

적출 쥐 심장의 장시간 보존에 있어서 University of Wisconsin 수정 용액의 우수성

이재성* · 김송명* · 김규태**

=Abstract=

Superiority of Modified University of Wisconsin Solution in the Prolonged Preservation of Isolated Rat Heart

Jae Seong Lee, M.D.*, Song Myung Kim, M.D.*, Kyu Tae Kim, M.D.**

The paucity of donor hearts for transplantation can be remedied by distant heart procurement. Prolonging donor heart preservation is essential for successful clinical cardiac transplantation. Thirty-two isolated rat hearts were perfused with Krebs-Henseleit buffer solution for 15 minutes, arrested and preserved at 4°C for 4 hours, and then reperfused for 25 minutes. The following three groups were prepared and hemodynamic changes, creatine kinase-MB isoenzyme levels and ultrastructural changes of the myocardium were analysed before and after cardiac arrest. ; Group I : the heart was arrested with the cardioplegic solution (Plegisol, potassium : 16 mM, sodium : 120 mM) and then stored in a solution with ionic compositions of the extracellular fluid (Hartman, potassium : 4 mM, sodium : 130 mM) ; Group II : the heart was arrested with the cardioplegic solution and stored in a solution with ionic compositions of the intracellular fluid (Modified Euro-Collins, potassium : 108 mM, sodium : 10 mM) ; Group III : the heart was arrested with the cardioplegic solution containing adenosine 20 μ M, and then stored in a solution with ionic compositions of the intracellular fluid (Modified University of Wisconsin solution, potassium : 119 mM, sodium : 23 mM).

Left ventricular developed pressure at 20 minutes of the reperfusion was significantly higher in group III (64.3 ± 3.12 mmHg, $p < 0.01$) and group II (58.3 ± 1.55 mmHg, $p < 0.05$) as compared with group I (51.4 ± 2.78 mmHg).

The time to induce cardiac arrest after infusion of cardioplegic solution with adenosine 20 μ M (5.3 ± 0.30 second, $p < 0.005$) was significantly shorter than without adenosine (10.6 ± 0.55 second).

Coronary flow at 20 minutes of the reperfusion was augmented significantly in group III (9.6 ± 0.50 ml/min, $p < 0.05$, $p < 0.05$) as compared with group I (8.0 ± 0.41 ml/min) and group II (8.1 ± 0.51 ml/min).

Percentage recovery of left ventricular developed pressure at 20 minutes of the reperfusion was significantly higher in group III (94.6 ± 2.51 %, $p < 0.005$) as compared with group II and in group II (83.1 ± 1.22 %, $p < 0.005$) as compared with group I (69.9 ± 1.73 %), and also percentage recovery of coronary flow at 20 minutes of the reperfusion was significantly higher in group III (82.3 ± 3.86 %, $p < 0.05$) as compared with group II (71.4 ± 3.46 %) but there was no significant difference between group I and group II.

Measured level of creatine kinase-MB isoenzyme at 15 minutes of the reperfusion was significantly lower in group III (1.23 ± 0.16 ng/ml, $p < 0.025$) and group II (1.42 ± 0.10 ng/ml, $p < 0.05$) as compared with group I (1.79 ± 0.14 ng/ml).

In the semiquantitative evaluation of the ultrastructural changes of the myocardium, mitochondrial score was lower in group III (0.7 ± 0.21) than in group I (3.1 ± 0.28) and group II (1.7 ± 0.19), and also the other structural score was lower in group III (2.7 ± 0.99) than in group I (7.9 ± 0.89) and

group II (5.0 ± 1.22).

In conclusion, the solution with ionic compositions of the intracellular fluid is appropriate for prolonged cardiac preservation, and it appears to be better preserving method for distant procurement when the donor heart is rapidly arrested with cardioplegic solution containing adenosine 20 μ M, and then stored with Modified University of Wisconsin solution.

(Korean J Thoracic Cardiovas Surg 1993;26:427-440)

Key words : UW solution, Cardiac preservation, Cardiac transplantation

서 론

최근 이식술의 보편화에 따라 국내에서도 장기이식에 관한 관심이 높아지고 있으며, 심장이 선천적 혹은 후천적 인자로 인해 그 기능을 못하게 된 환자의 경우 심장 이식 수술이 필요하게 되고, 이때 성공적인 심장이식을 위해서는 이에 대한 기초적 연구가 필요하다. 1967년 Barnard¹⁾가 최초로 인간에게 심장 이식수술을 성공시킨 이래, 수술 수기의 발달, 면역 억제제의 개발 및 술후 환자 관리의 개선 등으로 심장 이식수술 후의 생존율이 많이 향상되었으나, 아직까지도 술후 조기 사망의 주된 원인은 거부반응이나 감염보다는 심근 보호에 있으며²⁾, 심장 적출 후부터 재관류 시작까지의 과정에서 무혈, 무관류 상태의 심근을 잘 보존하는 것이 무엇보다도 중요하다. 특히, 먼 거리의 공여자로부터 획득한 심장을 사용하여야 할 경우에는 이식 수술시까지 장시간 안전하게 보존하는 심장보존법(cardiac preservation)^{3, 4)}이 성공적인 심장 이식을 위한 필수적인 요소이다. 이에 저자들은, 적출된 쥐 심장을 Langendorff 분리 심모형에 장치한 후, 단순 저온 침적법으로 장시간 저장함에 있어서, 심장보존액을 세포외액 조성형의 Hartman 용액과 세포내액 조성형의 Euro-Collins 수정용액

(Modified Euro-Collins 용액, 이하 MEC 용액) 및 University of Wisconsin 수정용액(Modified University of Wisconsin 용액, 이하 MUW 용액)으로 각각 달리함에 따른 각 군의 심기능 및 심근 미세구조물의 변화를 관찰하여 장시간 안전한 심장보존법에 대한 자료를 얻기위해 이 실험을 시행하였다.

대상 및 방법

1. 실험 대상

이 실험에 사용된 동물은 생물학적 실험에 대비하여 영양이 잘 조절된 배합사료로서 전문인에 의해 사육된, 체중 250~300 gm의 Sprague-Dowley (학명 : *Rattus norvegicus*) 계 수컷 흰 쥐를 사용하였다.

실험 동물을 3군으로 구분하여, 제 I군은 세포외액 조성형의 Hartman 용액을, 제 II군은 세포내액 조성형으로서 magnesium을 포함한 MEC 용액을, 그리고 제 III군은 세포내액 조성형으로서 adenosine 및 antioxidant와 synthetic colloid 등이 포함된 MUW 용액을 각각 심장보존액으로 하였다. 심정지액으로서 제 I, II군은 Plegisol 용액을, 제 III군은 Plegisol 용액에 adenosine 20 μ M을 첨가하여 사용하였다(Table 1 & 2).

2. 실험 방법

실험 모형 : 실험에 사용된 정압형 Langendorff 관류 장치의 구조는, Krebs-Henseleit 완충액을 담은 저수조를 상부에 두어 그 높이가 100cmH₂O 이상의 압력을 유지하도록 하고, 저수조 옆에 기포관을 장치하고 carboxan (95% O₂와 5% CO₂의 혼합기체)으로 완충액을 기포화 하였다. 대동맥관(16-gauge Jelco[®])에서 반복 검사한 완충액의 가스 분석 결과를 산소 분압이 약 500mmHg 이상, 이산화탄소 분압은 35~45mmHg로 되게하고 pH는 7.35~7.40 범위 이내로 유지시켰다.

* 고신대학 의학부 흉부외과학교실

* Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Kosin Medical Center

** 경북대학교 의과대학 흉부외과학교실

** Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Kyungpook National University

@ 이 논문은 1991년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 자유공모(지방대학 육성)과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

@ This paper was supported (in part) by NON DIRECTED RESEARCH FUND, Korea Research Foundation, 1991.

이 논문의 요지는 1992년도 제 22차 대한흉부외과학회 추계 학술대회에서 구연되었음.

Table 1. Experimental groups

Group	No. of cases	Cardioplegic solution	Storage solution
I	9	Plegisol	Hartman's
II	13	Plegisol	Modified Euro-Collins'
III	10	Plegisol + Ado*	Modified UW [#]

*: adenosine 20 uM. # : University of Wisconsin

Table 2. Composition of the solutions

Component	Hartman	MEC ^a	MUW ^b	Plegisol	K-H Buffer ^c
Sodium (mM)	130	10	23	120.0	141.7
Potassium (mM)	4	108	119	16.0	5.9
Chloride (mM)	111	15	-	160	127
Calcium (mM)	-	-	-	1.2	1.25
Magnesium (mM)	-	5	5	16	1.2
Sulphate (mM)	-	-	5	-	1.2
Phosphate (mM)	-	60	25	-	1.2
Bicarbonate (mM)	-	10	-	10	25
Mannitol (mM)	-	180	-	-	-
Glucose (g/L)	-	-	-	7.8	1.98
Lactobionate (mM)	-	-	100	-	-
Raffinose (mM)	-	-	30	-	-
Adenosine (mM)	-	-	5	-	-
Glutathione (mM)	-	-	3	-	-
Allopurinol (mM)	-	-	1	-	-
Dexamethasone (mg/L)	-	-	16	-	-
HES (g/L) ^d	-	-	50	-	-
Osmolality (mosm/Kg)	220	340	320	280	320
pH	7.4 (R.T.)	7.2 (4°C)	7.4 (R.T.) [#]	7.8 (4°C)	7.4 (R.T.)

a : Modified Euro-Collins' solution. b : Modified University of Wisconsin solution: Insulin, bactrim were omitted from the original UW solution. c : Krebs-Henseleit buffer solution. d : Hydroxyethyl starch: it was supplied by Sigma chemical Co. (USA). # : The pH is adjusted by the addition of NaOH to pH = 7.4 (at room temperature).

기포관과 대동맥관 사이에는 열 교환기를 사용하고, 욕조에는 VWR 사의 정온순환기 (constant temperature immersion circulator, VWR scientific 1120)를 사용하여 실험 전 과정 중에 37°C의 온도를 일정하게 유지시켰으며, 심장용 정온조를 제일 하단에 설치하고 열 교환기와 함께 병렬 연결하여 대동맥관에 부착된 실험용 심장을 보존하였다 (Fig 1).

관류액: 실험에 사용한 관류액은 Krebs-Henseleit 완충액이었다. Krebs-Henseleit 완충액을 만들기 위해 deionized redistilled water에 NaCl 118mM, KCl 4.7mM, MgSO₄ 7H₂O 1.2mM, KH₂PO₄ 1.2mM, Glucose 11.0mM,

NaHCO₃ 23.7mM, CaCl₂ 2H₂O, 1.25mM의 시료를 달아 혼합 진탕 가온하여 여과지 (Whatman® membrane filters, pore size 0.2um, 47mm Diameter, WCN type)에 여과를 하여 관상 동맥 전색소인을 충분히 제거하였다.

심장 적출: 실험용 흰 쥐를 2.5% sodium pentobarbital 100mg/kg를 복강내 주입하여 전신 마취를 시켰으며, 실험 쥐의 운동과 각종 반사운동이 소실된 것을 확인한 후 수술대에 고정하여 사지를 결박하고 즉시 개흉하였다. 박동 중의 심장을 적출하여 준비된 4°C의 Krebs-Henseleit 완충액을 담은 용기에 넣어 심박동이 소실되면, 즉시 Langendorff 실험모형의 대동맥관에 흰 쥐의 대동맥을 부착하

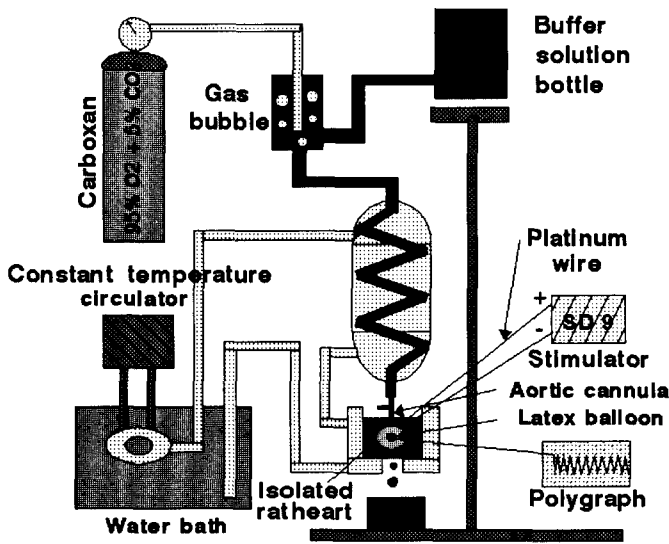


Fig. 1. Experimental model

고 Krebs-Henseleit 완충액을 주입하였다. 심정지 상태의 적출된 흰 쥐의 심장이 잠시후 박동이 회복되면, 심장에 부착된 지방조직이나 불필요한 조직을 제거하고 좌심방을 통하여 Latex balloon을 좌심실에 삽입하여 이완기 압력이 10 mmHg되게 팽창시킨뒤, 압력 변환기(Statham model P231D, Gould Inc.)에 연결하여 polygraphs(Model 7 series, GRASS Instruments, Quincy, Mass., U.S.A.)를 통해 좌심실의 압력(left ventricular developed pressure)을 기록, 관찰하였다.

본 실험에 앞서 체중이 비슷한 흰 쥐 10마리의 심장을 적출하여, 정압형(constant pressure)의 Langendorff 실험 모형에 연결하고 실험의 protocol이 만족한가를 확인하였다.

실험 protocol: 적출된 흰 쥐 심장을 Langendorff 관류장치에 연결시켜 15분간 평형상태를 유지한 후, 곧 이어 관류액을 차단하고 4°C의 심정지액(cold cardioplegic solution, Plegisol)을 7 ml/min로 1분간 정주하여 심박동을 정지시켰으며, 정지된 흰 쥐의 심장을 Langendorff 장치에서 분리시키고 4°C의 심장보존액에 단순 저온 침적법을 이용하여 4시간동안 저장하였다.

저장후 Langendorff 관류장치의 대동맥관에 흰 쥐의 대동맥을 부착하고, 재관류 직전에 실험용 심장의 우심실 전면에 백금선(99.95% platinum wire)을 설치하여 300 beat/min, 5-millisecond duration, 2-3 voltage(재관류시 심장 회복상태에 따라 변화될 수 있음)로 맞춘 심장 박동기

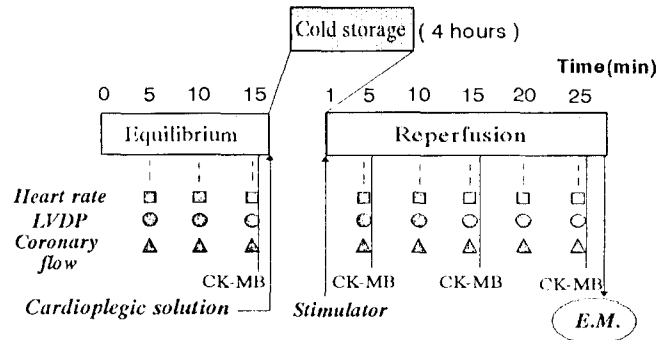


Fig. 2. Experimental protocol. LVDP:left ventricular developed pressure, CK-MB:creatine kinase-MB, E.M.:electron microscope

(pulse stimulator, Model SD 9, GRASS Instruments Co.)에 연결한 후, 재관류액을 Krebs-Henseleit 완충액으로 하여 심근의 온도를 37°C까지 점차 가온하면서 25분간 재관류시켰으며, 이때 심실세동이 있으면 심장 박동기로 제제 동시키고 심 박동수를 조절하였다.

심근의 상태와 손상의 지침으로서, 평형상태와 재관류 시기에 심 박동수, 좌심실압, 관 관류량(coronary flow), creatine kinase-MB(이하 CK-MB) 동위효소를 각각 측정하여 비교 관찰하였으며, 실험이 끝난 심장을 Langendorff 관류 장치에서 분리하고 심실 충격에서 생검하여 심근의 전자 현미경학적 미세 구조의 변화를 비교 관찰하였다(Fig. 2).

혈 역학적 측정: 심 박동수와 좌심실압 및 관 관류량을 평형상태에서는 5분, 10분, 15분에, 재관류시기에는 5분, 10분, 15분, 25분에 측정하였으며, 재관류 20분에서의 회복율을 평형상태 15분에 대한 백분율로 각각 표시하여 비교 분석하였다. 관 관류량은 관류액의 분당 유출량(ml/min)을 측정하였고, 재관류 동안의 심 박동수는 가능한 각 군의 평형상태 15분의 심 박동수와 비슷하게 되도록 심장 박동기를 조절하여 심 박동수로 인한 관 관류량의 변화를 최소화 하였다. 평형상태 15분후 심정지액 투여시 심정지까지 걸리는 시간을 심정지액에 adenosine을 첨가한 군과 첨가하지 않은 군을 구분하여 측정하였다.

Creatine kinase-MB 동위효소 측정: 실험 전 과정을 통해 수집한 CK-MB 동위효소의 정량 분석은 유출되는 관 관류액을 평형상태에서는 15분에, 재관류중에는 5분, 15분, 25분에 각각 채취하여 검사 하였으며, Abbott Laboratories사의 IMx^R CK-MB assay를 사용하여 항 CK-MB 단

Table 3. Criteria for mitochondrial score

0	normal with well preserved mitochondrial granules
1	normal structure of crest and matrix, but absence of granular deposits
2	loss of matrix granules, clarification of matrix, without breaking of crests
3	disruption of crests, clarification of matrix
4	loss of integrity of mitochondrial membranes, disruption of crests

In each micrograph, 20 mitochondria were selected randomly for semiquantitative evaluation.

Table 4. Criteria for other structural score

Nucleus	margination & clumping of chromatin <i>no change</i> : 0, <i>mild</i> : 1, <i>marked</i> : 2.
Myofibril	contraction bands, blurred Z line <i>no change</i> : 0, <i>mild to moderate</i> : 1, <i>moderate to severe</i> : 2, <i>severe to lysis</i> : 3.
S.R.*	junctional SR & T-tubule abnormality <i>mild</i> : 1, <i>mild to moderate</i> : 1, <i>moderate to severe</i> : 2.
Intracellular edema	<i>mild</i> : 0, <i>mild to moderate</i> : 1, <i>moderate to severe</i> : 2, <i>severe</i> : 3.

*: sarcoplasmic reticulum

일 클론성 항체를 이용한 미세입자 효소 면역 측정법 (microparticle enzyme immunoassay, MEIA)⁵⁾으로 하였다.

심근 미세구조 변화 관찰: 실험의 전 과정이 끝난 후 심실 중격에서 소량 절취한 조직 표본을 4°C, 2.5% glutaraldehyde (in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)에 고정시키고 2시간 이상 침적한 후, 1% osmium tetroxide로 후고정 하였다. 고정된 심근을 탈수과정을 거쳐 Epon 812에 포매하고, 1µm 두께의 박절편을 만들어 1% Methylene blue로 염색하여 광학 현미경으로 관찰한 후, 대표적인 블록을 선택하여 80 nm 두께의 초 박절편을 만들고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색 하여 투과형 전자 현미경 (Hitachi 600 microscope)으로 관찰하였다.

각 군에서 심근손상의 정도를 Flameng⁶⁾, Davtyan⁷⁾ 등에 의해 사용된 기준을 다소 변형하여, 허혈과 재관류 손상에 비교적 민감한 사립체의 손상을 집중적으로 관찰하고 다른 구조물 (핵, 근원섬유 (myofibril), 근형질 세망 (sarcoplasmic reticulum))의 손상 및 세포내 부종을 부수적으로 관찰하였으며 모든 판정은 한 사람의 병리 조직 학자에 의해 점수를 매겨 비교 분석 하였다.

사립체의 손상 정도는 0-4 점으로 점수를 매겨, 정상은 0 점, 사립체능 (mitochondrial crest)과 기질 (matrix)은 정상이나 기질 과립의 침착이 없는 것을 1 점, 기질 과립의 소

실과 기질의 청징화 (clarification)는 있으나 사립체능은 정상인 것을 2 점, 사립체능의 파괴와 기질 과립의 소실 및 청징화가 있는 것을 3 점, 사립체능의 파괴와 사립체 막의 손실이 있는 것을 4 점으로 하였으며, 한 개의 표본에서 무작위로 선정된 20 개의 사립체를 가지고 준정량적 분석을 하였다 (Table 3, Fig. 3).

다른 구조물의 점수는 각각의 손상의 정도에 따라, 핵의 변연추향 (margination)과 염색질의 응집 등의 변화가 없으면 0 점, 경하면 1 점, 심하면 2 점으로, 근원섬유의 수축 띠와 Z 선의 변화가 없으면 0 점, 경하면 1 점, 중등도면 2 점, 심하게 손상되어 용해가 있으면 3 점으로, 근형질 세망과 T관의 변화 등이 경하면 0 점, 중등도면 1 점, 심하면 2 점으로, 세포부종이 경하면 0 점, 경도에서 중등도면 1 점, 중등도 내지 심하면 2 점, 아주 심하면 3 점으로 하여, 합계 10 점으로 각 표본의 점수를 매겨 자료 분석 하였다 (Table 4).

통계학적 처리: 각 군에 사용된 자료는 평균 ± 표준오차로 표시하였고, 통계학적 분석을 위하여 Duncan's multiple range test와 unpaired Student t-test를 이용하였으며, p 값이 0.05 이하인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 처리하였다.

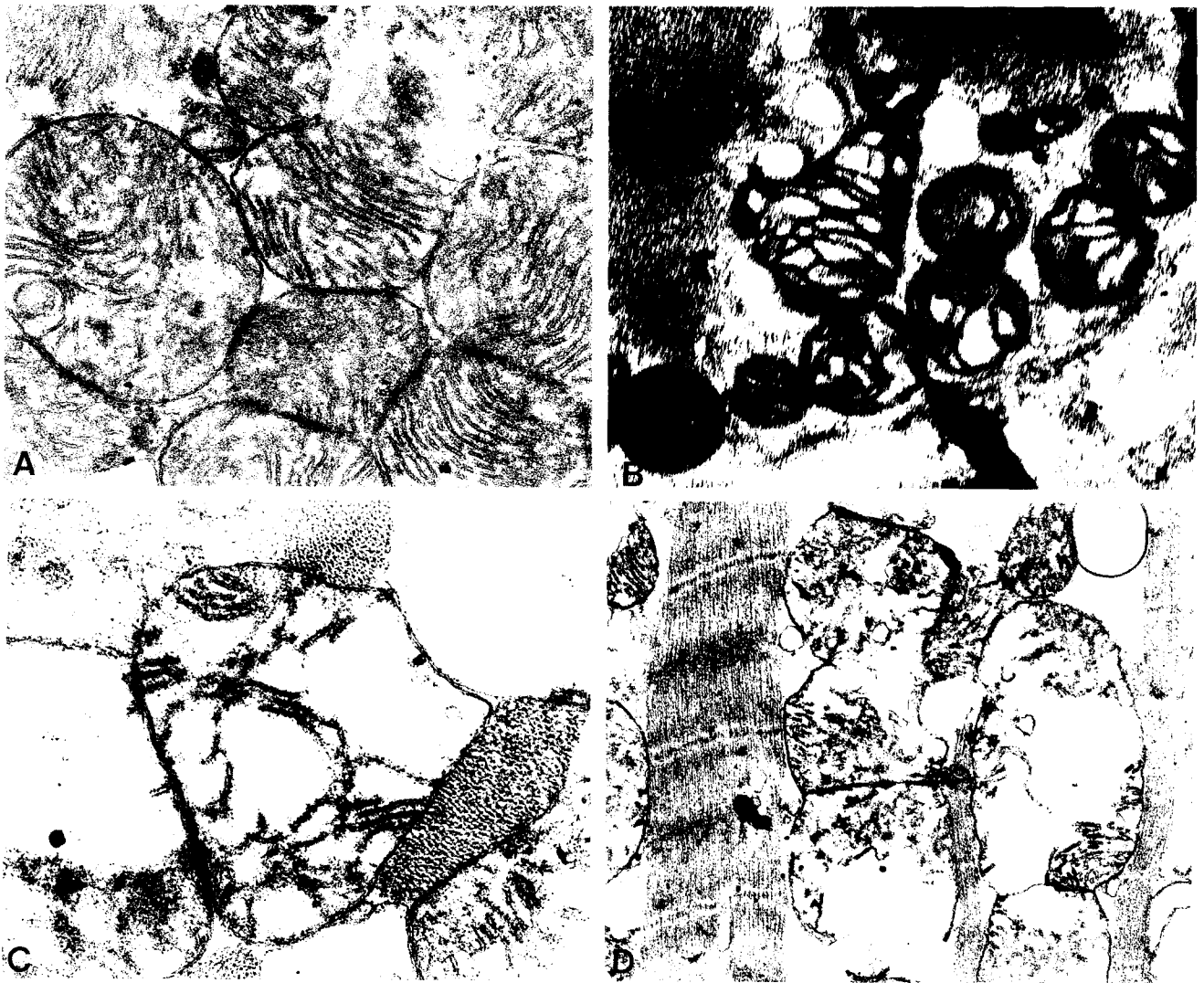


Fig. 3. Representative electron micrographs of mitochondrial reaction following ischemic injury (mitochondrial score). **A.** score 0: normal structure with well preserved mitochondrial granules, score 1: normal structure but granules absent ($\times 25,000$). **B.**

score 2: swollen mitochondria with clarification of matrix ($\times 25,000$). **C.** score 3: disruption of mitochondrial crests with clarification ($\times 30,000$). **D.** score 4: disruption of crests and loss of integrity of the mitochondrial membranes ($\times 17,000$).

결 과

적출된 쥐 심장을 심장 보존액의 조성을 서로 다르게 하여 단순 저온 침적법으로 4시간 저장후 재관류하였을 때, 각 군의 심기능 및 미세 구조물의 변화를 비교 분석하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 심기능의 변화

심 박동수: 평형상태 15분의 심박동수는 제 I군에서

256 ± 11.6 회/분, 제 II군은 261 ± 5.4 회/분, 제 III군은 250 ± 5.4 회/분 이었으며, 4시간 저장 후 재관류 시켰을 때의 심박동은 대부분 심실 세동이 있어 제세동이 필요했으며, 심실세동 후 저절로 심박동이 돌아온 경우와 다시 세동이 있어 제 세동 후 심박동이 돌아온 경우 등 다양하게 관찰되었다.

재관류시의 좌심실 압력(LVDP)의 변화: 제 I군에서 재관류 5분에 50.3 ± 2.86 mmHg로 좌심실 압력이 다른 군에 비해 가장 낮았고 재관류 15분에 53.3 ± 2.46 mmHg로

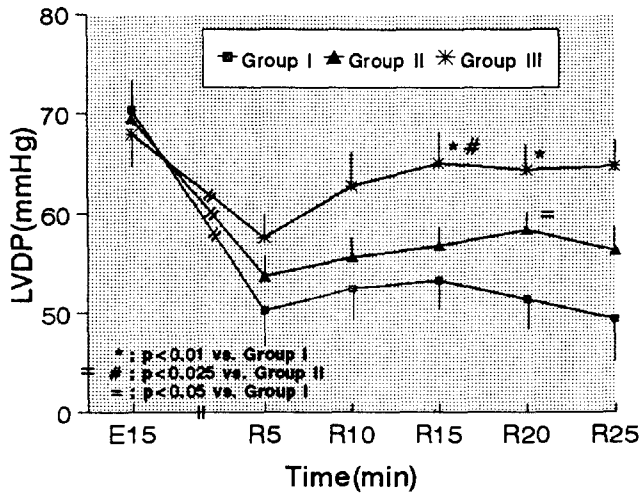


Fig. 4. Changes of left ventricular developed pressure in each group (mean \pm S.E.). LVDP; left ventricular developed pressure

조금 회복되지만 압력을 계속 유지 못하고 재관류 20분에 51.4 ± 2.78 mmHg로 점차 떨어졌으며, 제 II군은 재관류 5분에 53.7 ± 2.26 mmHg로 제 I군 보다는 다소 높게 압력 곡선이 유지되어 재관류 15분에 56.7 ± 1.46 mmHg, 재관류 20분에 58.3 ± 1.55 mmHg로 서서히 회복되었고, 제 III군은 재관류 5분에 57.6 ± 2.12 mmHg에서 재관류 15분에 65.0 ± 3.03 mmHg로 곧 회복되어 재관류 20분에 64.3 ± 3.12 mmHg로 제 I, II군에 비하여 높은 압력 곡선을 유지하였다. 또한 재관류 15분에서의 좌심실 압력은 제 III군이 65.0 ± 3.03 mmHg ($p < 0.025$)로 제 II군의 56.7 ± 1.46 mmHg에 비하여 유의하게 높은 압력을 나타내었으며, 재관류 20분에서는 제 III군이 64.3 ± 3.12 mmHg ($p < 0.01$)로, 제 II군이 58.3 ± 1.55 mmHg ($p < 0.05$)로 제 I군의 51.4 ± 2.78 mmHg에 비하여 각각 유의하게 높은 압력을 나타내었다 (Fig. 4).

심정지액 투여 후 심정지 시간: 평형상태 15분 후 심정지액 투여시 심 정지까지 걸리는 시간이 adenosine 20 μ M을 첨가한 제 III군의 경우가 5.3 ± 0.30 초 ($p < 0.005$)로 첨가 하지않은 제 I, II군의 10.6 ± 0.55 초에 비하여 유의하게 빠른 심정지가 유도되었다 (Fig. 5 & 6).

재관류시 관 관류량의 변화: 평형상태보다 재관류시 관 관류량이 감소하였으며 제 I군에서 재관류 5분에 7.4 ± 0.80 ml/min로 가장 크게 감소하였다가 재관류 15분에 8.2 ± 0.68 ml/min로 다소 회복되나 재관류 20분에 8.0 ± 0.41 ml/min로 곧 감소하였고, 제 II군에서는 재관류 5분에

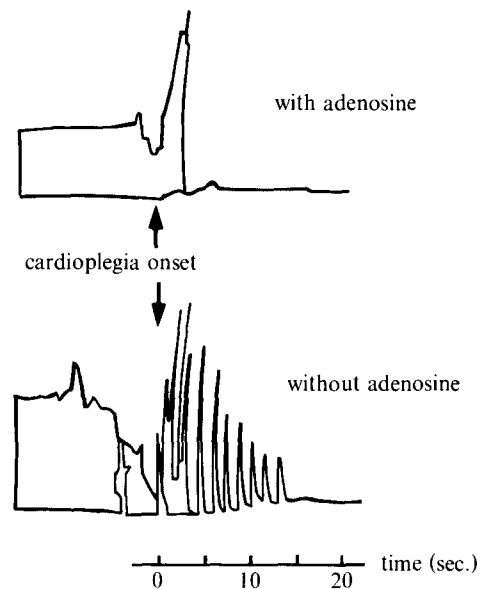


Fig. 5. Trace of left ventricular contraction after infusion of cardioplegic solution with and without adenosine 20 μ M.

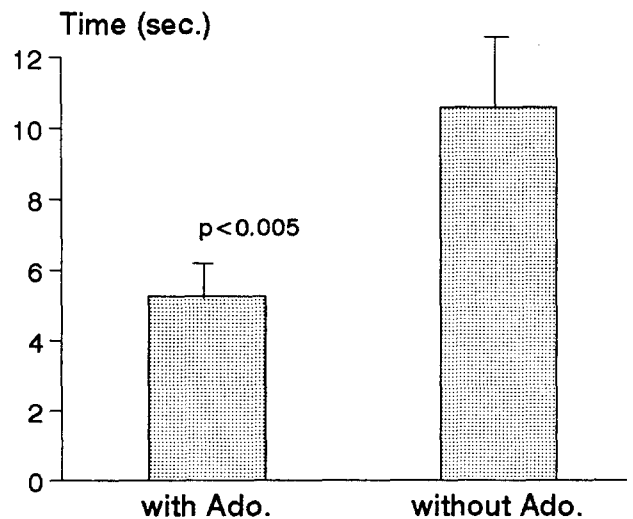


Fig. 6. The length of time to develop cardiac arrest after infusion of cardioplegic solution with and without adenosine (mean \pm S.D.). Ado.; adenosine

10.1 ± 0.67 ml/min로 제 I군에 비해 높은 값을 보였다가 재관류 20분에 8.1 ± 0.51 ml/min로 계속 감소하였다. 제 III군에서는 제 I, II군에 비하여 유의한 차이를 보여 주는데, 재관류 5분에 9.8 ± 0.54 ml/min로 크게 감소하지 않고 재관류 20분에 9.6 ± 0.50 ml/min ($p < 0.05$)로 유지하여 제

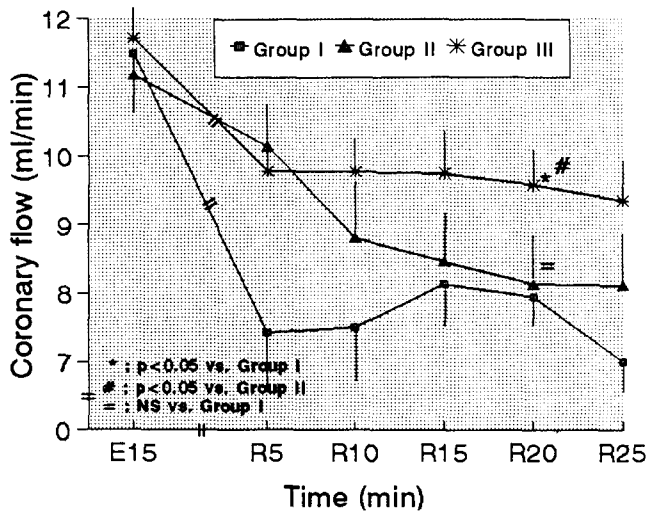


Fig. 7. Changes of coronary flow in each group (mean \pm S.E.)

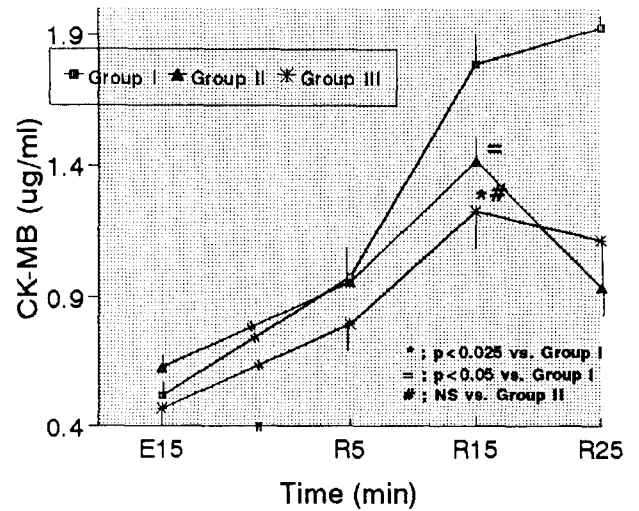


Fig. 9. Changes of creatine kinase-MB level in each group (mean \pm S.E.)

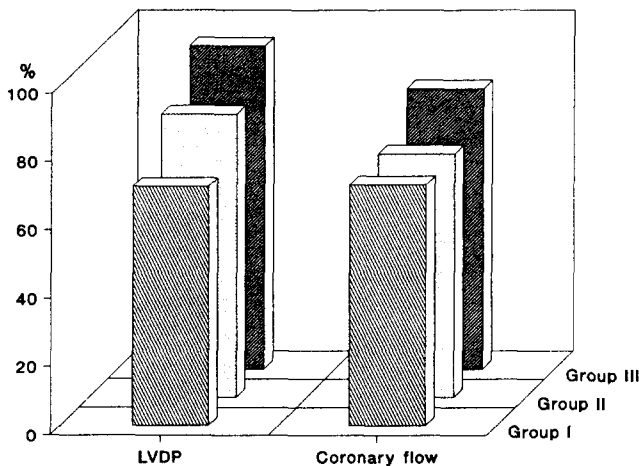


Fig. 8. Percentage recovery of cardiac function at 20 minutes of the reperfusion in each group (mean \pm S.E.) LVDP: left ventricular developed pressure

I, II군과 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(Fig. 7).

재관류 20분에서의 심기능 회복율: 평형상태 15분에 대한 재관류 20분에서의 심기능 회복율을 보면, 제 I군에서는 심 박동수가 $91.9 \pm 2.37\%$, 좌심실 압력은 $69.9 \pm 1.73\%$, 관 관류량은 $70.5 \pm 3.83\%$ 였고, 제 II군에서는 심박동수가 $95.3 \pm 1.35\%$, 좌심실 압력이 $83.1 \pm 1.22\%$, 관 관류량이 $71.4 \pm 3.46\%$ 였으며, 심장 보존액으로 MUW 용액을 사용한 제 III군에서의 심기능 회복율은 심 박동수가 $96.9 \pm 1.19\%$, 좌심실 압력이 $94.69 \pm 2.51\%$ ($p < 0.005$), 관

관류량이 $82.3 \pm 3.86\%$ ($p < 0.05$)로써 제 I, II군의 심기능 회복율에 비하여 의미있게 높았다. 제 I군과 제 II군 사이에는 좌심실 압력의 회복율이 통계적으로 유의성이 있었으나 ($p < 0.005$), 관 관류량의 회복율은 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 8).

2. 심근의 creatine kinase-MB 동위효소치의 변화

제 I군에서 평형상태 15분의 CK-MB 효소치가 0.52 ± 0.07 ng/ml이던 것이 4시간 저장후 재관류 5분에 0.98 ± 0.16 ng/ml로 증가하여 재관류 15분에 1.79 ± 0.14 ng/ml로 계속 증가하였으며, 제 II군에서는 평형상태 15분에 0.63 ± 0.04 ng/ml이 재관류 5분에 0.96 ± 0.04 ng/ml, 재관류 15분에 1.42 ± 0.10 ng/ml로 증가하였다가 재관류 25분에 0.94 ± 0.10 ng/ml로 감소하였고, 제 III군에서는 평형상태 15분에 0.47 ± 0.09 ng/ml이 재관류 5분에 0.80 ± 0.14 ng/ml, 재관류 15분에 1.23 ± 0.16 ng/ml로 증가하나 제 I, II군에 비하여 전반적으로 낮게 측정되었다. 재관류 15분에서 제 III군이 1.23 ± 0.16 ng/ml ($p < 0.025$), 제 II군이 1.42 ± 0.10 ng/ml ($p < 0.05$)로 제 I군의 1.79 ± 0.14 ng/ml에 비하여 유의하게 낮은 CK-MB 측정치를 보임으로써, 적출 심장을 세포외액보다는 세포내액에 저장했을때 심근 손상이 적었던 것으로 나타났다(Fig. 9).

3. 심근 미세구조의 변화

각군의 미세구조물을 투과형 전자 현미경으로 관찰한

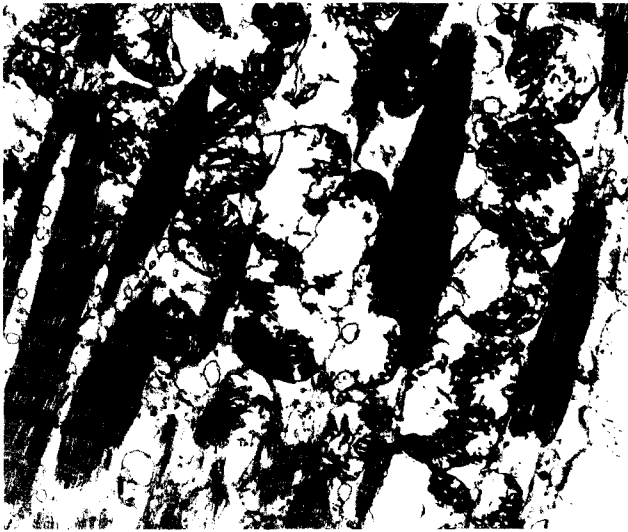


Fig. 10. Ultrastructural findings of group I. The mitochondria show severe damage, and there are swollen mitochondria with disrupted cristae. The matrix show clearing and condensation. Several mitochondria are destroyed with disruption of inner and outer membranes. The myofibrils show moderate to severe contraction bands and lysis occasionally. There are also moderate to severe abnormalities of the sarcoplasmic reticulum ($\times 8,000$).

결과, 제 I군에서 대부분 심근세포의 손상정도가 심하였으며, 사립체가 종창되어 있거나 사립체능의 파괴 및 사립체 내의 과립이 거의 소실된 소견을 보이고 간혹 사립체의 내부, 외부의 막이 소실된 비가역적인 변화도 볼 수 있었다. 근원섬유는 수축되어 있는 것이 많았고 Z선이 비후되어 있으며 국소적으로 근원섬유의 파괴를 보이는 곳도 자주 관찰되었다(Fig 10). 제 II군에서는 대개 사립체의 세포막은 잘 보존되어 있고, 사립체능의 파괴와 기질과립의 소실 및 청징화 등이 관찰되었다. 근원섬유의 수축은 비교적 경하거나 중등도의 변화를 보이고, 근형질 세망이 약간 종창되어 있으며 중등도의 세포내 부종을 볼 수 있었다(Fig 11). 제 III군에서는 비교적 심근세포의 미세구조가 잘 보존되어 있었으며 정상 사립체와 소과립이 소실된 사립체들이 근원섬유 사이에 많이 관찰되었다. 근원섬유의 수축 정도와 근형질 세망의 변화는 경미하였고 세포내 부종도 중등도 이하였다(Fig 12). 또한 각군에서 사립체의 손상 정도를 준정량적으로 분석한 결과, 제 I군이 3.1 ± 0.28 점, 제 II군이 1.7 ± 0.19 점, 제 III군이 0.7 ± 0.21 점이고, 다른 구조물의 손상 정도를 점수로 집계한 결과는 제 I군이 7.9 ± 0.89 점, 제 II군이 5.0 ± 1.22 점, 제 III군이 2.9

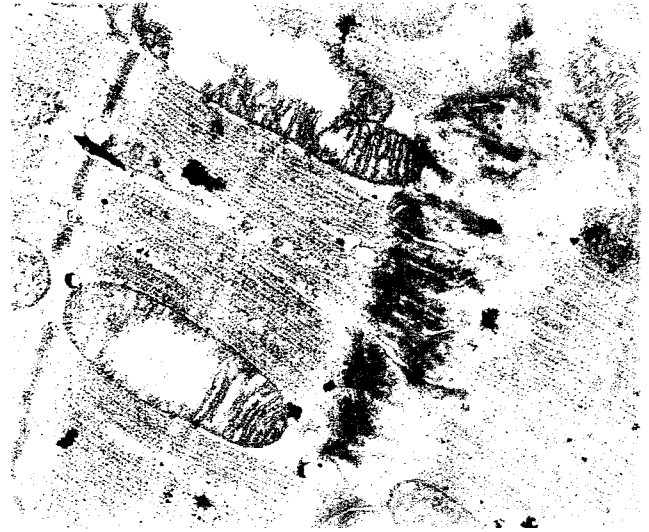


Fig. 11. Ultrastructural findings of group II. The myofibrils are intact but the sarcoplasmic reticulum are moderately swollen and dilated. Some mitochondria are almost normal while others exhibit matrix clearing with or without disruption of cristae, but loss of integrity of mitochondrial membranes is seen infrequently ($\times 20,000$).



Fig. 12. Ultrastructural findings of group III. The mitochondria are well preserved and increased in number but granules are absent. There are mild intracellular edema, and almost normal myofibrils ($\times 12,000$).

± 0.99 점으로 제 I군이 가장 심한 손상을 보였고, 그 다음이 제 II군이며, 가장 적은 손상을 보인 제 III군이 장시간

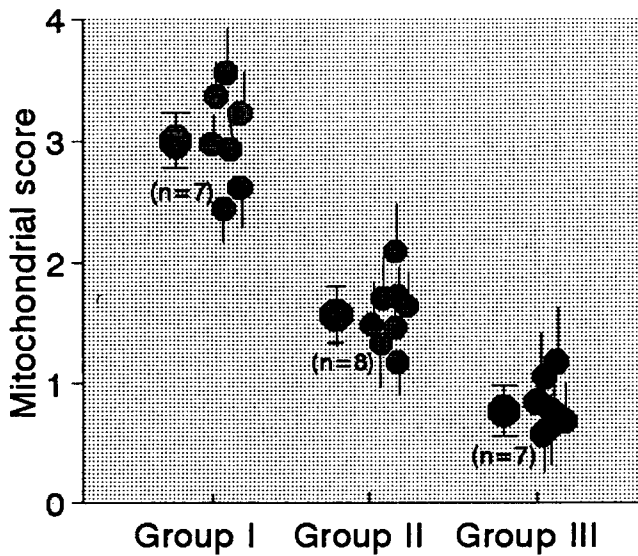


Fig. 13. Mitochondrial score in each group(mean \pm S.E.)

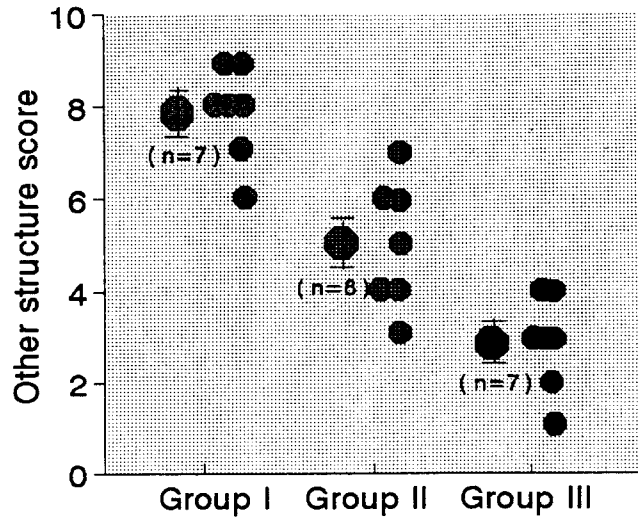


Fig. 14. Other structural score in each group(mean \pm S.E.)

심근 보호 효과가 있는 것으로 인정되었다(Fig. 13 & 14).

고찰

적출 심장을 장시간 보존하는 방법에는 단순 저온 침적법과 지속적 관류법이 있는데, 이 중 심장에 심정지액을 일회 주입하여 확장기 정지 상태를 만든 뒤, 저온 심장보존액에 채워 둬으로써 심근의 에너지 대사를 억제시키고 산소 요구량을 줄이는 단순 저온 침적법이 흔히 사용되고 있다. 그러나 0°C에서 심장을 저장하여도 대사는 지속되고 심근 세포를 유지하기 위한 소량의 에너지는 여전히 필요할 뿐 만아니라 저온 저장으로 인하여 세포의 대사작용이 억제되고 몇 가지의 효소 반응들이 차단되어 오히려 세포를 파괴시킬 수도 있다. 효소 반응의 예로써는, 혐기성 해당작용(anaerobic glycolysis)에 필요한 주 효소인 glycogen phosphorylase, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, pyruvate carboxylase 등이 불활성화 되고, ADP를 세포질에서 사립체로 이동시키는 역할을 하는 효소인 adenosine diphosphate translocase가 불활성화 됨으로써 세포질에 남아있는 ADP는 ATP로의 인산화가 되지 않고 purine의 이화(anabolism)경로를 거쳐 분해 대사되어 버린다. 또한, 단순 저온 침적법 상태의 심근 세포는 저온으로 인한 세포 부종이 발생하는데 그 원인은 세포막의 integrity를 유지하는데 중요한 sodium pump(Na-K ATPase)가 ATP 감소와

더불어 15°C 이하가 되면 그 활동력이 거의 소실되어 세포 내외의 전해질의 심한 불균형이 초래되며, 세포내의 potassium, magnesium이 세포 밖으로 소실되고 sodium, chloride가 세포내로 유입되면서 water, calcium 등이 축적됨으로 발생한다^{8,9)}.

이러한 주요 효소반응의 손상과 저온으로 인한 세포 부종을 최대한 줄이기 위해 사용되는 심장보존액으로는 크게 대별하여 저농도 potassium와 고농도 sodium을 함유하는 세포외액 조성형의 용액과 고농도 potassium와 저농도 sodium의 세포내액 조성형의 용액이 있는데, 그 구성성분의 차이에 따라 보존 시간과 보존의 질적인 면을 변화시킬 수 있다.

저자들이 대조군으로 사용한 세포외액 조성형의 Hartman 용액은 sodium 130 mM, potassium 4 mM로써, 세포막을 통한 이온의 이동으로 인한 세포부종을 피할 수 없으므로 장기 보존액의 조건이 결여되어 있으나 단지 저온상태의 조건을 위해 사용하였다.

세포내액 조성형의 장기보존액은 1969년 Collins 등¹⁰⁾에 의해 처음 도입된 이래, 정질 또는 교질의 용액형태로 구성 성분을 조성하여 심장이식 수술시 장시간 보존을 위한 용액으로 많이 사용되어지고 있다. Sacks 등¹¹⁾은 고농도의 potassium, glucose 등을 이용한 정질 용액을 실험에 사용함으로써 세포막을 통과하는 이온 이동을 억제하여 세포내 기능을 잘 보전할 수 있었다고 하였으며, Toledo-Per-

eyra 등¹²⁾은 개심장을 세포외액 조성형의 심장보존액으로 24시간 저온 저장함에 있어서 교질 (silica gel fraction; 이하 SGF) 용액일 때에 세포외액 조성형의 정질 Ringer 용액에서 보다 이식후 생존율이 좋았으며, 세포내액 조성형 보존액에서도 고 삼투압의 교질 SGF 수정용액을 사용할 경우 정질 Sacks 용액보다 48시간 보존후 이식 생존율이 더 좋았다고 보고하였다.

저자들이 제 II군에서 세포내액 조성형의 정질용액으로 사용한 MEC 용액은 sodium 10mM, potassium 108mM 로써, Euro-Collins 용액을 수정하여 사용하였다. 초기의 Collins 용액은 세포내액의 이온조성과 같게하기 위해 potassium, magnesium, phosphate, sulphate 및 glucose의 농도를 높게하여 제작되었으므로, 높은 농도의 magnesium phosphate가 잘 용해되지 않고 침전이 생기는 기술적인 문제와 고농도의 glucose로 인해 세포막을 통해 들어간 glucose가 혐기성 해당 과정을 자극하여 조직이 더욱 산성화되는 단점이 있었다. 그래서 저자는 이를 보완하기 위하여 glucose 대신 maninitol로 대체하였고, magnesium을 5mM의 농도로 낮추어 최대한 침전을 방지하여 활성화 할 수 있는 전해량을 증가시키는 효과를 냄으로서 magnesium 이온이 ATP와 복합체를 형성하여 심근 수축과 이완에 이용되고 에너지의 이송 반응과 산화 작용 및 합성에 cofactor로 작용하도록 용액을 수정하여 조성하였다.

이와 같이 제작된 세포내액 조성형의 정질 심장보존액인 MEC 용액을 제 II군에서 사용한 결과, 세포외액 조성형의 Hartman 용액 보다 재관류시의 좌심실압이 전반적으로 높게 유지되었고, 재관류 20분에는 좌심실압이 $83.1 \pm 1.22\%$ 로 제 I군의 $69.9 \pm 1.73\%$ 에 비해 유의하게 높은 회복율을 보였다. 그리고 재관류 15분의 CK-MB 효소치도 제 II군이 1.42 ± 0.10 ng/ml로 제 I군의 1.79 ± 0.14 ng/ml에 비해 의미있게 낮은 수치를 보여 세포내액 조성형의 MEC 용액이 보다 좋은 결과를 보였다. 그러나 세포내액 조성형의 용액은 고농도 potassium으로 인한 관동맥의 저항 증가와 혈관벽의 손상 등이 예상된다. Kohon 등¹³⁾은 쥐 심장을 potassium 20mM, sodium 87mM의 세포외액 조성형의 심정지액으로 심정지를 먼저 시키고 potassium 117mM, sodium 10mM의 세포내액 조성형의 Collins 용액에 4시간 저장한 경우가, 고농도 potassium의 세포내액 조성형의 Collins 용액으로 심정지 시키고 저장한 경우보다 심기능 회복이 좋았다고 하였으며, 적출 심장의 보존을 위해서는 세포외액 조성형의 심정지액으로 먼저 심정지 시키고 그 다음에 세포내액 조성형의 용액으로 단순 저온 침적시켜야 한다고 하였다. 저자들의 경우도 심정지를

시키기 위해서는 3군 모두 potassium 16mM, sodium 120.0mM의 세포외액 조성형의 Plegisol 심정지액을 사용한 것은 위와 같은 이론적인 근거에 기인하였다. 그 다음에 심장보존액으로는 세포내액 조성형의 MEC 용액을 사용한 제 II군에서의 관 관류량의 변화를 보면, 재관류 초기에 제 I군에 비해 관 관류량이 다소 증가되었다가 차츰 감소하여 재관류 20분의 관 관류량의 회복율이 $71.4 \pm 3.46\%$ 로 계속 감소함으로서, 제 I, II군 간의 통계적인 의미는 없는 것으로 나타났다. 이는 Toshima 등¹⁴⁾이 쥐 심장을 potassium 20mM, sodium 87mM의 심정지액으로 심정지 시키고 potassium 117mM, sodium 20mM의 Collins 용액으로 3시간 저장한 결과, 재관류 20분의 관 관류량의 회복율이 $63.8 \pm 6.4\%$ 였다가 시간이 경과함에 따라 고농도 potassium로 인한 관동맥 저항 증가상태에서 서서히 회복되어 재관류 30분에 $69.2 \pm 7.4\%$ 로 의미있게 회복되었다는 소견과는 다소 차이를 보였다.

한편, 단순 저온 침적법을 이용한 장기 보존에서는 일차적으로 조직 부종을 막을 수 있는 요소가 심장보존액에 있어야 성공적인 결과를 얻을 수 있다. 최근, Wahlberg 등¹⁵⁾에 의해 제안된 UW 용액은 세포 부종을 방지 하기 위해 raffinose, lactobionate, pentastarch 등을 이용하였고, 장시간의 장기보존에 우수하여 간¹⁶⁾, 신장¹⁷⁾, 췌장¹⁸⁾ 등의 장기 보존액으로 널리 사용되고 있다. 이 들 중에 raffinose (594 molecular weight)는 비대사성 삼당류 (trisaccharide)의 불투과성 물질로써, glucose, mannitol, sucrose보다 부종 방지 효과가 크며, lactobionate (358 molecular weight) 음이온은 chloride 음이온 대신 사용되었고, phosphate와 raffinose와 같은 불투과성 물질과 함께 사용하면 저온으로 인한 세포부종을 효과적으로 억제할 수 있다. 그리고 pentastarch는 diafiltered hydroxyethyl starch의 일종으로 교질 삼투압을 유지하면서 세포간질의 팽창을 방지하므로, 관류법이나 저온 침적법을 위한 장기보존액의 구성 성분으로 사용되어 왔으나 단시간 장기보존시에는 간, 신장의 경우에는 절대적으로 필요한 것은 아니고, 췌장, 심장의 경우에는 비록 단시간 일지라도 이러한 합성 교질이 중요하다고 하였다⁹⁾. MEC 용액의 경우 삼투압 농도는 UW 용액과 비슷하나 이러한 불투과성 물질이 없으므로 세포 내외간의 수분의 정상적인 분포를 유지할 수가 없어 저온 침적법에 의한 장기보존시 UW 용액에 비해 세포 부종을 방지하는 효과가 좋지 못하다.

UW 용액은 pH가 7.4로써 phosphate buffer이고, 혐기성 대사와 해당작용으로 인한 세포 산성화를 막기 위해 hydrogen ion buffer인 KH_2PO_4 가 첨가되었고, 재관류시

유리산소기(free radical oxygen)에 의한 손상을 방지하기 위해 xanthine oxidase 억제제인 allopurinol을 첨가하였다. 또한 glutathione은 hydrogen peroxide, lipid peroxidase, 유리 산소기 등의 cytotoxic oxidants를 환원시키는 antioxidants이며, adenosine은 salvage pathway를 통한 ATP 생성의 전구 물질로써 재관류 동안 ATP의 재합성을 촉진시킨다. 그 외에도 UW 용액에는 magnesium, steroid 등이 포함되어 다른 성분들과 복합적으로 상호 작용을 한다. Ledingham 등²⁰⁾은 쥐 심장을 4°C UW 용액과 St. Thomas Hospital 심정지액으로 심정지시킨 후 같은 용액들로 각각 4시간씩 저장한 결과, UW 용액으로 저장한 경우가 대동맥압과 관 관류량의 회복율이 90.6 ± 1.0%, 87.5 ± 3.5% 이었고 St. Thomas Hospital 용액의 경우는 83.1 ± 1.2%, 65.8 ± 3.6%를 나타내어 장시간 허혈 후 심기능 회복도가 UW 용액에서 더 우수하였다고 하였으며, Yeh 등²¹⁾은 쥐 심장을 St. Thomas Hospital 용액으로 심정지시킨 후 0°C 생리 식염수로 6시간 저장한 경우, 재관류시 평균 좌심실압이 68 ± 8 mmHg로 저장 전에 비해 45% 밖에 회복되지 않은 반면, UW 용액으로 심정지시키고 저장한 경우는 재관류시 평균 좌심실압이 101 ± 7 mmHg로 저장전에 비해 71%로 회복되어 UW 용액이 우수한 심근 보호 효과가 있다고 하였다.

저자들의 경우, 기존의 UW 용액에서 insulin, antibiotics를 제외한 MUW 용액을 사용한 제 III군에서 재관류 20분에서의 좌심실압이 64.3 ± 3.12 mmHg이고, 좌심실압과 관 관류량의 회복율이 94.6 ± 2.51%, 82.3 ± 3.86%로 나타나 제 I, II군에 비해 재관류 동안 좌심실압과 관 관류량이 감소없이 잘 유지되었다. 또한 CK-MB 치도 제 I, II군에 비해 의미있게 낮았고, 심근 미세구조물이 잘 보존된 경우가 많이 관찰된 것으로 보아, MUW 용액이 장시간 심근 허혈로부터의 손상을 방지하는 효과가 다른 심장 보존액에 비해 우수하다는 보고들과 일치하였다.

그리고 제 III군에서는 심정지액에 adenosine 20 μM을 첨가하였는데, adenosine은 potassium의 투과도를 증가시켜 빠른 심정지를 유도하며, 관동맥 근육에 직접 작용하는 강력한 관동맥 혈관 확장제이며²²⁾, 허혈시에는 salvage pathway를 통한 ATP 재생을 가능케하여 재관류시 심기능 회복과 고 에너지 인산 보존에 효과가 있다. Schubert 등의 보고²³⁾에 의하면, 심정지액에 potassium 20 mM과 adenosine 10 mM을 함께 첨가한 경우에는 심정지까지의 시간이 1.9 ± 0.2 초로 가장 짧았으며, potassium 20 mM과 adenosine 1 mM을 첨가했을 때에는 9.0 ± 5.0 초, 그리고 potassium 20 mM만을 단독 첨가했을 경우에는 52.0 ± 5.0

초로, 심정지액에 adenosine을 첨가함으로써 빠른 심정지를 유도할 수 있었다고 하였다. 본 실험에서도 이를 감안하여 제 III군에서 소량(20 μM)의 adenosine을 심정지액에 첨가한 결과, 심정지까지의 시간이 5.3 ± 0.30 초로 첨가하지 않은 제 I, II군의 10.6 ± 0.55 초에 비하여 빠른 심정지 효과를 확인할 수 있었다. 그러나 제 III군에서 재관류 20분에서의 관 관류량의 회복율이 제 I, II군에 비해 의미있게 증가된 것은 심정지액에 첨가된 소량의 adenosine 효과 보다는 MUW 용액 내의 adenosine 5 mM의 영향과 잘 보존된 심기능 등의 복합적인 요소가 작용된 것으로 추정된다.

허혈 심근이 관 관류없이 회복될 수는 없지만 장시간의 심근 허혈후 재관류시에는 허혈 손상을 더 악화시킬 수 있으며, 이러한 재관류 손상은 산소의 환원으로 유리산소기 O₂⁻, H₂O₂, OH 발생이 증가하고, 이로 인한 미세혈관 손상, 즉 'no-reflow'현상에 기인하며, 심근의 근질과 세포막의 지질 구조에 대해 세포독성 효과를 나타내어 세포막의 파괴 등을 초래할 수 있다. 본 실험에서는 재관류 손상을 피할 수 없으나 MUW 용액으로 저장한 경우는 재관류 손상으로부터 어느 정도 보호가 되며 이는 유리 산소기의 제거제(scavenger)인 allopurinol, glutathione 등이 용액 내에 포함되어 있기 때문이다.

장시간의 장기보존에 있어서 세포내액 조성형의 MUW 용액이 다른 보존액에 비해 우수성이 인정된다고 하지만 심장 보존액으로서의 적합성에 대해 아직도 논란의 여지가 있다^{13, 20-24)}. 심장은 간, 신장 등에 비해 저온에서 양이온 이동의 내적 감수성이 현저히 높기 때문에 고농도 potassium으로 인한 탈분극 현상이 slow calcium channel을 자극하고 sodium-calcium 교환 기전을 활성화시켜 calcium influx를 초래하여 심장 보존에 만족스럽지 못한 결과를 초래할 수 있다고 한다¹³⁾. Okouchi 등²⁴⁾은 세포내 비확산성 음이온이 있기 때문에 실제로 저온하에서는 potassium efflux량 보다는 sodium influx량이 더 많아서 세포부종을 초래한다고 하여, sodium과 potassium의 농도를 각각 120 mM, 30 mM로 바꾸어 수정한 UW 용액으로 심근손상과 부종을 줄일 수 있었다고 하였다. 또한 본 실험의 재료로 사용된 설치류의 ATP 합성과정은 사람과는 달리 5-nucleotidase의 활동이 둔화되어 있으므로 AMP에서 adenosine으로의 분해가 잘 되지 않아 AMP가 많이 축적되어 있어, 허혈시에는 ATP 재합성을 위한 일차적 기질이 adenosine 보다는 AMP가 주로 이용된다²⁵⁾. 따라서 UW 용액내의 adenosine이 ATP 재합성시 이용되지 않고 hypoxanthine, xanthine으로 대사되어 버려 오히려 유리 산소기에 의한

재관류 손상을 초래할 수 있다고 하여, adenosine을 adenosine deamine inhibitor나 nucleoside transport blocker와 같은 것으로 대체해야 된다는 주장도 있다²⁶⁾.

저자들의 경우, 미세 구조물에 대한 판정 기준은 Flameng⁶⁾과 Davtayan⁷⁾의 등급을 변형 사용하였는데, 심한 허혈 손상에 비교적 빠른 변화를 나타내는 사립체의 구조물을 주 관찰 대상으로 하여 준정량적으로 분석하였으며, 다른 미세 구조물의 손상 판정은 부수적으로 분석 비교하였다. 심근 허혈 손상에 의한 사립체의 기능적 변화와 미세 구조물의 변화는 서로 밀접한 관계가 있으며, 다량의 지질과 calcium 침착 등으로 추정되는 사립체 과립의 소실과 무정형의 기질 의 조밀성 소실 등의 소견은 허혈 시간이 연장됨에 따라 그 변화가 현저하였다. 세포의 비가역적인 손상에 대한 정확한 지표는 없으나 Jennings 등²⁷⁾은 사립체능의 파손, 사립체 내외막의 심한 손상 및 과열, 핵에서의 심한 염색질 응집 등을 비가역적인 손상에 따른 소견으로 판정하였다. 본 실험에서는 4시간의 심근 허혈과 재관류에 따른 각 군 간의 미세 구조물 손상의 정도를 비교하기 위해 세포핵, 사립체, 심근 원섬유, 근형질 세망, 세포간질 등의 변화를 관찰하여 점수로 집계한 결과, adenosine을 첨가한 심정지액으로 빠른 심정지를 유도하고, MUW 용액에 단순 저온 침적법으로 저장하는 심장 보존법이 우수하다는 것을 실험적으로 증명할 수 있었다.

결 론

적출된 쥐 심장을 정압형 Langendorff 실험모형에 장치한 후, 심장보존액의 조성에 따라 세포외액 조성형의 Hartman 용액(제 I군: 9마리), 세포내액 조성형의 MEC 용액(제 II군: 13마리) 및 MUW 용액(제 III군: 10마리)으로 나누어 단순 저온 침적법으로 4시간 저장 후 재관류 하였을 때, 각 군의 심기능 변화, creatine kinase-MB 동위효소치 및 심근의 전자 현미경 소견상의 미세 구조물의 변화를 비교 분석하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

재관류시의 좌심실 압력(LVDP)의 변화는 재관류 5분 이후 차츰 회복이 되어, 제 I군에서는 재관류 15분에 53.3 ± 2.46 mmHg, 제 II군에서는 재관류 20분에 58.3 ± 1.55 mmHg, 제 III군에서는 재관류 15분에 65.0 ± 3.03 mmHg로 각각 최고치를 나타내었고, 그후 제 I, II군은 좌심실 압력이 감소하는 반면 제 III군은 그대로 유지하였으며, 재관류 20분에서의 좌심실 압력이 제 III군은 64.3 ± 3.12 mmHg($p < 0.01$), 제 II군은 58.3 ± 1.55 mmHg($p < 0.05$)로 제 I군의 51.4 ± 2.78 mmHg에 비하여 유의하게 높은

압력 곡선을 나타내었다.

심정지액 주입후 심정지까지의 시간이 adenosine을 첨가한 경우가 5.3 ± 0.30 초($p < 0.005$)로 첨가하지 않은 경우에서의 10.6 ± 0.55 초 보다 유의하게 심정지까지의 시간이 짧았다.

재관류시의 관 관류량의 변화는 제 I, II군에서는 재관류 이후 차츰 감소하였으나, 제 III군은 크게 감소하지 않고 재관류 20분에 9.6 ± 0.50 ml/min($p < 0.05$)로 유지하여 제 I군의 8.0 ± 0.41 ml/min, 제 II군의 8.1 ± 0.51 ml/min에 비하여 유의한 차이를 보였다.

평형상태 15분에 대한 재관류 20분의 좌심실 압력의 회복율은 제 III군이 94.6 ± 2.51 %($p < 0.005$)로 제 II군에 비하여, 제 II군이 83.1 ± 1.22 %($p < 0.005$)로 제 I군의 69.9 ± 1.73 %에 비하여 유의하게 높았으며, 관 관류량의 회복율은 제 III군이 82.3 ± 3.86 %($p < 0.05$)로 제 II군의 71.4 ± 3.46 %에 비하여 유의하게 높았으나, 제 I군과 제 II군 사이에는 유의한 차이가 없었다.

재관류 15분에서 creatine kinase-MB 동위효소치는 제 III군이 1.23 ± 0.16 ng/ml($p < 0.025$), 제 II군이 1.42 ± 0.10 ng/ml($p < 0.05$)로 제 I군의 1.79 ± 0.14 ng/ml에 비하여 유의하게 낮게 측정됨으로써, 적출 심장을 세포외액보다는 세포내액에 저장했을 때 심근 손상이 적었던 것으로 나타났다.

심근 미세 구조물의 변화는 사립체 점수가 제 I군이 3.1 ± 0.28 점, 제 II군이 1.7 ± 0.19 점, 제 III군이 0.7 ± 0.21 점이고, 다른 미세 구조물의 집계 점수는 제 I군이 7.9 ± 0.89 점, 제 II군이 5.0 ± 1.22 점, 제 III군이 2.9 ± 0.99 점으로 제 III군이 제 I, II군 보다 낮은 점수를 보임으로써 장시간 안전한 심장 보존법인 것으로 생각되었다.

결론적으로 세포내액 조성의 심장보존액이 세포외액 조성의 심장보존액 보다 장시간 심장 보존에 적합하며, 심정지액에 소량의 adenosine을 첨가하여 빠른 심정지를 유도하고 세포내액 조성의 MUW 용액에 저장하는 심장보존법이 우수함을 실험적으로 증명하였다.

References

1. Barnard CN: A human cardiac transplant: An interim report of a successful operation performed at Groot Shuur Hospital Cape Town. South Afr Med J 1967;41:1271
2. Heck CF, Shumway SJ, Kaye MP. The registry of the international society for heart transplantation: sixth official report. J Heart Transplant 1989;8:271-6
3. Thomas FT, Szabolcs SS, Mammana RE, et al. Long-distance

- transportation of human hearts for transplantation. Ann Thorac Surg* 1978;26:344-50
4. Watson DC, Rertz BA, Baumgartner AB, et al. *Distant heart procurement for transplantation. Surgery* 1979;86:56-9
 5. Douglas RB, Robin CG, Kathy KE, et al. *Quantifying the MB isoenzyme of creatine kinase with the Abbott "IMx" immunoassay analyzer. Clin Chem* 1990;36:375-8.
 6. Flameng W, Borgers M, Daenen W, Stalpaert G: *Ultrastructural and cytochemical correlates of myocardial protection by cardiac hypothermia in man. Thorac Cardiovasc Surg* 1980;79: 413-24
 7. Davtayan HG, Corno AF, Laks H, Drinkwater D: *Long-term neonatal heart preservation. J Thorac Cardiovasc Surg* 1988;96: 44-53
 8. Willis JS, Fang LST, Foster RF: *The significance and analysis of membrane function in hibernation. In: South FE, Hannon JP, Willis JR, Pengeley ET, Alpert NR. Hibernation and Hypothermia, Perspectives and Challenges. part II. New York: Elsevier Publishing Co. 1972;123-31*
 9. Martin DR, Scott DF, Downes GL, Belzer FO: *Primary cause of unsuccessful liver and heart preservation: Cold sensitivity of the ATPase system. Ann Surg* 1975;175:111-7
 10. Collins GM, Bravo-Shugarman M, Terasaki PE: *Kidney preservation for transplantation. Lancet* 1969;2:1219-24
 11. Sacks SA, Petritsch PH, Kaufman JJ: *Canine Kidney preservation using a new perfusate. Lancet* 1973;1:1024-32
 12. Toledo-Pereyra LH, Sharp HL, Lillehei RC: *Preservation of canine heart after warm ischemia (zero to thirty minutes) and one to two days of hypothermic storage. J Thorac Cardiovasc Surg* 1977;74:594-603
 13. Kohno H, Shiki K, Ueno Y, Tokunaga K: *Cold storage of the rat heart for transplantation: Two types of solution required for optimal preservation. J Thorac Cardiovasc Surg* 1987;93:86-94
 14. Tushima Y, Matsuzaki K, Mitani A, et al. *The myocardial recovery mode after cold storage for transplantation with Collins' solution and cardioplegic solution: A functional and metabolic study in the rat heart. J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104(5): 1320-8
 15. Wahlberg JA, Love RA, Landegard L, Southard JH, Belzer FO: *Successful 72-hour preservation of the canine pancreas. Transplantation* 1987;43:5-8
 16. Jamieson NV, Sundberg R, Lindell S, Claesson K, Moen J Vreugdenhil PK, Wight DGD, Southard JH, Belzer FO: *Preservation of the canine liver for 24-48 hours using simple cold storage with UW solution. Transplantation* 1988;46:517-22
 17. Pleog RJ, Goossens D, McAnulty JF, Southard JH, Belzer FO: *Successful 72-hour cold storage of dog kidneys with UW solution. Transplantation* 1988;46:191-196
 18. D'Alessandro AM, Stratta RJ, Sollinger HW, Kalayoglu M, Pirsch JD, Belzer FO: *Use of UW solution in pancreas transplantation. Diabetes* 1989;38:(Suppl. 1):7-9
 19. Southard JH, Gulik TM, Belzer FO: *Important Components of the UW solution. Transplantation* 1990;49:251-7
 20. Ledingham SM, Katayama O, Yacoub M: *Prolonged Cardiac Preservation: Evaluation of the University of Wisconsin Preservation Solution by comparison with the St. Thomas Hospital Cardioplegic Solutions in the Rat. Circulation (Suppl IV)* 1990; 82(5):351-8
 21. Yeh T Jr., Hanan SA, Johnson DE, et al.: *Superior myocardial preservation with modified UW solution after prolonged ischemia in the rat heart. Ann Thorac Surg* 1990;49:932-9
 22. Berne RM, Rubio R: *Adenine nucleotide metabolism in the heart. Circ Res* 1974;35 (suppl 3):109-20
 23. Schubert, T, Vetler H, Opie LH: *Adenosine Cardioplegia, Adenosine versus potassium cardioplegia. J Thorac Cardiovasc Surg* 1989;98:1057-65
 24. Okouchi Y, Shimizu K, Yamaguchi A: *Effectiveness of modified University of Wisconsin solution for heart preservation as assessed in heterotopic rat heart transplant model. J Thorac Cardiovasc Surg* 1990;99:1104-8
 25. Abd-Elfattah AS, Murphy CE, Slater DR, Goldstein JP, Godwin CK, Wechsler AS: *Age and species-related differences in adenine nucleotide degradation during myocardial global ischemia. Fed Proc* 1986;45:1039-47
 26. Abd-Elfattah AS, Jessen ME, Lekven J, Doherty NE, Brunsting LA, Wechsler AS: *Myocardial reperfusion injury: role of myocardial hypoxanthine and xantine in free radical-mediated reperfusion injury. Circulation* 1988;78 (Suppl 3):224-35
 27. Jennings SR, Ganote C: *Structural changes in myocardium during acute ischemia. Circ Res* 1974;35:Suppl 3:156-72