

이식을 위한 가토 적출 폐의 실험적 보존 방법

김수현* · 김승명* · 김대연* · 이창민* · 천수봉* · 조성래*

=Abstract=

Experimental Preservation of Isolated Rabbit Lung for Transplantation

Soo Hyun Kim*, M.D., Song Myung Kim*, M.D., Ph. D., Dae Yun Kim*, M.D.,
Chang Min Lee*, M.D., Soo Bong Cheon*, M.D., Sung Rae Cho*, M.D.

An experimental comparative study was done to determine the protective effects of three preservation solutions on isolated rabbit heart-lung bloc during acute ischemia and reperfusion of the lung during lung transplantation.

Thirty isolated rabbit heart-lung blocs were divided into 3 groups ; group I(n=9) was preserved with Hartmann's solution, group II(n=10) with modified University of Wisconsin solution, and group III (n=11) with Kosin solution. The isolated heart-lung blocs were washed with Hartmann's solution. After infusion of each preservation solution into pulmonary artery, the heart-lung bloc was stored at 4°C cold preservation solution for each group for 4 hours and then the heart-lung blocs were reventilated and reperfused.

The changes of weight of heart-lung blocs, airway pressure, percent change of PCO₂, level of lactate and adenosine deaminase(ADA) and microscopic structure of the lung parenchyme were evaluated.

Results were as follows :

1. A change of weight of the heart lung bloc after reperfusion was lowest in group III(p<.05)
2. The airway pressure increased after reperfusion in group I but decreased in group II, and III. Especially in group II, post-reperfusion airway pressure returned to level lower than that of en-bloc resection.
3. Pulmonary artery pressure during reperfusion after 4 hour preservation was lowest in group III, and pulmonary artery pressure in group II was higher than in group I(P>0.1).
4. The level of lactate and ADA in the lung tissue were higher in group III than in group I and II(P<.05)
5. The percent change of PCO₂ in perfusate was slightly higher in group III than group I and II.
6. Microscopic changes in lung tissue after reperfusion were diffuse pulmonary edema, expansion of interstitial tissue, focal aggregation of erythrocytes, and basement membrane abnormalities, but no differences were found among the three groups.

In conclusion, the protective effects of modified University of Wisconsin solution and Kosin solution were slightly superior to Hartmann's solution.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1996; 29: 931-9)

Key words: 1. Lung transplantation
2. Organ preservation

* 고신대학교 흉부외과학교실

* Department of Thoracic and Cardiovascular surgery, College of Medicine, Kosin University, Pusan

† 본 논문은 1995년도 대한흉부외과학회 추계 학술대회에서 구연된 내용임.

논문접수일 : 96년 3월 26일 심사통과일 : 96년 6월 11일

책임저자 : 김수현, (602-030) 부산광역시 서구 암남동 34, Tel. (051) 240-6466

Table 1. Experimental Groups

Group	No. of cases
I Control group(H/S)	9
II Modified university of Wisconsin solution(MUW)	10
III Kosin solution(KS)	11
Total	30

Table 2. Composition of preservation solution(1L)

Component	Hartmann	M-UW	KS	sol- ution
Sodium(mEq)	130	150	141.7	
Postassium(mEq)	4	119	30	
Chloride(mEq)	111		30	
HCO3(mM)	28	10	38	
Phosphate radical(mM)		25		
Magnesium sulfate(mM)		5	0.74	
Glucose(mM)			6.3	
Lactobionate(mM)		50		
Raffinose(mM)		15		
Hydroxyethyl starch(gm)		50	50	
Allopurinol(gm)		36	0.1	
Adenosine(gm)		1.3	1.336	
Glutathion(gm)		0.9	0.9	
Heparine(IU)		10,000	10,000	
Selenium(mg)			92.6	
Glutamine(gm)			0.9	
Tryptophane(gm)			2.6	
Pentastarch(ml)			500	
Arginine(gm)			1.372	
Prostaglandin E1(mg)			22	
pH	7.4	7.4	7.9	
Osmolarity	220	338	395	

서 론

이식수술의 개발과 성공에¹⁾ 힘입어 말기 폐부전 환자의 치료 방법으로 폐이식 수술이 마지막 선택이 될 뿐만 아니라 그 수술 성적도 조금씩 향상되어²⁾가고 있는 실정이다. 그러나 폐이식의 임상 적용에 있어서 가장 장애되는 문제점은 적합한 공여폐의 보존 시간이 극히 짧다는 점이다. 이식의 성공은 이식 폐의 기능 보존에 달려 있으며 이식 폐의 기능 보존은 효과적인 장기 보존과 재관류 손상의 방지에 주안점이 있다. 현재까지 많은 연구 노력에도 불구하고 동종 폐이식에서 6시간 이상의 보존 방법

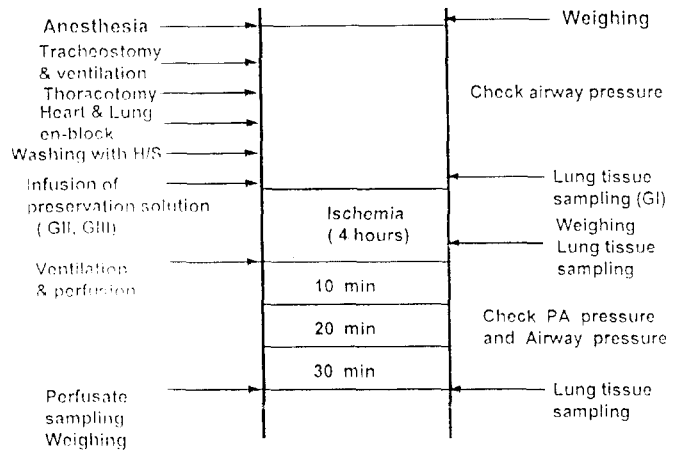


Fig. 1. Experimental Protocol

에 제한이 있는 실정이다³⁾.

저자는 세포내·외액으로 보존하는 방법의 개선을 통하여 보다 나은 폐 보존 방법을 모색하고자 토끼의 폐를 3군으로 나누어, 세포외액의 조성파 같은 Hartmann's solution(이하 H/S), 세포내액의 조성으로 만들어진 university of Wisconsin 수정 용액⁴⁻⁷⁾, 저자가 시도한 용액(이하 KS)에 적출심폐를 보존하였다가, 폐환기 및 폐순환을 시킨 후의 적출심폐의 중량의 증감, 폐동맥압, 기도내압, 폐관류액 및 폐조직에서의 효소치의 변화 및 폐조직의 미세구조 변화를 비교 분석하였다.

대상 및 방법

실험 대상

체중 2kg 내외의 건강한 가토 30마리를 성별에 무관하게 사용하였다. 실험 동물을 3군으로 구분하여 제 1군은 대조군으로 세포외액 조성형의 Hartmann 용액을, 제 2군은 세포내액 조성형의 university of Wisconsin 수정(이하 MUW) 용액을, 그리고 제 3군은 저자가 고안한 용액으로 adenosine(이하 Ado)을 비롯한 각종의 metabolic substrate, 30mEq/L 의 potassium 농도, 항산화 작용이 있는 selenium 등을 함유한 것을 특징으로하는 용액을 보존액으로 사용하였다(Table 1, 2).

실험 방법

실험은 토끼의 체중을 측정된 후 복강 내에 2.5% pentobarbital sodium 30mg/kg 과 heparin 750 IU/kg 을 주입한 뒤 수분 후에 이(耳) 정맥(auricular vein)에 25G Mantoux syringe로 정맥선을 확보하고 pentobarbital sodium을 25mg/kg로 주사하여 전신마취를 유도하였으며 사

Table 3. Composition of perfusate

Whole blood	100 ml
H/S	70 ml
15% Mannitol	12 ml
8.4% bicarbonate	6 ml
3% CaCl ₂	5 ml
Heparin	6 mg
Dexamethasone	2 mg
E-aminocaproic acid	250 mg
Cefradine HCl	100 mg

(B.W. 2kg, Hct 30)

지를 수술대에 결박하고 경부에 소절개를 가하여 기관을 노출시켜 기관 절개술로서 3.5mm endotracheal tube로 삽관하고 Harvard 소동물 호흡기(Harvard respirator, England)에 연결하여 실험 기간동안 양압 인공 호흡을 실시하였다.(호흡수: 45회/min, tidal volume: 30ml, PEEP 5cm H₂O)(Fig 1)

심폐적출

호흡기로 양압을 계속 시행하는 동안 심폐적출 수술을 시행하였다 수술은 전흉부를 소독한 다음 검상돌기 하부에 피부 절개를 가하고 경부까지 V자 모양으로 피부를 두부 쪽으로 거상한 후 복강을 개방하여 검상돌기를 거상하여 양측 흉골연을 따라 늑연골 부위를 절개하여 심폐를 노출시켜, 상하 공정맥 및 횡격막 부위 대동맥을 절단하여 흉강내 출혈을 시켜 약 100ml 전후 채혈한 직후 폐장의 손상을 최소화 하면서 심폐전체를 적출 해내어 4℃ 생리식염수에 담구었다. 다음으로 심폐 bloc을 심낭절제후 우 심실 유출로 부위 절개창을 통해 주폐동맥 내에 도관을 삽입한 후 4℃ H/S 으로 혈액이 제거되어 폐가 백색이 될 때까지 세척하였다.

실험 protocol

각각의 폐보존액 200ml을 주폐동맥내에 삽입된 도관을 통해 60cmH₂O 압력으로 주입한 후 4℃ 정도의 3군의 폐보존액 수조에 적출심폐를 보존하였다. 이때 주위의 불필요한 조직을 절제해 내는 동안 호흡을 계속 유지시키며 기도내압의 변동을 관찰 측정하였다. 기도내압은 tyco's manometer로 측정하였다.

가토의 적출 심폐를 3종의 실험용 폐보존액에 4℃의 단 순 저온 침적법으로 4시간 저장하였다. 저장 후 적출 심폐를 다시 인공호흡기에 연결하여 폐환기를 회복시키고, 즉

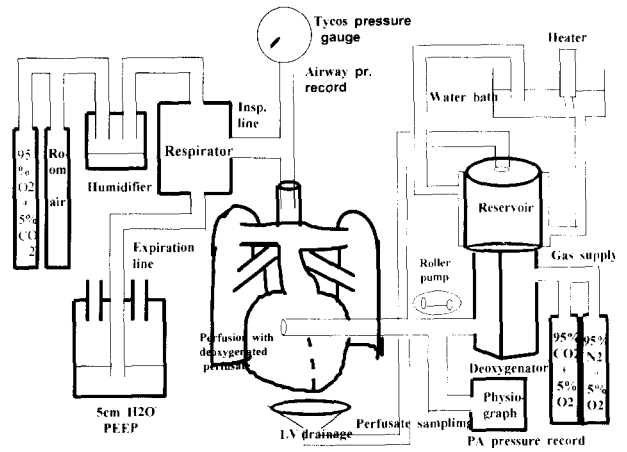


Fig. 2. Experimental model

시 심폐 무게를 측정하였다.

폐조직 생검 후 우심실 유출로 절개창으로 주폐동맥 도관을 재삽입한후 37℃ 탈산화 관류액(perfusate)을 재관류시켰다. 탈산화기는 심장 수술용 산화기(VP CML pediatric COBE, USA)에 95% CO₂ + 5% O₂와 95% N₂ + 5% O₂를 혼합 공급하여 탈산화 및 이산화탄소 용해 관류액으로 만들어 20ml/kg/min의 속도로 재관류시켰다(Table 3).

심폐온도를 37℃까지 점차 가온하면서 20~30분간 관류시키면서 폐동맥압을 기록하고, 실험이 종료되는 순간에 적출심폐의 중량 측정 및 좌심실 배액관으로 배액된 관류액을 받아서 가스 분석을 시행하였고, 폐조직을 생검하여 일부는 액화 질소에 보관하여 폐조직내의 유산(lactate)치와 adenosine deaminase(이하 ADA) 치를 조사하였다.

나머지는 고정 용액에 고정시켜 광학 현미경 및 전자 현미경으로 조직 미세 구조를 관찰하였다(Fig 2).

폐동맥압의 측정

적출 심폐를 보존액에 4시간 보존후 우심실 유출로 부위 절개창을 통하여 주폐동맥내에 재삽관을 하여 deoxygenated perfusate을 순환시키면서 폐동맥압을 계속 관찰하여 관류 말기의 압을 측정하였다. 폐동맥압의 측정은 폐동맥관에 연결된 압력 변환기(P23 viggio Spectramed, USA)를 통하여 physiograph(windograf Gould, USA)에서 평균압을 기록하여 압력 변동을 관찰하였다.

폐조직내의 유산의 정량분석

동결 폐조직을 조직 마쇄기(Ultra Turrax T25, Janke &

Table 4. Body and heart-lung block weight of experimental animal(mean±S.E.)

Group	No.of cases	Body weight(Kg) [†]	Heart-lung bloc(gm)
I	9	2.03±0.03*	14.2±0.33*
II	10	1.72±0.51*	14.2±0.51*
III	11	2.10±0.47*	13.4±0.47*
Total	30	1.96±0.46	13.9±0.44

†: P=0.09 *: P=0.04

Table 5. Weight of heart-lung bloc between pre- and post-perfusion state(mean±SE)

Group	Weight of heart-lugn bloc(gm)	
	Pre-perfusion	Post-perfusion
I (Control)	14.2±4.38	42.2±15.02
II (MUW)	14.2±4.44	44.0±9.37
III (KS)	13.4±4.96	30.9±3.75
P value	P=0.004	

Kunkel IKA-Labotechnik)를 이용하여 매우 잘게 마쇄시킨 후 원심분리기(Sorvall)에 4℃로 1시간 동안 35,000 rpm으로 원심 분리시켜 상층액을 일정량 채취한 시료와 관류액의 유산 검사는 TDx/TDx Flx REA(Radioactive energy attenuation, Abbott Lab. USA) lactic acid assay system 원리를 이용하여 정량 분석하였다.

폐조직내의 adenosine deaminase의 정량분석

동결 폐조직을 유산의 정량분석과 동일한 과정을 거쳐 채취한 시료를 분리한 후 Galanti & Giusti's colorimetric method 에 따라 Spectronic 3,000 autoanalyzer(Spectronics Corp. Westbury, USA)로 정량분석 하였다.

폐조직의 광학 현미경 및 투과형 전자 현미경 검사

적출심폐에서 채취된 폐조직의 일부는 formalin에 고정하여 H&E 염색하여 광학현미경으로 조직의 전체적인 구조의 변화를 관찰하였고, 나머지는 4℃, 2.5% glutaraldehyde(in 0.1M phosphate buffer, pH 7.4)에 20~30분간 고정시키고 재차 같은 고정액에 10시간 이상 침적하였다. 고정된 폐조직을 1mm³ 크기로 세절한 후 1% osmium tetroxide로 후고정하였다. 이들 조직을 50~100%에 이르는 ethanol에 탈수하고, propylene oxide에 침투시켜 Epon 812에 포매하였다. 이 Epon block으로 2um 두께의 박절편을 만들어 toluidine blue로 염색하여 광학 현미경

하에서 관찰한 후 대표적인 block을 선택하여 30~50nm 두께의 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과형 전자현미경(Hitachi 600)으로 조직 미세구조, 특히 기저막의 변화를 관찰하였다.

통계 처리

각군에 사용된 자료는 평균±표준 오차로 표시하였고, 통계학적 분석을 위하여 통계분석체계(statistical analysis system, SAS)를 이용하여 반복 분산 분석법 (ANOVA)과 student t-test를 적용하였으며, P 값이 0.05 미만인 경우를 유의성이 있는 것으로 처리하였다.

결 과

적출 심폐의 중량

각 군의 적출 심폐의 중량은 wet heart-lung bloc의 중량을 측정하였고, perfusion전과 perfusion후의 중량 변동을 측정하였다.

대조군은 관류전 14.2±4.38g, 관류후 42.2±15.02g이며, MUW 군은 관류 전 13.4±4.96g, 관류후 44.0±9.37g, KS군은 관류전 13.4±4.96g, 관류후 30.9±3.75g으로, 전반적으로 관류후 심폐의 중량이 증가되었으나 KS군에서 I, II군에 비해 심폐 중량의 증가가 적었다(Table 4, 5).

기도내압의 변화

심폐 적출후, 보존후 재관류 직전 폐환기 회복 후와 그리고 재관류후의 기도내압의 변화는, I 군에서는 심폐 적출후 12.5±0.59 cm H₂O, 재관류전 25.0±5.12 cm H₂O, 재관류후 38.8±10.6 cm H₂O로 보존후 재관류전 기도내압이 2배로 상승되어 있었으며 재관류후 기도내압의 증가가 심하였다.

II 군에서는 심폐 적출후 13.8±0.87 cm H₂O, 보존후 재관류전 21.7±3.39 cm H₂O로 증가되었으나, 재관류후 12.9±1.02 cm H₂O로 기도내압이 보존전 보다 더 낮았다.

III 군에서는 심폐 적출후 14.6±0.55 cm H₂O, 재관류전 34.5±4.43 cm H₂O 로 증가되었으며 재관류후 23.8±5.11 cm H₂O로 감소되었으나 보존 전의 기도내압보다는 높게 나왔다. 그러나 전반적인 압력 변화의 양상은 II군과 유사하였다(Table 6, Fig. 3).

폐동맥압

폐동맥압은 폐동맥관에 연결된 압력 변환기를 통하여 physiograph에서 평균압을 기록하여 압력변동을 관찰하

Table 6. Changes of airway pressure, peak inspiratory pressure during ventilation and perfusion(mean±S.E. cmH₂O)

Group	Peak inspiratory pressure		
	En-bloc	Pre-perfusion	Post-perfusion
I	12.5±0.59	25.0±5.12	38.8±10.6
II	13.8±0.89	21.7±3.39	12.9±1.02
III	14.6±0.55	34.5±4.43	23.8±5.11
P value	P≥0.037	P≥0.094	P≤0.056

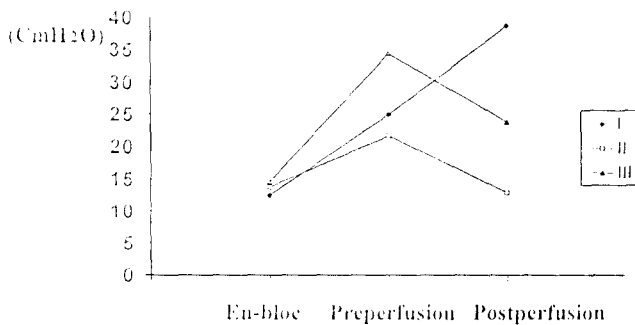


Fig. 3. Changes of airway pressure, peak inspiratory pressure during ventilation, and perfusion

여, 재관류 말기의 폐동맥압을 비교하였다. I 군에서 재관류 말기 평균 폐동맥압은 20.9±2.51 mmHg이고, II 군에서는 24.2±2.21 mmHg로 대조군에 비해 높게 나왔고, III 군에서는 18.6±1.90 mmHg로 대조군에 비해 낮게 나왔다 (P=0.16)(Table 7).

폐조직에서의 유산치

4시간 허혈후와 재관류후의 동결된 폐조직에서의 유산의 양을 보면 I 군에서는 허혈후 67.7±8.99 mM/g, 재관류후 49.9±10.2mM/g으로 재관류후 유산치가 감소되었고, II 군에서는 허혈후 137.7±16.9mM/g, 재관류후 88.1±15.32mM/g으로 재관류후 유산치의 감소를 보이나, 대조군에 비해 허혈후나 재관류후 모두 2배정도 높게 나왔다. III 군에서는 허혈후 182.7±17.57mM/g, 재관류후 148.3±15.89mM/g으로 마찬가지로 재관류후 유산치의 감소를 보이나, 대조군에 비해서 3배정도 높게 나왔다 (Table 8).

Table 7. Mean pulmonary artery pressure at end stage of perfusion

Group	Pulmonary artery pressure(mmHg)
I	20.9±2.51
II	24.2±2.21*
III	18.6±1.90*

*: P=0.057

Table 8. Lactate level in lung tissue(mM/gm)

Group	Pre-perfusion	Post-perfusion
I	67.7±8.99	49.9±10.2
II	137.7±16.9	88.1±15.32
III	182.7±17.57	148.3±15.89
P value	P≤0.007	P≤0.004

Table 9. ADA level in lung tissue(U/L)

Group	Pre-perfusion	Post-perfusion
I	0.42±0.14	0.43±0.12
II	0.28±0.09	0.23±0.14
III	1.12±0.22	2.28±0.39
P value	P≤0.0005	P≤0.0011

폐조직내의 ADA 효소치

동결된 폐조직내의 ADA의 활성도는 I 군에서 허혈후 0.42±0.14 U/L 재관류후 0.43±0.12 U/L로 허혈후나 재관류후 큰 차이가 없었다. II 군에서는 허혈후 0.28±0.09 U/L, 재관류후 0.23±0.14 U/L로 재관류후 약간 감소되었으며, 대조군에 비해 모두 적게 나왔다. III 군에서는 허혈후 1.12±0.22 U/L, 재관류후 2.28±0.39 U/L로서 재관류후 2배 정도 높게 나타났다.(Table 9)

관류액 내에서의 이산화탄소 분압의 변화율

탈산화 관류액(deoxygenated perfusate)을 우심실 절개창을 통한 주폐동맥 삼관으로 관류시켜 폐순환을 거쳐 좌심실로 배액된 관류액에서의 이산화탄소 분압의 변화율은 [PCO₂ in pulmonary venous effluent/PCO₂ in deoxygenated perfusate] × 100(%)으로 계산하였다. I 군에서는 14.75±2.30 %, II군에서는 15.85±5.21%, III 군에서는 17.63±4.45 %로 이산화탄소 분압의 변화율이 가장 높았으나 통계적 유의성은 없었다(Table 10).

Table 10. Percent change of PCO₂ in perfusate

Group	Percent change of PCO ₂
I	14.75±2.30 %
II	15.85±5.21 %
III	17.63±4.45 %
P value	P≥0.78

폐조직 미세구조의 변화

폐조직을 광학 현미경으로 관찰 후 대표적인 block을 선택하여 30~50nm두께의 초박절편을 만들어 투과형 전자 현미경(Hitachi 600)으로 관찰하였다. 세군 모두에서 폐부종, 출혈, alveolar septum의 비후, 폐기종성 변화, 기관지 주위의 임파구 침착과 전자 현미경상 기저막의 이상 소견을 보였으나 각 군간의 저명한 차이는 없었다.

고 찰

페이식의 과정 중에는 공여자의 장기를 획득하여 이식 시까지 적출한 폐를 일정 시간의 보존 기간을 반드시 거쳐야만 한다. 이와 같이 보존 기간 동안에 적출된 공여자의 폐를 수세하고 장기 손상을 최소화하고 기능 보존을 극대화시키는 보존 용액에 보관하는 방법에 관한 연구가 페이식의 성공적인 조건이며 본 실험의 목적에 해당된다. 일반적으로 심장 수술시에 심폐우회술(cardiopulmonary bypass procedure)의 방법을 적용하여 주로 심보호에만 치중하고 있으며 폐장의 보호에는 술중 폐를 허탈시키지 않는 정도에 그치고 있는 실정이다. 이것은 폐보호에는 지금까지 특별한 보호할 대안이 없다는 것을 뜻하기도 한다. 반면 심폐우회술중에는 폐동·정맥계의 순환은 정지되나 기관지 동맥의 순환은 유지되고 있기 때문이기도 하다. 페이식시의 허혈은 완전히 폐순환이 단절된 장기 전체 허혈(global organ ischemia)에 해당된다. 저자는 토끼의 심폐 bloc을 만들 때 폐장 손상을 최소화할 줄이기 위해 노력하였다.

토끼 폐의 세척은 3군 모두 우심실의 유출로에 소절개를 가하여 폐동맥에 삽관하여 4℃의 H/S으로만 저온 수세법을 적용하였으나 기관지 동맥을 통한 세척은 하지 않았다. 그 결과 상당 기간 수세에도 부분적으로 혈액이 제거되지 않는 부분이 있을 수 있으며 이 부분은 기관지 동맥의 혈액부위일 수도 있고, 수술적 조작으로 인한 모세

혈관이 파열되어 간질조직이나 폐포내로 출혈한 혈액일 수도 있다.

저자는 대조 군으로는 H/S용액을 사용하였으며 최근 각종 장기의 보존에 우수한 성적을 나타내는 university of Wisconsin 용액을^{1, 4, 5)} 제 2군의 폐보존액으로 채택하였으며 기술적으로 제조의 어려움으로 일부분의 성분, 세포부종에 탁월한 효과가 인정되는 lactobionate와 raffinose의량을 감량, 조정하는 MUW 용액을 실험에 채택하였다. 대조군으로 사용한 H/S은 세포외액 조성형의 성분으로 sodium 130mM과 potassium 4mM로 구성되어 있음은 주지의 사실이다. 생리적으로는 세포막을 사이에 두고 세포내액과 간질액이 격리되어 있으며 간질액의 조성은 세포외액의 조성과 유사한 sodium과 potassium농도를 가짐으로 심보존액으로 세포외액 성분이 이상적이다.

H/S은 저온 보존 효과가 강하며 쉽게 임상에 이용 가능함으로 실지 심장이나 신장 이식시 동일한 장소에서 이식이 이루어 질 때는 가장 선호하는 용액이기도 하다. 그러나 장시간 보존시에는 세포 부종을 피할 수 없다. 그러므로 저자는 대조군으로 H/S용액을 선택하게 되었다. Wahlberg등¹¹⁾에 의해 제안된 university of Wisconsin액은 여러 장기보존에 보편적으로 사용가능하며 보존 성적이 가장 좋다고 평가하는 용액으로 그 성분중에는 lactobionate와 raffinose 및 hydroxyethylene starch가 있음으로 장기 보존 시에 세포부종을 억제하는 기능을 가짐으로서, 또한 그 전해질 성분은 세포내액과 같으며 sodium 23mM, potassium 119mM과 lactobionate와 raffinose 포함한 것을 비롯한 phosphate buffer를 그 특징으로 하고 있다.

저자가 KS 보존액을 제조한 조성에는 세포내외액의 중간 정도인 30mEq/L의 potassium농도, 세포 부종을 줄이기 위한 1980년 개발된 hydroxyethylene starch, vasoactive substance인 Adenosine, purine salvage의 breakdown을 막기 위한 xathine oxidase inhibitor로서 allopurinol 그리고 폐보존에 필수적이라고 할수 있는 prostaglandin E1이⁸⁾ 첨가되어 폐혈관의 수축을 방지하려고 하였다.

폐보존액에 각종의 substrates를 첨가하여 폐장의 허혈을 최소화하려고 시도한 바 L-arginine은 nitric oxide생성을 촉진시키기 위해, selenium과 glutathione은 유리 산소기에 대한 항산화제로⁹⁾, glutamine은 Krebs's cycle intermediate로, tryptophane은 Kyurenine anthranilate 경로를 통해 acetyl CoA 형성으로 keton체 산생성 에너지 대사(ketogenic energy metabolism)에 이용하기 위해 사용하였다. 폐보존 실험에는 여러 가지의 모델이 있다^{4, 5, 10~12)}. 순

환 환기 실험 모형을 개발하였는데 Wang 등¹³⁾은 폐장환기 장치는 폐쇄 회로를, 혈액순환은 재순환을 시키지 않는 회로를 이용 하였으며 이 등은¹⁴⁾ 환기장치는 개방한 반면 순환계는 재순환을 시킨 것은 추측해 보면 혈액의 부족을 보완한 설계인 것으로 판단되며 저자는 이 등과¹⁴⁾ 같은 원리를 선택하여 인공심폐기를 사용한 혈액을 재순환시켰으며 말기양압 호흡을 실험에 적용하였다. Weder 등¹¹⁾은 순환 기능을 생존 토끼의 생체 혈압을 이용하였으며(ex-vivo cross circulation), 이것은 매우 독창적이고 생리적인 실험 모형으로 차후 실험에 적용해 볼 수 있는 모형이라고 생각 된다.

저자의 실험 결과에서 심폐블록을 절제하여 단순침적법에 의한 4시간 이상의 보존 후와 재관류 후에 측정된 심폐블록의 무게를 비교한 결과는 부종의 정도를 반영하는 것으로 대조군과 MUW군은 3배정도 증가한 반면 KS액에서는 2.3배로 부종이 적게 나타났다. 결과적으로 KS용액의 Osmolarity가 높은 것이 부종을 억제하는 효과가 MUW용액의 lactobionate나 raffinose의 효과 보다도 우수했던 것으로 생각된다. 이 등¹⁴⁾의 성적과 비교하면 저자의 성적이 저조한 것은 사실이나 이것은 이 등은 20% 희석혈을 사용한 반면, 저자는 30%의 희석혈을 사용한 것이 지적되어야 하고 H/S 용액으로 수세한 유무에 차이가 있는 것 같다. 1988년 Locke 등¹⁰⁾의 실험에서는 단순 topical cooling 군이 재관류한 것보다 부종이 심하게 나타난 사실을 지적하고 topical cooling이 이식에 부적합하다고 말하고 있는 반면에 1991년 Kon 등¹²⁾은 오히려 단순 저온 침적 보다는 cold air storage가 우수하다고하여 아직도 논란의 대상이 되고 있는 실정이다.

폐동맥압의 변화는 임상적으로나 실험에서 의미가 크다고 인정되며 Locke¹⁰⁾ 등은 단순 저온법 보다 Euro-Collins 보존액의 경우가 폐동맥압이 30mmHg 이상을 유지하였으며, Wang 등의¹⁵⁾ 성적은 저온 보관만으로도 저자 보다도 훨씬 낮은 폐동맥압을 유지시킬 수 있었다. 이 등의¹⁶⁾ 실험에서는 실지 개의 폐를 이식후 폐동맥 압은 현실적으로 증가한다는 것을 보여주고 있으며 폐보존의 결과를 판정하기 위해 희석 혈액으로 재관류에 의한 실험은 재고되어야 할 방법이라고 저자는 생각하고 있다.

기도내압은 peak inspiratory pressure로 표시하였으며 대조군은 점차 증가한 추세를 보였으나 II-MUW와 III-KS 군은 대조군에 비해 높지 않았다. 이 등¹⁴⁾은 20시간의 장시간 재관류로 실험의 마지막을 기도내에 출혈로 정하였으나, 저자는 짧은 시간 재관류를 하였기 때문에 비교가 어렵고 비교의 큰 의의를 지적하기가 곤란했었다.

유산의 정량 검사는 대조 군이나 II-MUW군에 비해 III-KS용액군에서 높게 나온 것으로 보아 저자의 보존액은 유산축척의 방지가 미흡하다고 판단된다. ADA가 III-KS 용액군에서 약간 높은 수치가 나온 것은 보존액내에 adenosine을 첨가물로 포함시킨 결과인 것으로 추정된다.

폐의 허혈손상의 지표로서 Kirk 등¹⁾은 glucose 대사 변화, 고에너지 인산량, lactate, citrate, malate, 등이 선택된다고 지적하고 있으며 학자에 따라 유리산소기를 측정할 수도 있다. 내피세포 기능을 검정키 위해 vasoactive substances와 complement fixation, thromboxan B2, 6-keto-prostaglandin F1 α 등과 angiotensin-converting enzyme도 검사되고 있다.

저자는 폐조직내의 유산과 ADA를 정량 검사하였다. 유산은 세포 대사의 산물로서 어느 정도 허혈대사의 양과 비례한다고 할 수 있으며 ADA는 정상적으로 세포내에 존재하는 구조적 효소이며 Soncul⁹⁾ 등이 폐손상의 지표로서 high-energy phosphate의 catabolism을 대변할 수 있는 효소라고 설명하고 있다. 그러나 ADA의 증가가 대사 이외에 세포에 보호적인 것인지 비보호적인 것인지에 대해서는 향후 연구의 관점이다.

결론적으로 저자가 고안한 폐보존액은 대조 군에 비해 우수한 성적이라고 할 수 없었으나 다만 앞으로 계속 실험을 통하여 수정보완 할 점이 많다는 사실을 깊이 인지하였다.

요 약

가토 30마리를 대조 군(제I군:9마리), 수정 UW용액군(제II군:10마리), 저자가 시도한 용액군(제III군:11마리)으로 나누고 각 보존액에 적출 심폐를 단순저온 침적 보존하여, 보존전후의 적출심폐의 중량, 기도내압, 관류액의 가스분석, 폐조직의 유산치 및 ADA 효소치와 폐조직 미세구조상의 변화를 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 재관류전후의 각군의 적출심폐의 중량의 증가는 III군에서 I, II군에 비해 유의하게 적었다(P<.05).
2. 기도내압의 변화는 대조군에서는 재관류후에는 재관류전보다 증가되었으나, II, III군에서는 재관류후 재관류전보다 기도내압이 감소하였으며, 특히 II군에서는 보존전의 기도내압보다 더 낮았다.
3. 4시간 보존후 적출심폐를 재관류시 대동맥압은 III군이, I, II군에 비해 낮게 나왔으며, II군은 대조군에 비해 폐동맥압이 증가되어 있었다.

4. 폐조직내에서의 유산치와 ADA호소치는 III군에서 I, II군에 비해 유의하게 높았다.
5. 관류액내에서의 이산화탄소 변화율은 III군에서 I, II군에 비해 조금 높게 나왔으나, 통계적인 유의성은 없었다.
7. 폐조직의 미세구조의 변화는 전반적인 폐부종, 간질 조직의 확장, 출혈 및 기저막의 이상 소견을 보였으나 각 군 간의 저명한 차이는 없었다.
결론적으로 ECF조성 용액인 I군에 비해, ICF조성 용액인 II군과, 저자가 시도한 용액인 III군에서 전반적으로 폐 기능 및 대사에 있어서 다소 우수한 것으로 보인다.

참 고 문 헌

1. Kirk AJB, Colquhoun IW, Dark JH. *Lung Preservation. A review of current practice and future directions.* Ann Thorac Surg 1993; 56:990-1000.
2. Toronto lung transplant group: *Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis.* N Engl J Med 1986; 314:1140-5
3. Kesharjee, SH, Yamazaki F, Cardoso PF, McRitchie DI, Patterson GA, Cooper JD. *A method for safe twelve-hour pulmonary preservation,* J Thoracic Cardiovasc Surg 1989;98: 529-34
4. Bresticker MA, Locicero J III, Oba J, Greene R. *Successful extended lung preservation with UW solution.* Transplantation 1992; 54: 780-4
5. Locicero J III, Massad M, Oba J, Greene R, de Tarnowsky J. *Extended lung preservation by bronchial artery perfusion with University of Wisconsin solution.* Transplantation Proceedings 1991; 23: 670-1
6. Miyoshi S, Shimokawa S, Schreinemakers H, et al. *Comparison of the University of Wisconsin preservation solution and other crystalloid perfusates in a 30-hour rabbit lung preservation model.* J Thorac Cardiovasc Surg 1992; 103:27-32
7. Steen S, Sjoberg T, Massa G, Ericsson L, Lindberg, L. *Safe pulmonary preservation for 12 hours with Low-potassium-dextran solution.* Ann Thorac Surg 1993; 55:434-40
8. Unruh RS, Hoppensack M, Oppenheimer L. *Vascular properties of canine lungs perfused with Euro-Collins solution and prostacyclin.* Ann Thorac Surg 1990; 49:292-8
9. Soncul H, Kaptanoglu M, Oz E, et al. *The role of selenium added to pulmonary preservation solutions in isolated guinea pig lungs.* J Thorac Cardiovasc Surg 1994; 108:922-7
10. Locke TJ, Hooper TL, Fleckinell PA, McGregor CGA. *Preservation of the lung,* J Thorac Cardiovasc Surg 1988; 96: 789-95
11. Weder W, Harper B, Shimokawa S, et al. *Influence of intraalveolar oxygen concentration on lung preservation in a rabbit model,* J Thorac Cardiovasc Surg 1991; 101: 1037-43
12. Kon ND, Hines MH, Herr CD, et al. *Improved lung preservation with cold air storage.* Ann Thorac Surg 1991; 51: 557-62
13. Wang LS, Nakamoto K, Hsieh CM, Miyoshi S, Cooper JD. *Influence of temperature of flushing solution on lung preservation.* Ann Thorac Surg 1993; 55: 711-5
14. 이종국, 서재성. 가토 적출 폐장의 장시간 보존에 관한 실험적 연구. 대흉외지 1994; 27: 723-31
15. Wang LS, Yoshikawa K, Miyoshi S, et al. *The effect of ischemic time and temperature on lung preservation in for functional assessment.* J Thorac Cardiovasc Surg 1989; 98: 333-42
16. 이두연, 배기만, 백효채, 박만실, 이원명. 황견에서 좌측 폐이식 수술 및 우측 폐동맥 결찰 수술후 폐동맥압 변화에 관한 연구. 대흉외지 1994; 27: 345-52

=국문초록=

폐이식의 임상적용에 있어 공여폐의 기능보존 여부가 술후 경과에 결정적인 영향을 미치므로, 이식폐의 채취에서부터 이식까지의 기간동안의 적절한 보존 방법의 개발이 선행되어야되므로, 폐기능 보존에 적절한 용액의 조성을 알아보기위하여 이 실험을 시행하였다.

실험은 세포외액 조성인 Hartmann's solution에 보존한 군(1군)으로 하고, 세포내액 조성인 modified University of Wisconsin solution에 보존한 군(2군), 세포내액과 세포외액 중간형에 여러가지 substrates가 함유된 Kosin solution에 보존한 군(3군)으로 나누어 가토의 적출폐를 대상으로 시행하였다. 폐기능 보존효과를 비교하기위하여 heart-lung blocs의 중량의 변화, 기도내압, 관류액내의 이산화탄소 분압의 변화률, 폐조직내의 lactate 및 adenosine deaminase의 수치를 측정하였고, 폐조직의 미세구조 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 재관류후 heart-lung bloc의 중량변화는 3군에서 가장 낮았다($P < .05$).
2. 기도내압은 1군에서는 재관류후 증가되었으나, 2,3군에서는 감소되었고, 특히 2군에서는 보존전의 기도내압보다 더 낮았다.
3. 재관류동안의 폐동맥압은 3군에서 가장 낮았고, 2군은 1군보다 더 높았다($P > 0.1$).
4. 폐조직내에서의 lactate와 ADA치는 3군이 1,2군보다 높았다($P < .05$).
5. 관류액내의 이산화탄소 분압의 변화률은 3군이 1,2군보다 약간 높았다.
6. 폐조직 미세구조의 변화는 전반적인 폐부종, 간질조직의 확장, 출혈 및 기저막의 이상 소견을 보였으나 각 군간의 저명한 차이는 없었다.

결론적으로 modified University of Wisconsin solution과 Kosin solution의 폐기능 보존 효과는 Hartmann's solution 에 비하여 다소 우수한 것으로 생각된다.