 조성에 의한 저온관류하 24시간 적출심장을 보존하는 경우 관류액은 변형 Krebs-Henseleit 용액^{12,14,30,33,43}), Collin's 용액^{7,13}) 및 Wicomb's 용액¹⁶⁻¹⁹) 등을 주로 이용하고 있으며 변형 Krebs 용액사용시 30 cm H₂O 압 이용 94% 기능회복^{12,14}), Albumin 첨가(25 gm/L) 18~21 cm H₂O압 이용시에 48시간후 이식술 성공 등을 보고하였다³³).

본 실험에서는 Krebs 용액을 15 mmHg압 이용으로 심박출량이 24시간에 약 10% 회복하였으나 Albumin 첨가는 5 gm/L 사용시에는 심부종 예방효과가 클 것이다. 한편 PGE₁은 관동맥의 이완 작용으로 저온 관류 보관시 적절한 미세순환을 유지할 목적으로 첨가되었다. 세포액과 유사한 Collin's 용액은 고농도 칼륨액으로 심근보다 신장보존에 유효하며⁷), 10% fluorocarbon 및 ATP-MgCl₂ 첨가시 견적출심 24시간 보존후 심박동수 분당 120회, 심박출량은 1.3L로 17Kg 정도개의 기능회복에 충분하다고 하였다¹³). 그러나 본 실험에서는 24시간 보존후 심기능회복을 얻지 못했으며 심장보존상태가 타용액사용시 보다 불량했으며 심부종이 심하게 나타났으며 촉감이 매우 단단하였다. Wicomb 등이 이용한 보존관류액은 관류압이 8~10 cm H₂O로 매우 낮게 이용하여 24시간 보존이 가능하였으며 인간심장이식시 이용하여 4례에서 7~17시간까지 이용 수술준비, 조직형검사 및 수층에 충분한 시간적여유를 얻었으며 모두 이식술후 생존하였다고 하였다¹⁶⁻¹⁹).

본 실험에서도 Wicomb 용액 이용시 심박출량 회복율이 약 90%로 매우 우수하였으며 Dopamine을 연속 주입할경우 완전 심장기능을 얻을 수 있었을 것이다. Wicomb 용액의 glycerol은 삼투제와 냉동보호제로 이용되었으며 냉동보호제는 대개 20°C 이하에서 미토콘드리아 손상에 대한 보호효과가 있다.

Taurine은 포유동물의 심근내에서 발견되는 유리아미노산의 절반을 점하며 세포칼륨 손실을 감소시키며 Magnesium-ATPase에 보호효과가 있으며 24시간 보존시 심근에서 LDH 유리가 격감하였다¹⁶). Mg⁺⁺은 Calcium efflux를 방해하는 작용을 가지며, 고농도 나트륨은 삼투압 증가와 나트륨-칼슘 교환기전을 촉진시켜 세포내 칼슘 축적을 예방한다¹⁸).

한편 Wicomb 용액에 이용된 Phenoxybenzamine은

α -receptor blocker로서 혈관경련을 예방하는 효과와 Procanine의 국소마취효과에 의한 세동맥확장, Chlorpromazine의 Lysosomal Membrane를 포함한 세포막의 안정제 역할로 Mitochondria 부종예방효과 등이 있다¹⁶⁻¹⁹⁾. Kondo는 Vesprin(triflupromazine)이 Chlorpromazine 보다 더 우수한 기능이 있는 것 같았다.

본 실험에서는 Phenoxybenzamine은 구입곤란으로 이용치 못했다.

고 삼투압을 이용하기 위해 Dextran⁵⁾, Mannitol^{25, 40)}, Glycerol¹⁶⁻¹⁹⁾, Glucose^{7, 36)}, Sucrose^{16-19, 36)}, Protein²⁴⁾, Albumin^{32, 33, 35)} 등이 이용되었으며 삼투압이 313 mOsm^{32, 33)}, 385 mOsm^{16, 17, 19)}, 410 mOsm¹⁸⁾, 420 mOsm²⁵⁾, 500 mOsm³⁶⁾ 등으로 이용되고 있다.

관류보존액의 K⁺ 농도는 Athreya 등은 9.6~9.8 mg/L 정도 고농도가 심근의 탈분극으로 나트륨펌프를 자극하며^{23, 113, 114)}, 한편 칼슘농도는 완전제거보다 소량일수록 좋다고 하였다^{5, 11, 39, 116)}. 보존심장의 이식후 재관류손상을 예방하기 위해 SOD, CAT 및 Fructose-1.6 Diphosphate 등을 첨가하는 경우와 온도 유지를 37°C보다 20°C에서 시작하는 것이 재관류손상을 예방할 수 있다 하였다^{49, 52, 53, 54)}.

Wicomb 등은 저온연속관류보존시 관류액을 사용직전 제조하여 0.8 μ 필터를 통해 약 3L정도 주입하며, 97% O₂+3% CO₂ 개스이용 PH 7.2로 유지시켜 Air ejector port에 의한 용액운반원리(air lift pump)를 이용하여 20 μ 필터 통과된 분당 60~120 ml 용액을 8~10 cm H₂O압으로 관류시키며 보존장치 전체를 얼음통에 넣고서 이용하였다¹⁶⁻¹⁹⁾. Trunkey는 견심장을 8~10°C, 24시간 냉동혈장사용하 순환보존시에 심부종예방을 위해서는 관류압이 15~20 cm H₂O 정도, 관류량은 소량(0.3~0.5 ml/gm/min)이 좋다고 했다¹¹⁷⁾. 순환관류보존장치로서, 현재 판매되고 있는 기계는 장기보존실, 인공산화기(막형체), 열교환기, 펌프(박동형), 필터, 냉각장치 및 기능감시장치 등을 갖춘 고가제품으로 부피가 커서 이동의 어려움이 있으며, 너무 복잡해서, 임상에 이용하기 위해 회로의 단순화, 부피감소, 및 가격감소 등을 요하는 실정이며⁹⁾, Wicomb 등은 순환을 위해 기계적 또는 전기적 작동펌프가 필요없는 간단한 보존장치를 개발하였으며 이기구는 사용이 간편하고, 전적으로 이동형이며 일단 개스주입이 시작되면 더이상 주의가 필요치 않는

장점이 있는 이동형저온순환관류 보존장치를 개발하여 이용하고 있다. 이에 저자는 Wicomb이 개발한 Air-lift pump 원리를 이용하여 인공산화기, 펌프 및 감시장치를 제거한 간단하며, 부피가 적고 염가제작이 가능한 관류 보존 장치를 변형 조립하였으나 온도 조절은 4°C 냉장고(소형) 속에 넣어 조절한 반면 Wicomb은 보존장치 주위에 얼음으로 온도 조절하였다. Proctor와 Parker는 산화기없이 펌프와 저장조로 구성된 간단한 순환장치를 이용하였다⁵⁾.

이와같이 장기순환보존법에는 회로디자인, 산산화, 순환압력펌프, 인조물질, pH 및 온도조절 등 기술적 요소가 문제되며 펌프는 박동형과 비박동형 어느것이 좋으냐는 일반적으로 정상온도하 혈액사용시는 박동형이 좋으나, 저온하에서는 비 박동형도 별 문제가 없는 것 같다⁹⁾.

이에 저자는 본 관류장치에 공기류량조절 및 상부저장조의 공기범람계의 구멍크기 조절로서 박동형 및 비박동형 어느 것이나 이용이 가능하게 하였다. 온도 유지는 2~4°C가 가장 이상적인데 열교환기 이용, 순환 회로장치주위 전체를 얼음으로 충전한 간단한 이용 등이 있으나 본 실험에서는 4°C 냉장고 속에넣어 이용하였으나 소형 12Volt(DC) 자동차 냉장고 이용시 이동성에 별 문제가 없을 것 같다. 순환압은 저온하 장기에서는 혈관저항이 증가될 수 있어 저압이용이 필요할 것 같으며 부종 발생도 감소될 것이다.

저자는 산소(IL/min) 유입으로 상부저장조에 분당 약 120 ml 정도 산소화된 관류액이 모이게하며 이때 일정높이압(15 mmHg) 이상시 범람되게 장치하였다. 저온하에서 세포막활동의 감소로 인해 나트륨 및 물의 세포내유입으로 부종을 초래하며, 10°C에서 고압, 다량관류시 24시간 보존후 약 50~120% 부종초래하나, 저압소량관류시 약 30% 정도 발생한다¹¹⁷⁾. 장시간 보존시에는 독성물질 등 노폐물이 발생될수 있어 대량의 관류액을 사용하거나 주기적 교환 등으로 예방하여야 한다^{9, 16, 19)}.

본 실험에서는 관류액을 1회 약 2L 정도 이용하였으며 재교환은 실시하지 않았다. 기증장기의 생존능력평가는 심장의 경우 정상심전도, 정상혈압 및 심박출량 유지 및 심근효소(CPK-MB, LDH)의 정상치를 들수 있으나, 시험관에서 생존능력 검사는 혈액학적 측정치로서 관류량 및 저항측정^{8, 17)}, 장기색갈 및 중량변화측정과 심근탄성과 에너지저장관계를 검색하는 NMR 평가⁴⁷⁾가 있다.

본 교실에서는 조립한 순환 보조 장치와 각종 순환액 이용시 회복능 예측은 24시간후 견적출심 관류장치에 부착하기 직전 측정법으로 심근이완 상태를 측정하므로써 가장 간단한 검색법이 될수 있다. 세포괴사정도 측정에는 SGOT, SGPT, LDH 및 CPK-MB, ATP와 CP, Lactate와 pyruvate, Triglyceride와 free fattyacid 등이 검사되고 있다.

Tetrazolium bromide(TTB) 검사는 Terasaki에 의해 기술되었으며 신장 및 심장의 신속검색법으로, 표면 pH 측정, 심근조직 PCO₂ 측정⁵⁰⁾도 간단히 이용될 수 있다. 장기기능 평가는 37℃까지 재가온시킨후 동-정맥 단락술을 이용하든지, 체외순환법을 이용 심기능을 측정할 수 있으나, 이런 조건하 기능검사한 것이 동소이식한 후 기능과 유의한 관계가 있는지는 확실치 않으나, 이 방법은 기술적 어려움이 있으나 이식술에 의한 기능검사보다 더욱 편리하며 경제적인것 같다^{8,74,103)}.

본 실험에는 심기능 회복상태를 Langendorff의 Non-Working heart perfusion 및 Neeley의 Working perfusion을 동시에 이용하여 고안한 회로를 이용하였으며, 매우 일정한 조건과 신속접속 등으로 심기능 검색에 유의한 방법으로 이용될 수 있다. 한편, 형태학적 변화는 광학현미경 및 전자현미경적 소견으로 심보존 상태를 알수 있으며^{4,8,23,55,57,58)}, Birefringence 측정으로 수분내(30분) 보존 결과를 알수도 있으며 혈액학적 성적과 일치한다고 하였다⁶⁰⁾. 가장 간편한 방법은 이식직전 심장보존 상태의 측정법 평가와 보존중의 관류량 및 관저항 측정인것 같다.

이식술에 의한 장기기능 평가는 이종이식시 거부반응에 대한 심장의 혈액학적 및 심근조직 검사의 변화를 초래하므로 자가이식이 좋은 것 같다¹⁹⁾.

기증심장의 이용중, 사체심장의 보존에 대한 장기 보존법이 사망 15분~128분 후 심폐소생술을 실시하여 적출심장을 소생시킬 수 있다고 하였으며^{6,15,39)}, 뇌사 상태에서는 심근에너지 저장 및 유리홀몬(T3, Cortisol 및 Insulin)의 고갈을 초래하므로써 이런 효과에 의해 이식술후 조기 심부전증이 발생하는 것을 예방하기 위해 유리홀몬을 투여하여 산소 소비량을 정상으로 회복시켜 기능적 안정회복을 이루어야 한다^{20,21,22)}. 기증심장의 운송시 단순수세 보존법으로 약 4~5시간 정도 보존이 가능하므로 신속운송 체계의 확립으로 간단히 이송될 수 있으며, Thomas는 1400 Km 거리에서 전세 제트기를 이용하여 기증심장을 수술실

까지 운반하는데 약 2~3시간 소요되어 수술에 임할 수 있다고 하였으나^{26,56)}, 이동형 저온순환보존장치를 이용시에는 장거리운반이 가능하며 극히 응급상황의 환자수술에 장시간 보관(24~48시간) 중인 심장을 이용할수도 있으나, 아직 임상이용은 제한되어 있으며, 이 방법이용시에는 심근손상은 심장적출 및 보관전의 기증자 심장의 자체손상이 문제이며, 이것이 해결된 경우 저온순환관류보존으로 24~48시간 적출심의 일상적 보존이 임상에서 가능하리라 생각된다¹⁹⁾.

V. 결 론

견적출심을 4℃ 연속적으로 보존장치를 이용하여 15 mmHg압으로 24시간 보관하였으며 보존액은 Krebs-Henseleit 용액(제 1군), Krebs 용액에 Albumin 및 PGE₁ 첨가(제 2군) Wicomb씨 용액(제 3군), 및 Collin씨 용액(제 4군)으로 구분 사용하였다.

각군의 심기능 회복의 혈액학적 검색은 심이식술을 시행하지 않고, 본교실에서 변형조립한 심기능 평가를 위한 견적출 심장의 관류 장치⁶⁵⁾를 이용하여 심박동수, 대동맥 수축기압, 좌심방압 및 심박출량을 측정하였으며 24시간 보존후 Working heart perfusion시 저혈조에서 관류액을 채취하여 생화학적 및 심근효소적 검사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 심박동수(회/분)는 제 1군이 41.6±5.5%, 제 2군이 53.4±1.9%, 제 3군이 108.9±3.4%로 회복하여 제 3군이 매우 유의한 회복율을 보여주었다(p<0.001). 한편 제 4군은 심박동 재개를 얻지 못하였다.

2) 수축기 동맥압(mmHg)은 제 1군이 63.3±1.9%, 제 2군이 94.9±17.6%, 제 3군이 94.3±2.9%로서 제 3군이 유의한 회복율을 보여주었다(p<0.05).

3) 좌심방압(mmHg)은 제 1군이 20.0±0.5 mmHg, 제 2군이 13.5±0.5 mmhg, 제 3군이 11.2±0.9 mmHg로 제 3군이 유의한 적은 증가소견을 보여 심장상태가 양호함을 보여주었다(p<0.01).

4) 심박출량(ml/min)은 대동맥 박출량과 관관류량을 합하여 얻었으며, 제 1, 제 4군은 대동맥 박출량을 얻을 수 없었으며, 제 2군 69.1±11.3%, 제 3군이 90.7±9.0% 회복으로 제 3군에서 더 높았으나 양군간의 유의한 차이는 없었다(p=0.24).

5) 심부종의 정도는 24시간 보존후 제 1군이 17.5±2.5%, 제 2군이 24.6±8.8%, 제 3군이 20.9±5.6%,

제 4군이 55.3±16.9% 증가 하였으나 각군간의 유의한 차이는 없었다(p=0.08).

6) 생화학적 및 심근효소검사 소견은 대동맥 박출량을 얻을 수 있었던 제 2, 제 3군만 채취하여 측정하였으며, SGOT(U/L)의 증가는 제 2군이 522.9±10.4%, 제 3군이 333.3±89.6%로서 양군의 유의한 차이는 없었다(p=0.26).

한편 CPK-MB(U/L)의 증가는 제 2군 749±89.1%, 제 3군 332.1±96.2%의 증가로 유의한 차이를 보여 주었다(p<0.05). Glucose(mg/dl) 치는 제 2군 60.5±3.5% 보다 제 3군에서 더 높게(78.2±3.8%) 유지되었다(p<0.05).

7) 심근의 조직생검은 30분~60분간 Working heart perfusion 실시 후에 조직생검을 실시 하였으며, 각군의 전자현미경적 소견은 대부분에서 심근 세포의 경한 부종과 미토콘드리아의 부종소견을 보였다. 이와같은 전자현미경적 소견은 회복이 가능한 가역성의 변화였으며, 제 1, 4군의 회복불량은 생리학적 기전의 손상에 기인한 것으로 추정된다.

이와같은 실험 결과를 통하여 본교실에서는 제조한 저온하 심보존 관류장치를 이용하여 이들의 소독 멸균법, 섬세한 필터의 사용, 심근보호액 및 관류 보존액의 제조법 개발 등으로 인체에서도 24시간 적출심 보존이 가능할 것이며, 간단한 이동형 보존장치의 개발로 시간과 장소에 구애됨이 없이 원거리 수송과, 조직학적 검사와 수술준비 등에 필요한 충분한 시간을 얻을 수가 있어 인체의 심장이식수술시 유효하게 이용될 수 있을 것이다.

REFERENCES

1. Lower RR, Stofer RC, Hurley EJ, Dong E, Cohn RB, and Shumway NE: *Successful homotransplantation of canine heart after anoxic preservation for seven hours.* *Am J Surg* 104:302-306, 1962.
2. Webb WR, Sugg WL, and Ecker RR: *Heart preservation and transplantation.* *Am J Cardiol* 22:820-825, 1968.
3. Pegg DE: *The future of organ preservation.* *Transplantation* 16:147-148, 1984.
4. Wechsler AS, ABD-Elfattah AS, Murphy CE, Salter DR, Brunsting LA, Goldstein JP: *Myocardial protection.* *J Cardiac Surg* 1:271-306, 1986.
5. Proctor E, Parker R: *Preservation of isolated heart*

- for 72 hours. *Brit Med J.* 4:296-298, 1968.
6. Cooper DKC: *Resuscitation and canine cadaver heart.* *J Cardiac Surg* 70:896-908, 1975.
7. Humphries AL, Liu WP: *Preservation media: perfusates.* In Karow AM, Abouna GJM, Humphries AL(Ed): *Organ preservation for transplantation.* Boston: Little, Brown and Company, 1974. p.110.
8. Abouna GJM: *Viability assays in organ preservation.* In Karow AM, Abouna GJM, Humphries AL(Ed): *Organ preservation for transplantation.* Boston: Little, Brown and Company, 1974. p.110.
9. Abouna GJM: *Perfusion technology.* In Karow AM, Abouna GJM, Humphries AL(Ed): *Organ preservation for transplantation.* Boston: Little, Brown and Company, 1974. p.239.
10. Turner MD: *Metabolic inhibition.* In Karow AM, Abouna GJM, Humphries AL(Ed): *Organ preservation for transplantation.* Boston: Little, Brown and Company, 1974. p.260.
11. Pitzele S: *Heart.* In Karow AM, Abouna GJM, Humphries AL: *Organ preservation for transplantation.* Boston: Little, Brown and Company, 1974. p.312.
12. Kawakami T, et al: *Prolonged in vitro preservation of the isolated heart.* *JJATS* 25:640-645, 1977.
13. Suzuki S, et al: *Preservation of canine heart for 24 hours by retrograde coronary sinus microperfusion.* *JJATS* 33:139-146, 1985.
14. Oei SS: *Experimental study on the myocardial metabolism of the heart preserved by 4°C hypothermia coronary perfusion method.* *JJATS* 27:874-886, 1979.
15. Hamada Y: *The important factor in preservation of cadaver heart.* *JJATS* 28:1654-1667, 1980.
16. Wicomb WN, Cooper DKC, Hanssoulas J, Rose AG, Barnard CN: *Orthotopic transplantation of the baboon heart after 20 to 24 hours preservation by continuous hypothermic perfusion with an oxygenated hyperosmolar solution.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 83:133-140, 1982.
17. Wicomb WN, Cooper DK, Novitzky D, Barnard CN: *Cardiac transplantation following storage of the donor heart by a portable hypothermic perfusion system.* *Ann Thoracic Surg.* 37:243-248,

- 1984.
18. Wicomb WN, Cooper DKC, Lanza RP, Novitzky D, Isaacs S: *The effects of brain death and 24 hours storage by hypothermic perfusion on donor heart function in the pig. J Thorac Cardiovasc Surg* 91:896-909, 1986.
 19. Wicomb WN, Novitzky D, Cooper DKC, Rose AG: *Forty-eight hours hypothermic perfusion storage of pig and baboon hearts. J Surgical Research* 40:276-284, 1986.
 20. Wicomb WN, Rose AG, Cooper DKC, Novitzky D: *Hemodynamic and myocardia histologic and ultrastrural studies on baboons from 3 to 27 months following autotransplantation of hearts stored by hypothermic perfusion for 24 or 48 hours. J heart transplantation* 5: 122-129, 1986.
 21. Novitzky D, Cooper DKC, Wicomb WN, Reichart B: *Hemodynamic changes, myocardial injury, and pulmonary edema induced by sympathetic activity during the development of brain death in the baboon. Transplantation proceedings* 18:609-612, 1986.
 22. Novitzky D, Wicomb WN, Cooper DKC, Reichart B: *Evidence of myocardial and renal funtional recovery following hormonal treatment after brain death. Transplantation proceedings* 18:613-615, 1986.
 23. Copeland JG, Mones M, Spragg R, Stinson EB: *In vitro preservation of canine hearts for 24 to 28 hours following by successful orthotopic transplantation. Ann Surg* 178:687-692, 1973.
 24. Toledo-Pereyra LH, Shap HL, Condie RM, Chee M, Lillehei RC, Najarian JS: *preservation of canine hearts after warm ischemia(zero to thirty minutes) and one to two days of hypothermic storage. J Thorac Cardiovasc Surg* 74:594-603, 1977.
 25. Toledo-Pereyra LH, Shap M, Lillehei RC: *Effects of pulsatile perfusion pressure and storage on Hearts preserved for 24 hours under hypothermia for transplantation. Ann Thorac Surg* 27:24-31, 1979.
 26. Thomas FT, Szentpetery SS, Mammana RE, Wolfgang TC, Lower RR: *Long-distance transplantation of human hearts for transplantation. Ann Thorac Surg* 26:344-350, 1978.
 27. Swanson DK, Dufek JH, Kahn DR: *Improved myocardial preservation at 4°C Ann Thorac Surg* 30:519-526, 1980.
 28. Warner M, Guerraty A, Alivizatos P, Choi SC, et al: *Assessment of myocardial subcellular function after 24 hours of in vitro preservation and transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg* 83:290-297, 1982.
 29. Christlieb IY, Clark RE: *Adequacy of the perfusate: Its influence on successful myocardial protection. J Thorac Cardiovasc Surg* 84:689-695, 1982.
 30. Suaudeau J, Shaffer B, Daggett WM, Austen WG, et al: *Role of procaine and washed red cells in the isolated dog heart perfused at 5°C. J Thorac Cardiovasc Surg* 84:886-896, 1982.
 31. Swanson DK, Myerowitz PD, Wis M: *Effect of reperfusion temperature and pressure on the functional and metabolic recovery of preserved hearts. J Thorac cardiovasc Surg* 86:242-251, 1983.
 32. Pennock JL, Root M, Ebersole TF, Waldhausen JA: *Preservation of high-energy phosphates during 24 hours of in vitro perfusion. Surg Forum* 34:241-244, 1983.
 33. Guerraty A, Bettex P, Beaudet RL, Porier N, Doyle D, Corman J: *Forty-eight-hour preservation of the isolated canine heart prior to heterotopic cardiac transplantation. Transplantation proceedings* 18:156-160, 1984.
 34. Foreman J, Pegg DE, Armitage WJ: *Solutions for preservation of the heart at 0°C. Thorac cardiovasc Surg* 89:867-871, 1985.
 35. Kioka Y, Tago M, Bando K, Seno S, Shinozaki Y, et al: *Twenty-four-hour isolated heart preservation by perfusion method with oxygenated solution containing perfluorochemicals and albumin. J Heart Transplant* 5:437-443, 1986.
 36. Bergren C, Mackenzie GH: *Functional and histologic evaluation of heart preservation solutions. Transplantation proceeding* 18:607-608, 1986.
 37. Beeman SK, Shuman TA, Perna AM, et al: *Intermittent reperfusion extends myocardial preservation for transplantation. Ann Thorac Surg* 43:484-489, 1987.
 38. Kohno H, Shiki K, Ueno Y, et al: *Cold storage of the heart for transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg* 93:86-94, 1987.
 39. Arikawa K: *Cadaver heart preservation and trans-*

- plantation. *JJATS* 28:1643-1653, 1980.
40. Lucas SK, Elmer EB, Flaherty JT, Bulkley BH, et al: *Mechanism of improved myocardial preservation with hyperosmolar postischemic reperfusion. Surg forum* 31:305-307, 1980.
 41. Casale AS, Bulkley BH, Flaherty JT, et al: *Oxygen free-radical scavengers protect the arrested, globally ischemic heart upon reperfusion. Surg Forum* 34:313-316, 1983.
 42. Jones JW, Gionis TA, Nichols RL, et al: *Myocardial preservation with fructose 1, 6-diphosphate: energy without oxygen. Surg Forum* 31:307-309, 1980.
 43. Wisman CB, Waldhausen JA, Pierce WS, et al: *Preservation of myocardial high-energy phosphates during ischemia in the isolated perfused neonatal pig heart: A comparison of hypothermic potassium cardioplegia with hypothermia alone. Surg Forum* 315-316, 1982.
 44. Largiader F, Manax WG, Lyons GW, et al: *In vitro preservation of canine heart and lung. Arch Surg* 91:801-804, 1965.
 45. Wells PH, Phalakornkul S, Ramsey HW, et al: *Cardiac function after prolonged storage in an intermediate host. J Thorac Cardiovasc Surg* 62:869-878, 1971.
 46. Mendler N, Struck E, Sebening F: *Orthotopic canine heart transplantation after 24 hours cold perfusion. Transplantation Proceedings* 16:173-176, 1984.
 47. Walpoth BH, Bleese NM, Modry DL, Jardetzky NW, et al: *Assessment of myocardial compliance and energy reserves(NMR) after hypothermic storage for 24 hours: A simple screening model for cardiac preservation. Surg Forum* 34:244-247, 1983.
 48. Solis E, Tyce GM, Bianco R, et al: *High energy phosphates and catecholamine stores after prolonged ex vivo heart preservation. J Heart Transplant* 5:444-449, 1986.
 49. Burt JM, Copeland JG: *Myocardial function after preservation for 24 hours. J Thorac Cardiovasc Surg.* 92:238-246, 1986.
 50. Orita H, et al: *Kinetic analysis of myocardial tissue PCO₂ and evaluation of cardiac functional recovery in experimental heart transplantation. JJATS* 35:943-947, 1987.
 51. Lee Chong Kook: *An experimental study on the myocardial protection effects of the cardioplegic solution. Koran J Thorac Cardiovasc Surg* 13:321-334, 1980.
 52. Kao RL, Magovern GJ: *prevention of reperfusional damage from ischemic myocardium. J Thorac Cardiovasc Surg* 91:106-114, 1986.
 53. Metzdorff MT, Grunkemeier GL, Starr A: *Effect of initial reperfusion temperature on myocardial preservation. J. Thorac Cardiovasc Surg* 91:545-550, 1986.
 54. Kohno H, Toshima Y, nakamura Y, et al: *Beneficial effects of hypothermic reperfusion on metabolic and functional recovery after cold storage of the rat heart. J Heart transplant* 6:49-53, 1987.
 55. Spray TL, Watson DC, Roberts WC: *Morphology of canine hearts after 24 hours preservation and orthotopic transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg* 73:880-886, 1977.
 56. Billingham ME, Baumgartner WA, Watson DC, et al: *Distant heart procurement for human transplantation: Ultrastructural studies. Circulation* 62: suppl. 11-19, 1982.
 57. Bethencourt DM, Laks H: *Importance of edema and compliance changes during 24 hours of preservation of the dog heart. J Thorac Cardiovasc Surg* 81:440-449, 1981.
 58. Lurie KG, Billingham ME, Masek MA, Gingurg R, Bristow MR: *Ultrastructural and functional studies on prolonged myocardial preservation in an experimental heart transplant model. J Thorac Cardiovasc Surg* 84:122-129, 1982.
 59. Tago M, Subramanian R, Kaye MP: *Light and electron microscopic evaluation of canine hearts orthotopically transplanted after 24 hours of extracorporeal preservation. J Thorac Cardiovasc Surg* 86:912-919, 1983.
 60. Darracott-Cankovic S, Wheeldon D, et al: *Biopsy assessment of fifty hearts during transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg* 93:95-102, 1987.
 61. Jamieson SW, Oyer PE, Biebewr CP, Hunt SA, Billingham M, Miller J, Gamberg P, Stinson EB, Shumway NE: *Cardiac transplantation at Stanford. Heart Transplant* 2:243-244, 1983.
 62. Solis E, Kaye MP: *The Registry of the Interna-*

- tional society for heart transplantation: Third Official report: June 1986: *J Heart Transplant* 5:1-10, 1986.
63. HH Choi, JS Chang, CK Lee: *Prolonged aortic cross-clamping time of open heart surgery (200min)*. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg* 16:295, 1983.
 64. Chong Kook Lee, Hyung Ho Choi: *Perfusion techniques using the modified isolated working rat heart model*. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg* 13:338, 1980.
 65. CK Lee, KD Kim, HK Kim, BK Cho: *Isolated working canine heart perfusion apparatus for evaluation of myocardial protection method*. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg* 21:246, 1988.
 66. Legallois C J: *Experiences sur le Principe de la vie. Notamment sur Celuides Movements du Coeur dt sur le Siege de ce Principe: Suivies du rapport Fait a la Premiere Classe de L Institut sur Cells Relatives aux Mouvements du Coeur. Paris: D Hautel, 1812. cited by No.11*
 67. Ringer S: *Concerning the influence exerted by each of the constituents of the blood on the contraction of the ventricle* *J Physiol(Lond)* 3:380, 1881.
 68. Langendorff O: *Untersuchungen am uberlebenden Saugthierherzen*. *Pfluegers Arch Ges Physiol* 61:291, 1895.
 69. Brodie TG: *Perfusion of surviving organs*. *J Physiol(Lond)* 29:266, 1903.
 70. Daly IB, and Thorpe WV: *An isolated mammalian heart preparation capable of performing work for prolonged periods*. *J Physiol(Lond)* 79:199, 1933.
 71. Carrel A, and Lindbergh CA: *The culture of whole organs*. *Science* 81:621, 1935.
 72. Carrel A, and Lindbergh CA: *The Culture of Whole Organs*. New York: Hoeber, 1983.
 73. Carrel A, and Guthrie CC: *The transplantation of veins and organs*. *Am med* 10:1101, 1905.
 74. Pitzele S, Charrette EJ, Dobell ARC, and maclean LD: *Method and apparatus for functional evaluation of isolated hearts*. *Surg* 64:308, 1968.
 75. Pitzele S, and Dobell ARC: *Functional evaluation of isolated heart at normothermia and following 8-hour preservation at 30°C*. In JC Norman(Ed): *organ Perfusion and Preservation*. New York: Appleton-Century-Crofts 1968. p.513.
 76. Jacob SW: *Studies in organ preservation by actual freezing and reduction of the freezing point*. *Cryobiology* 1:176, 1964.
 77. Karow AM: Jr *Biological effects of cryoprotectants as related to cardiac cryopreservation*. *Cryobiology* 5:429, 1969.
 78. Karow AM, Jr. and Shlafer M: *Ultrastructural and functional effects of freezing rat hearts to -10°C and -20°C without a cryoprotectant*. *Trans. AM Soc Artif Intern Organs* 17:53, 1971.
 79. Karow AM, Jr Webb WR, and Stapp JE: *Preservation of hearts by freezing* *Arch Surg* 91:572, 1965.
 80. Luyet B, *A review of research on the preservation of hearts in the frozen state*. *Cryobiology* 8:190, 1971.
 81. Rapatz G, *Some problems associated with the freezing of hearts*. *Cryobiology* 7:157, 1970.
 82. Webb WR, Jones FX, and Sugg WL: *Magnesium and transmembrane potential*. *Fed Proc* 27:579, 1968.
 83. Webb WR, Wax SD, Jones FX, Kamiyama T, Sugg WL, and Ecker RR: *Metabolic Inhibitors in Preservation*. In JC Norman(Ed): *Organ Perfusion and Preservation*. New York: Appleton-Century-Crofts 1968. p.121.
 84. Holland WC: *Action of anesthetic agents on loss of potassium from isolated guinea pig auricles*. *J Pharmacol Exp Ther* 111:1, 1954.
 85. Eyal Z, Manax WG, Bloch JH, and Lillehei RC: *Utilization of chlorpromazine in heart storage and its combined use with hyperbaric oxygen and hypothermia*. *Surg Gynecol Obstet* 120:1237, 1965.
 86. kamiyama TM, Webb WR, and Ecker RR: *Preservation of the anoxic heart with a metabolic inhibitor and hypothermia*. *Arch Surg* 100:569, 1970.
 87. Feemster JA, Idezuki Y, Dietzman RH, Lillehei RC, and Manax WG: *The use of hypothermia, hyperbaria and metabolic inhibitors in organ preservation*. *Vasc Surg* 4:141, 1970.
 88. Webb WR, and Howard HS: *Restoration of function of refrigerated heart*. *Surg Forum* 8:302, 1957.
 89. Claveland RJ, and Lower RR: *Transplantation of canine cadaver hearts after short term preservation*. *Transplantation* 5:904, 1967.

90. Lower RR, Stofer RC, Hurley EJ, Dong E, Jr Cohn RB, and Shumway NE: *Successful homotransplantation of canine heart after anoxic preservation for seven hours.* *Am J Surg* 104:302, 1962.
91. Lyons GW, Dietzman RH, and Lillehei RC: *On mechanism of preservation with hypothermia and hyperbaric oxygen.* *Trans. Am Soc Artif Intern Organs* 12:236, 1966.
92. Feemster JA, Idezuki Y, Dietzman RH, Lillehei RC, and Manax WG: *The use of hypothermia, hyperbaria and metabolic inhibitors in organ preservation.* *Vasc Surg* 4:141, 1970.
93. Huntley R, Bartholomew B, Bielanski E, Homatas J, and Eiseman B: *Effect of Hyperbarism on Weight Gain of Liver during Perfusion Storage.* In *JC Norman(Ed): Organ Perfusion.* New York: Appleton-Century-Crofts 1968. p.305.
94. Lilljrjo RC, Manax WG, Bloch JH, Eyal Z, Hidalgo F, and Longerbeam JK: *In vitro preservation of whole organs by hypothermia and hyperbaric oxygenation.* *Cryobiology* 1:181, 1964.
95. Manax WG, Bloch JH, Eyal Z, Lyons GW, and Lillehei RC: *Hypothermia and hyperbaria: Simple method for whole organ preservation.* *JAMA* 192:755, 1965.
96. Manax WG, Largiader F, and Lillehei RC: *Whole canine organ preservation: Prolongation in vitro by hypothermia and hyperbaria.* *JAMA* 196:105, 1966.
97. Bloch JH, Manax WG, Eyal Z, and Lillehei RC: *Heart preservation in vitro with hyperbaric oxygenation and hypothermia.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 48:969, 1964.
98. Kondo Y, Gradel FO, Chaptal P, Meier W, Cottle HR, and Kantrowitz A: *Immediate and delayed orthotopic homotransplantation of the heart.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 50:781, 1965.
99. Siska K, Holec V, Fedelesova M, Ziegelhoffer A, Slezak J, Styk J, Petras J, and Tregerova V: *Investigation of heterotopically transplanted dog heart after preservation.* *Transplantation* 9:93, 1970.
100. Levy, et al: *Isolation and storage of artificially oxygenated mammalian hearts.* *JAMA* 109:106, 1965.
101. Pitzele S, Sze S, and Dobell ARC: *Gas exchange across a liquid-liquid interface.* *Trans Am Soc Artif Intern. Organs* 18:375, 1872.
102. Pitzele S, Sze S, Hagemann A, and Dobell ARC: *A liquid-liquid oxygenator utilizing oxygen-saturated inert fluorocarbon for organ perfusion-preservation.* *surg* 68:1079, 1970.
103. Pitzele S, Sze S and Dobell ARC: *Functional evaluation of the heart after storage under hypothermic coronary perfusion.* *Surg* 70:569, 1971.
104. Feemster JA, Idezuki Y, Dietzman RH, Lillehei RC, and Manax WG: *The use of hypothermia, hyperbaria and metabolic inhibitors in organ preservation.* *Vasc Surg* 4:141, 1970.
105. Feemster JA, and Lillehei RC: *Hypothermic-hyperbaric pulsatile perfusion for preservation of the canine heart.* *Transplant Proc* 1:138, 1969.
106. Ferrans VJ, Levitsky S, Buja LM, Williams WH, McIntosh CL, and Roberts WC: *Histological and ultra-structural studies on preserved hearts.* *Circulation* 41(Suppl. 2):104, 1970.
107. Levitsky S, Williams WH, Detmer DE, McIntosh CL, and Morrow AG: *A functional evaluation of the preserved heart.* *J Thorac Cardiovasc Surg* 60:625, 1970.
108. Gollan F, and Clark LC: *Jr Organ perfusion with fluorocarbon fluid.* *Physiologist* 9:191, 1966.
109. Garzon AA, Kornberg E, Pangan J, Stuckey JH, and Karlson KE: *Myocardial contraction after 24 hours of hypothermic(4°C) storage.* *Cryobiology* 5:347, 1969.
110. Malinin TI, and Perry VP: *Observations on contracting monkey hearts maintained in vitro at hypothermic temperature.* *Johns Hopkins Med J* 122:380, 1968.
111. Perry VP, Lindbergh CA, Malinin TI, and Mauer GH: *Pulsatile Perfusion of Whole Mammalian Organs.* In *JC Norman(Ed): Organ perfusion and Preservation* New York: Appleton-Century-Crofts 1968. p.203.
112. Stockmann U, Liepe B, Wallner F, and Buchel ES: *Organ preservation: A comfortable experimental storage system for rat hearts.* *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 17:49, 1971.
113. Athreya BH, Coriell LL, Greene AE, and Lehr HB: *Preservation of functioning rabbit hearts in*

- vitro. Preliminary communication on a new approach. Arch Surg 97:947, 1968.*
114. Athreya BH, Coriell LL, Greene AE, and Lehr HB: *In vitro preservation of functioning rabbit hearts in a depolarized state at 4 C. Cryobiology 5:403, 1969.*
115. Proctor E: *Preservation of the dog heart for 96 hours at 4°C. Br J Surg 58:306, 1971.*
116. Proctor E: *Early sinus rhythm in dog hearts preserved for 96 hours and assessed ex-vivo. Transplantation 13:437, 1972.*
117. Trunkey D, Degenhardt T, Chartrand C, Pryor JP, and Belzer FO: *Preservation of canine heart. Cryobiology 6:515, 1970.*