

한국산 잡견에서 허혈시 장시간 심근보존을 위한 각 심정지액간 효과의 차이

조용길* · 류지윤* · 이양행* · 황윤호* · 최석철** · 이덕재*** · 조광현*

=Abstract=

Comparison of Three Cardioplegic Solutions for Prolonged Cardiac Preservation During Ischemia in Korean Mongrel Dogs

Yong Kil Cho, M.D.* , Ji Yoon Ryoo, M.D.* , Yang Haeng Lee, M.D.* ,
Youn Ho Hwang, M.D.* , Seok Cheol Choi, M.PD.** , Dugk Jae Lee, Ph.D.*** , Kwang Hyun Cho, M.D.*

To compare the efficacy of cardiac preservation, we examined purine metabolites during 24 hours of cold storage(0°C) of the Korean mongrel dog hearts after using three different types of cardioplegic solutions. The hypothermic arrest with total cardiopulmonary bypass method was employed in St. Thomas solution(STS) and blood cardioplegic solution(BCPS) preservation cases.

Specimens were analyzed for levels of adenine nucleotides and their precursors by high performance liquid chromatography.

The ATP content in the UW(University of Wisconsin) solution group tends to be higher than that of the combined hypothermic arrest group(STS and BCPS groups) after 2, 4, 8, and 12 hours of preservation respectively, but there were no significant differences between STS and BCPS groups.

The ADP contents in the UWS and BCPS groups were higher than that of the STS group at 4, 8, 12, and 24 hours, but the difference was not statistically significant between UWS and BCPS groups.

The AMP contents did not change significantly in the three groups. The adenosine, inosine, and hypoxanthine concentrations increased progressively, but the level of xanthine was very low in the three groups.

* 인제대학교 의과대학 부산 백병원 흉부외과학교실

* Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Pusan Paik Hospital, College of Medicine, Inje University

** 인제대학교 의과대학 부산 백병원 흉부외과 체외심폐순환실

** Department of Extracorporeal bypass of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Pusan Paik Hospital, College of Medicine, Inje University

*** 인제대학교 중앙의학연구소

*** Central Research Institute of Medicine, Inje University

† 위 논문은 1995년 제 27차 대한흉부외과 추계학술대회에서 구연 발표되었음.

논문심사일 : 96년 4월 15일 심사통과일 : 96년 7월 18일

책임저자 : 조용길, (614-735) 부산광역시 진구 개금동 633-165, Tel.(051) 894-3421, 890-6834 Fax.(051) 893-7233

This study strongly suggests that UWS did not provide satisfactory long-term preservation of heart, but was superior than STS and BCPS group with hypothermic arrest method.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1996; 29: 1066-75)

Key words: 1. Organ preservation
2. Cardioplegic solutions

서 론

심장 이식을 위한 공여자 심장의 적출 및 보존에 사용되는 심정지액은 많은 종류가 개발되었으나, 아직 냉각된 허혈 상태로 견딜 수 있는 심근의 생존력은 4시간 전후로 시간적인 제약이 따르고 있다. 또한 응급 상태에서의 심장 적출 및 이식 수술을 위한 원거리 이동이 필요한 경우가 대부분이므로 적출 및 보존법의 간편성과 장기간의 우수한 보존력이 필수적이라 하겠다.

심장 이식 환자에서 수술 후에도 만족할 만한 심장 기능을 유지하기 위해서는 심근 보호가 적절히 된 경우라도 심장 적출 후 4~6 시간 이내에 이식 수술이 이뤄져야 한다¹⁾. 동물 실험상 24시간까지 냉각 심정지용액으로 심장 보존 후 이식 실험을 성공적으로 시행했다는 보고도 있으나²⁾, 이 경우에도 5~8 시간이 경과하면 이식 심장에 중대한 기능적 저하가 유발된다³⁾. 심장 정지 및 보존액으로서 초창기의 단순 식염수액에서 효능이 향상된 정질 심정지액⁴⁾(crystalloid cardioplegic solution)까지 여러 종류가 알려져 있다. Guerraty 등⁵⁾은 적출한 개의 심장을 저체온과 저압력으로 지속적인 심정지액 관류를 시키는 방법으로 24시간 보존한 후 이식 수술을 시행하여 생존을 보고하고 있고, Wicomb 등⁶⁾은 실제 임상적으로 이동식 저온 관류법(portable hypothermic perfusion system)을 이용하여 최장 17시간까지 인체의 심장을 보존한 후 이식 수술을 시행하여 16개월의 생존을 보고하고 있으나, 이러한 방법은 복잡하고 세심한 기구 조작 및 기술이 필요하며, 또한 감염에 대한 기회도 높다고 할 수 있다⁶⁾. 저온에서의 생체조직의 보존은 생존에 필수적인 세포내 효소 분해 속도를 감소시킬 뿐 아니라 신진대사(metabolism)를 저하시키는 작용을 한다. 동물 체온이 10℃ 하강하면 대부분의 효소들은 1.5~2.0배 정도의 활동력 저하를 가져오며 체온이 37℃에서 장기보존 온도인 0℃까지 떨어지면 신진대사는 12~13 배 정도의 속도로 억제된다. 즉 대부분의 기관이 정상 체온에서의 허혈(ischemia) 상태에서는 기능의 소실없이 30~60분 정도 밖에는 견딜 수 없으나, 0℃ 상태에서는 12~13시간까지도 장기의 기능 보존이 가능

하다고 한다⁷⁾. 그러나 이러한 저온 자체가 세포막의 안정화, 칼슘 분리, 포도당 이용, ATP 생성과 이용, 조직의 산소 이용, pH, 그리고 세포의 삼투성 등에 역작용을 초래할 수가 있다⁸⁾. 그러므로 효과적이고 적절한 심근보존용액이 되기 위해서는 ① 저온으로 인한 세포의 종창(swelling)을 최소화하고 ② 세포내 산성화를 예방 ③ 간질조직의 팽창을 방지 ④ oxygen-free radicals로 인한 손상 방지 ⑤ 재관류시 고에너지 phosphate 화합물의 재생을 위한 기질(substrate) 공급 등의 조건을 충족해야 한다⁹⁾. Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ 농도가 세포내 용액과 유사하게 함유된 Euro-Collins(EC) 용액과 University of Wisconsin(UW) 용액은 심장 보존액으로 많이 사용되고 있으며, 또한 심보존 기능도 우수한 것으로 발표되고 있다¹⁰⁾. 세포의 용액과 유사한 Na⁺, K⁺ 조성을 가진 St. Thomas(ST) 용액도 장시간 우수한 심근보존 능력을 가지고 있으나 UW 용액의 보존력이 보다 우수한 것으로 알려져 있다¹¹⁾. 그러나 조직학적인 관점에서 보면 Stein 등¹²⁾은 UW 용액이 Stanford 용액과 비교하여 별 차이를 볼 수 없으며 재관류 후에는 양 용액군 모두에서 심각한 심근손상을 볼 수 있다고 하였다. 혈성 심정지액(blood cardioplegia)은 혈액내 다량 함유된 산소를 이용하여 적절한 심근내로의 산소공급과 재관류시 심근손상의 최소화, 과도한 혈액의 회석을 방지할 수 있다는 장점으로 심장 수술시의 심정지액으로 근래 많이 사용되고 있으나¹³⁾, 심장 이식시에는 저온에서 적혈구의 변형으로 인한 침전(sludge)현상으로 관상동맥의 미세순환(microcirculation)을 방해할 수 있다는 점에서 장시간의 심장 보존용액으로는 불리한 점이 될 수도 있다¹⁴⁾.

본 논문에서는 St. Thomas 액, 혈성 심정지액, UW 액을 대상으로 한국산 잡견의 심장을 냉각보존한 후 채취한 좌심실 근육 조직을 생화학적인 방법으로 adenine nucleotides(ATP, ADP, AMP), adenine nucleosides(adenosine, inosine), purine bases(hypoxanthine, xanthine)을 측정하여 각 용액의 시간대별 변화와 각 용액사이의 차이를 분석 정리하였다. 단순 UW 액 심정지 보존법과, 인공심폐기를 이용하여 전신 저체온법을 동시에 시행한 St. Thomas 액 및 혈성 심정지용액의 심정지 보존법과의 비교는 의미가

Table 1. Composition of Cardioplegic Solutions

St. Thomas		UW Solution		Blood cardioplegia	
Component		Component		Component	
Concentration(mol)		Concentration(mol)		Concentration(mol)	
NaCl	144	KH ₂ PO ₄	20	Blood Hct	17~20%
KCl	20	MgSO ₄	5	KCL	20
CaCl ₂	2.2	Adenosine	5	NaCl	130
MgCl ₂	147	Glutathione	3	NaHCO ₃	25
Lidocaine	70(mg/L)	Raffinose	30	Dextrose	200
		Allopurinol	1		
		Potassium			
		lactobionate	100		
		Pentastarch	5(%)		
		Insulin	100(U/L)		
		Dexamethasone	8(mg/L)		

으로 사료된다.

대상 및 방법

1. 실험견 마취 및 준비

각 심장 보존액 별로 5마리씩, 15 마리의 10~15kg 사이의 한국산 잡견을 대상으로 하였다(Table 1). 수술 하루 전 저녁부터 금식시키고, 실험 당일 ketamine(10mg/kg)을 근육 주사하여 행동을 둔화시킨 후 앞발에 정맥 주사선을 설치하고, 동물 수술대 위에 눕혀 결박한다. Pentothal(10mg/kg)을 정맥 주사하여 의식 소실이 확인되면, 기관 삽관 tube(No. 6.0-8.0)를 개의 기관지에 삽관한 후, volume-cycled ventilator(Acoma CT 5, Acoma 사, Japan)에 연결하여 1% halothane과 50% O₂ 를 20회, 호기말 CO₂ 분압(end tidal CO₂)이 30~35 mmHg로 흡입 유지시켰다. 계속적인 혈압 감시를 위하여 대퇴동맥을 cutdown 하여 arterial monitoring line 을 설치하고, 심장박동을 check하기 위한 EKG선을 사지에 부착, 배뇨를 위한뇨관, 체온 측정용 직장 온도계등을 삽입하였다. 마취 및 수술 도중에 EKG 및 동맥압 상태를 감시하여 과도한 서맥이나 수축기 혈압이 100 mmHg 이하인 경우, 동맥혈 gas 검사상 대사성 산증이 심한 경우 등에는 dopamine, atropine, NaHCO₃ 등의 약제도 병행 주입하여 안정적인 심장 상태를 유지하려고 노력하였다.

2. 수술

실험견 흉복부 전면의 털을 깎고 povidone으로 소독한 후, 소독포를 덮고 정중흉골 절개를 가하여 흉선, 심낭을 박리하여 심장을 노출시킨다. 전신 저체온 방법을 병행하기 위한 인공심폐기와 연결 부위인 상행대동맥, 상공 및 하공정맥, 폐동맥 주위를 박리하였다. 상행대동맥 기시부에 심정지액 주입침을 위한 자리를 확보한 후, heparin(3mg/kg)을 주사하고 상행대동맥(16Fr.) 상공정맥(20Fr.), 하공정맥(20Fr.)에 각각 송. 탈혈관을 삽입하여 인공심폐기(Sarns 7000, Sarns 사, USA)와 막성 산화기(Bentley 사, USA)에 각각 연결하였다. 인공심폐기에 사용한 충전액(priming solution)은 다른 개에서 채취한 혈액으로 Hct가 20~25% 정도되게 하고, 15% mannitol을 6cc/kg로 첨가하여 만든 약 1300~1400cc를 사용하였으며, 인공심폐기 작동과 함께 실험견의 직장 체온이 28~30℃ 정도까지 내려 가도록 관류량은 2.0~2.7 L/m²/min로 냉각 순환시켰다. 체온이 28~30℃ 전후 될 때, 상행대동맥 원위부를 차단하고 동시에 차단된 근위부에 준비된 심정지액을 16G 주사침으로 20cc/kg 용량으로 주입하면서, 열린 Hartman 액을 잘게 부순 얼음가루를 심장 위에 붓고, 주입된 심정지액은 우심방 절개를 통하여 배액하였다. 심정지액 주입이 끝난 후, 상하대정맥, 대동맥, 폐동맥, 좌심방 순으로 절제하고 미리 준비해 둔 0℃ 전후의 Hartman 용액에 심장이 완전히 잠기도록 한후 온도계를 거치하고 냉장고에 보존하였다. 저장된 심장은 수시로 보존용액의 온도를 측정하여 온도가 상승하면, 열린 Hartman 액 얼음조각을 첨가하여 0℃ 전후가 되도록 조절하였다. 혈성 심정지액은 혈액:심정지액이 4:1 정도의 비율로 자동적으로 섞여 주입할 수 있는 혈성 심정지액 주입 set(blood cardioplegia delivery set, Shiley 사, USA)를 인공심폐기에 연결하여 100~130mmHg 압력으로 상행대동맥 기시부로 주입하였다. UW 액을 이용한 심정지법은 인공심폐기 사용없이 정상 체온하에 상행대동맥에 UW 액을 20cc/kg 용량을 주입과 동시에 얼음가루를 심장 위에 국소적으로 투입하고 전술한 방법과 같은 순서로 심장을 절제 보존하였다. 저장된 실험견의 심장은 적출 후 ① 30분 ② 2시간 ③ 4시간 ④ 8시간 ⑤ 12시간 ⑥ 24시간대 등 6회에 걸쳐 좌심실 근육을 수술용 칼과 핀셋으로 소량 채취한 후 -75℃ 정도의 냉고에 보관하여 분석실험을 준비하였다. 조직 채취는 좌심실의 각기 다른 부위를 채취하도록 주의하였다.

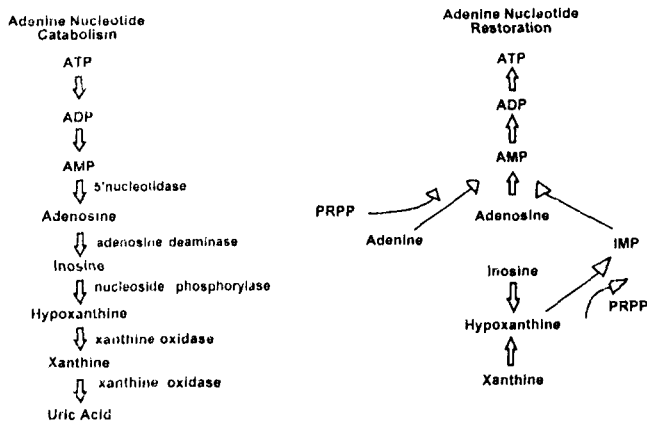


Fig. 1. Pathways for adenine nucleotide degradation and restoration. ADP, adenosine diphosphate, AMP, adenosine monophosphate, ATP, adenosine triphosphate, PRPP, phosphoribosyl pyrophosphate

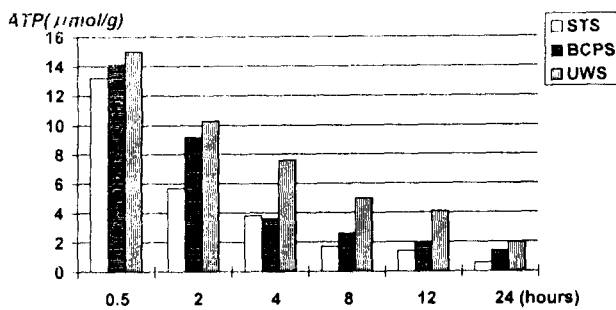


Fig. 2. Changes of adenosine triphosphate concentration in dog hearts(n=5/group) during 24 hours of cold storage. STS, St. thomas solution, BCPS, blood cardioplegic solution, UWS, University of Wisconsin solution

3. 측정 및 분석 방법

ATP, ADP, AMP, inosine, xanthine 및 hypoxanthine 은 Sigma제를 사용하였으며, adenosine 은 Boehringer Mannheim제를, 크로마토그래피용 용매는 Redel-deHaen 제를 그외의 모든 시약은 E. Merck제를 사용하였다. 증류수는 Millipore제(U. S. A.) Milli-Q 로 얻은 3차 증류수를 사용하였다.

고속액체크로마토그래피(HPLC)는 Dosoh제 CCPD 펌프 (Japan), Gilson제 112 UV/VIS 자외선 검출기를 이용하였다. 칼럼은 ATP 등을 분석할 때에는 Waters제 C18(3.9×150mm)을 사용하였으며, xanthine 등을 분석할 때에는 Cosmosil ODS(4.6×150mm) 칼럼을 사용하였다. 검출기의 파장은 254nm에서 검출하였다.

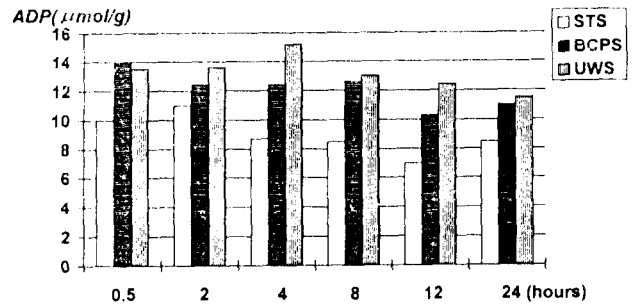


Fig. 3. Changes of adenosine diphosphate concentration in dog hearts(n=5/group) during 24 hours of cold storage. STS, St. thomas solution, BCPS, blood cardioplegic solution, UWS, University of Wisconsin solution

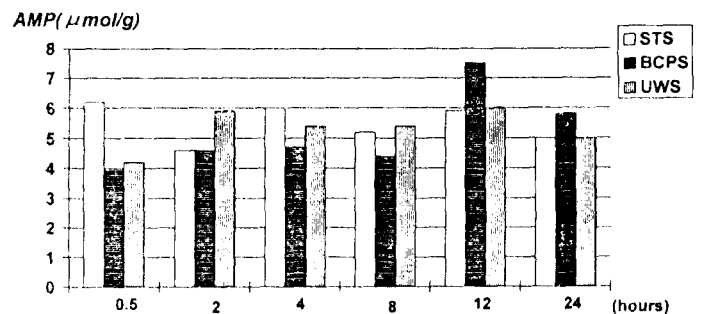


Fig. 4. Changes of adenosine monophosphate concentration in dog hearts(n=5/group) during 24 hours of cold storage. STS, St. thomas solution, BCPS, blood cardioplegic solution, UWS, University of Wisconsin solution

시료의 전처리는 시료를 100.0~200.0mg 정도를 저울로 잰 후 0.1N NaOH 4mL을 넣고 tissue tearor로 잘게 갈아 원심분리기로 5분간 원심 분리한 후, 상층액을 1mL씩 분리하여 HPLC로 분석할 때까지 -75°C의 냉동실에 보관하였다. 나중에 HPLC로 분석할 때에 상기의 용액을 Microfuge로 13,000rpm/min.에서 8분간 원심 분리한 후, 상층액 20μL를 HPLC에 주입하였다.

용리용 완충용액은 ATP 등을 분석 할 때에는 KH₂PO₄ 0.1mole과 tetrabutyl ammonium hydrogen sulfate 10 mmole을 증류수 약 800 mL로 녹이고, 1.0N NaOH로 pH를 6.0으로 맞춘후 증류수로 정확히 1L로 만들어 사용하였다. 위의 용액을 Millipore 0.45μm membrane filter로 여과하여 사용하였으며, 용리속도는 분당 1mL/min.로 하여 사용하였다. 검출기의 범위는 0.02로 맞추었으며, ATP 측정시는 0.005로 하여 측정하였다. ATP와 ADP는 극성이 강해 비극성칼럼인 C18 칼럼에는 분리가 되지 않아 용리

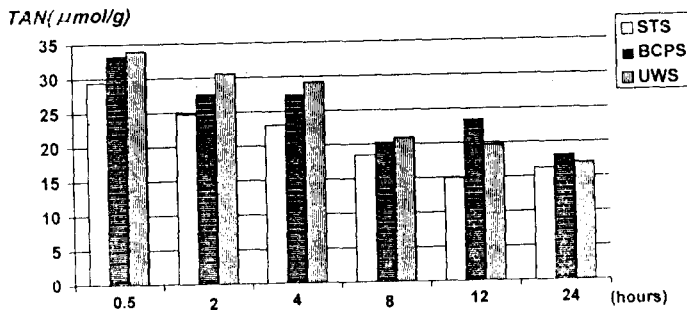


Fig. 5. Changes in total adenosine nucleotides(TAN) concentration in dog hearts(n=5/group) during 24 hours of cold storage. STS. St. thomas solution, BCPS. blood cardioplegic solution, UWS. University of Wisconsin solution

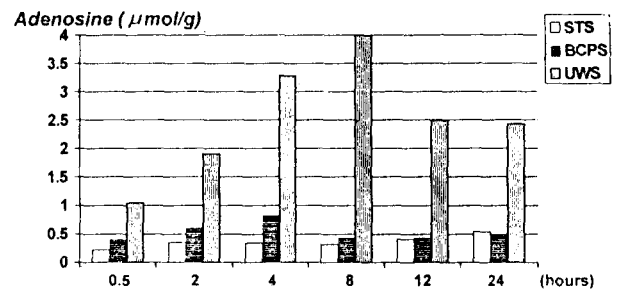


Fig. 6. Changes of adenosine concentration in dog hearts (n=5/group) during 24 hours of cold storage. STS. St. thomas solution, BCPS. blood rdioplegic solution, UWS. University of Wisconsin solution

액에 tetrabutyl ammonium hydrogen sulfate를 첨가하여 비극성 화합물로 만들어 측정하였다. 그 결과 분리되어 나오는 순서가 역순으로 되어 극성이 작은 AMP가 먼저 나오고 그 후에 ADP와 ATP가 나왔다.

Hypoxanthine, xanthine, AMP, inosine 및 adenosine을 분석할 때의 완충용액도 마찬가지로 방법으로 pH 6.0, 0.05M phosphate buffer를 Millipore 0.45μm membrane filter로 여과하여 사용하였다. 용리 속도는 초기 용리 속도를 8mL/min.로 하였으며, 11.50분에서 1.2mL/min.으로 바꾸고 21분에서 용리액을 8% methanol로 바꾸었으며 용리 속도는 1.2mL/min.를 유지하였다. 위의 8% methanol은 0.05M phosphate buffer:methanol 이 92:8로 만든 용액이다. 검출기의 범위는 0.02로 하였으며 adenosine의 peak가 작은 경우에는 범위를 0.01로 맞추어 사용하였다. Fig. 4는 HPLC로 분리한 크로마토그램으로서 극성이 큰 hypoxanthine부터 극성이 제일 작은 adenosine 순서로 분리가 되었다.

4. 통계처리

PC-SPSS(Ver. 4.0)를 이용하여 control과 시간대별 수치의 비교는 paired t-test를 응용하였으며, 세 심근용액간 차이는 분산 분석법(analysis of variance)을 응용하여 그룹간 통계적 유의성이 있는 경우는 Duncan test로 사후검정을 실시하였다. P-value는 0.05 이하인 경우를 통계적인 의미가 있는것으로 하였다.

연구 결과

1. St. Thomas 용액(STS)에서의 시간대별 분석

ATP 농도는 2시간대 13.2μmol/g에서 5.7μmol/g으로 급

격히 감소하여(p<0.01), 그후 24시간대까지 지속적인 감소를 보였다. 특히 8시간대는 4시간대보다 의미있는 감소를 보였다(p<0.05)(Fig. 2).

ADP 농도는 4시간대 10.0μmol/g에서 8.7μmol/g으로 의미있는 감소(p<0.05)를 보였으나, 그후 24시간대까지 비교적 일정한 수준을 유지 하였다(Fig. 3).

AMP 농도는 2시간대 6.2μmol/g에서 4.6μmol/g으로 감소 후(p<0.05), 원래 수준으로 다시 증가하여 24시간대까지 유지하였다(Fig. 4).

TAN(total adenine nucleotides = ATP+ADP+AMP) 농도는 8시간대 29.4μmol/g에서 18.4μmol/g으로 의미있는 감소 후(p<0.05), 12시간대(p<0.01), 24시간대(p<0.05)에도 계속 감소를 보였다(Fig. 5).

Adenosine 농도는 2시간대 0.22μmol/g에서 0.35μmol/g으로 의미있는 증가를 보인 후, 24시간대까지 계속 증가된 양상을 보였다(p<0.01)(Fig. 6). Inosine 농도는 2시간대 이후로 지속적인 증가를 보였다(p<0.01)(Fig. 7).

Hypoxanthine 농도는 12시간, 24시간대 0.31에서 각각 0.51μmol/g, 0.74μmol/g으로 증가된 양상을 보였다(p<0.01)(Fig. 8).

2. Blood Cardioplegia 용액(BCPS)에서의 시간대별 분석

ATP 농도는 2시간, 4시간대 14.1μmol/g에서 각각 9.2μmol/g, 3.6μmol/g으로 급격한 감소(p<0.01)를 보인후, 24시간대까지 지속적인 감소를 보였다(Fig. 2).

ADP 농도는 2시간대 13.9μmol/g에서 12.4μmol/g으로 감소(p<0.01)한 후, 일정한 수준을 유지하다가 12시간대 3μmol/g으로 감소하였다(p<0.05)(Fig. 3).

AMP 농도는 전 시간대별 유의성 있는 차이를 보이지

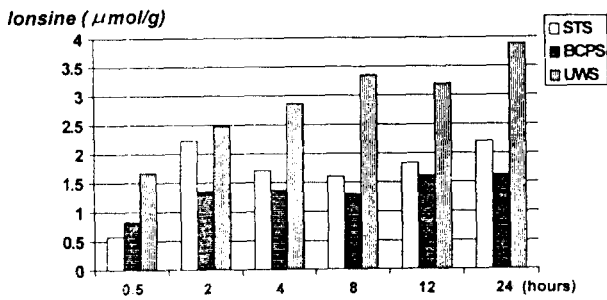


Fig. 7. Changes of inosine concentration in dog hearts (n=5/group) during 24 hours of cold storage. STS, St. thomas solution, BCPS, blood cardioplegic solution, UWS, University of Wisconsin solution

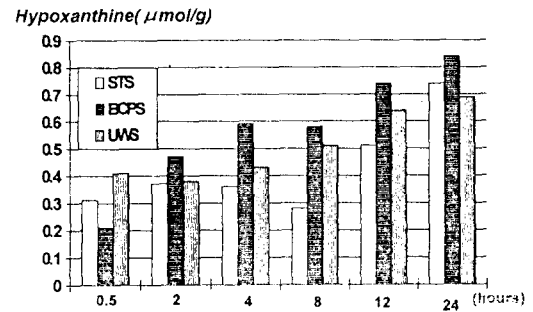


Fig. 8. Changes of hypoxanthine concentration in dog hearts (n=5/group) during 24 hours of cold storage. STS, St. thomas solution, BCPS, blood cardioplegic solution, UWS, University of Wisconsin solution

않았다(Fig. 4). TAN 농도는 2시간, 8시간대 약간의 감소를 보이나 의미있는 차이는 아니었고, 24시간대 33.3μmol/g에서 18.1μmol/g으로 의미있는 감소를 보였다(p<0.05)(Fig. 5).

Adenosine 농도는 2시간, 4시간, 24시간대 0.40μmol/g에서 각각 0.61, 0.83(p<0.01), 0.52μmol/g(p<0.05)으로 증가된 소견을 보였다(Fig. 6).

Inosine과 Hypoxanthine 농도는 2시간대 이후로 계속 증가된 소견을 보였다(p<0.01)(Fig. 7, 8).

3. University of Wisconsin 용액(UWS)에서의 시간대별 분석

ATP 농도는 2시간, 4시간, 8시간대 15.0μmol/g에서 각각 10.3, 7.6, 5.0μmol/g으로 감소(p<0.01)하였으며, 24시간대에도 12시간대의 4.1μmol/g에서 2.0μmol/g으로 의미있는 감소를 보였다(p<0.05)(Fig. 2).

ADP 농도는 4시간대 13.5μmol/g에서 15.2μmol/g으로 상승을 보이나 의미있는 차이는 없었으며, 24시간대까지 일정한 수준을 유지하였다(Fig. 3).

AMP 농도는 2시간대 상승을 보이나 의미있는 차이는 없었고, 그 후에도 일정한 수치를 보였다(Fig. 4).

TAN 농도는 8시간대 29.2μmol/g에서 20.9μmol/g으로 의미있는 감소를 보였고(p<0.01), 그 후 12시간대와 24시간대에 각각 19.7μmol/g와 17.0μmol/g으로 감소된 상태를 보였다(p<0.01)(Fig. 5).

Adenosine과 Inosine농도는 2시간대 이후부터 계속 증가된 소견을 보였다(p<0.01)(Fig. 6, 7).

Hypoxanthine 농도는 8시간대 이후로 계속 증가된 소견을 보였다(p<0.01)(Fig. 8).

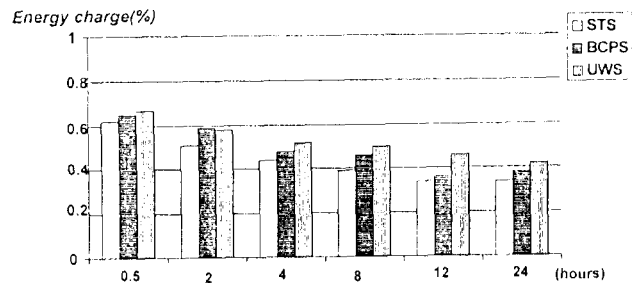


Fig. 9. Changes of energy charge in dog hearts(n=5/group) during 24 hours of cold storage. STS, St. thomas solution, BCPS, blood cardioplegic solution, UWS, University of Wisconsin solution

고찰

심장병 말기 환자에서의 심장 이식 수술이 1967년 Barnard에 의하여 최초로 성공한 이후로, 80년대 초반 Stanford 대학에서 면역억제제로써, cyclosporine의 효과가 입증되고 난 뒤에는 뇌사가 인정되는 국가에서는 광범위 하게 행하여져 오고 있다¹⁰⁾. 이식을 위한 장기 보존용액은 주로 신장에서 사용된 용액이 타 장기에도 사용되어 왔으나 심장등 타 장기에서는 실험적으로 최장 6~10시간의 장기 보존이 가능하다고 하나, 아직 인체에서의 심장 이식은 4시간에서 6시간 이내의 장기 보존 상태 하에서 만이 성공적인 결과를 얻을 수 있다고 한다¹¹⁾. 동물 실험과는 달리 인체의 심장 적출은 공여자가 뇌사 상태시의 요붕증(diabetes insipidus) 증세로 인한 저혈압과 산염기 불균형 등의 교정을 위한 inotropics 및 vasopressin 등의 장기간의 투여¹²⁾와 내분비학적인 변화 즉 3,5-triiodothyronine, thyrox-

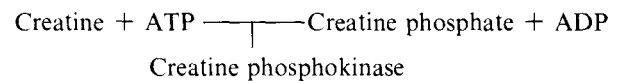
ine, cortisol, insulin 등의 감소로 심근 기능의 저하를 초래할 수도 있어 장시간 보존에 장애가 되고있다⁹⁾. 장시간의 심장 보존을 위해서 복잡한 저온 관류법을 이용하여 임상에 적용하기도 하나⁵⁾, 이러한 관류 장치에서는 관상동맥의 확장제 사용과 함께 즉각적인 저온의 고칼륨심정지액의 주입, 미세한 혈전증 및 공기 색전증 방지를 위한 여과기 장치, 감염예방을 위한 철저한 감시 등이 필수적으로 시행되어야 효과적인 결과를 얻을 수 있다⁴⁾. 심장 이식을 위한 심근 보존 방법으로 Takahashi 등¹⁵⁾은 동물 실험에서 상온 심정지액(warm cardioplegic solution)이 관상동맥의 혈관 저항을 감소시켜 준다는 보고도 있으나, 일반적으로 여러 가지 심근보호 물질이 함유된 냉 심정지액이 사용이 간단하고 재생산의 편리성 때문에 많이 사용되고 있는 실정이다.

심장 정지 및 보존용액은 Na^+ , K^+ 가 세포외액 농도와 유사하게 조제된 St. Thomas 액, Na^+ , 고농도의 K^+ 가 세포내액과 유사하게 조제된 UW 액, Bretschneider(HTK) 액, Euro-Collins 액, dextrose 와 mannitol에 저 농도의 Na^+ 가 함유된 Stanford 액, 혈액을 기본으로 Na^+ , K^+ 가 함유된 혈성 심정지액 등으로 나눌 수 있다. St. Thomas 액은 K^+ 와 Mg^{+2} , 세포막 안정화 역할을 하는 procaine HCl, 세포 부종을 감소하기 위한 세포외막 Na^+ 농도 등을 함유하고 있다. UW액의 특징은 ① 불필요한 젖산(lactic acid)과 수소 이온을 발생하여 대사성 산증을 유발하는 포도당을 함유하지 않는 대신 수소 이온 완충액으로 인산 용액(KH_2PO_4) ② 저온으로 인한 세포 종창을 방지하고 교질 삼투압(oncotic pressure)을 안정적이고 효과적으로 유지하기 위한 colloid로서의 lactobionate와 raffinose ③ H_2O_2 , lipid peroxides, disulfides, ascorbate 등과 같은 세포 독성 물질을 제거하기 위한 glutathione¹⁶⁾ ④ xanthine oxidase를 억제하고 O_2 free radicals 로 인한 손상을 방지하기 위한 allopurinol ⑤ 재관류시 ATP 합성 및 재생산을 자극하기 위한 adenosine¹⁷⁾ ⑥ 세포막 안정화를 위한 Mg^{+2} 등을 함유하고 있다. 혈성 심정지액은 혈액의 적혈구 용적율(hematocrit)을 20% 전후로 하고 K^+ , Na^+ , 포도당 등을 함유시켜 사용하며 주로 혈액내의 산소 공급 능력을 이용한 적절한 산소 공급과 재관류시 심근 손상을 방지하기 위하여 이용되어 오고 있다¹¹⁾.

심장 기능의 측정 및 분석평가는 혈액학적 방법(hemodynamics), 생화학적 분석(biochemical), 형태학적인 조사(morphological) 등으로 비교할 수 있다. Yeh 등⁶⁾은 쥐 심장에서 6시간 냉각 보존 후 현미경으로 조사한 결과, UW액은 세포 형태학적인 보존성이 우수하다고 한 반면,

Demertzis 등¹⁸⁾은 St. Thomas액 등 다른 심장 보존액에 비하여 UW액의 차이점을 볼 수 없었다는 보고도 있다. 혈액학적인 심장기능은 심박출계수(cardiac index), 우·좌심실 박출계수(stroke work index), 중심정맥압, 폐쇄기압(capillary wedge pressure), 폐 전신 혈관 저항계수 등으로 측정 한 바, 임상실험상 UW액과 St. Thomas액군 사이에 특별한 차이점이 없다고 하나¹⁸⁾, Yeh 등⁶⁾에서는 수축 및 이완기 좌심실 기능이 UW액으로 보존한 쥐 심장에서 탁월했다는 보고도 있다.

심근 세포내의 미토콘드리아(mitochondria)는 세포 동력 장치로써, 이곳에는 수많은 효소가 존재하며 이의 촉매에 의하여 세포의 유기영양물을 효소로써 산화시켜 CO_2 와 H_2O 를 생성한다. 이러한 산화반응이 일어날 때, 다량의 화학에너지가 유리되며 이것은 세포의 주된 에너지 전달 분자인 ATP를 생성하는데 이용된다. 이렇게 미토콘드리아 내에서 만들어진 ATP는 세포의 다른 부위를 이동하여 각종 세포가 수행하는 역할에서의 화학적인 에너지를 공급한다. ATP와 인산으로 부터 산화적 인산화(oxidative phosphorylation)에 의하여 ATP로 변화되는데, 이러한 변화는 체내에 필요한 화학에너지를 공급하기 위하여 수천 번씩이나 ADP와 인산으로 분해되고 재합성된다. 이러한 체내에서의 ATP 회전 속도는 수면시 최저값에서 격렬한 근육 활동시의 최고값에 이르기까지 큰 변동이 있으므로, 산화적 인산화는 연속된 반응일 뿐만 아니라 매우 광범위하게 조절되고 있다¹⁹⁾. 심장근육에 들어있는 대부분의 nucleotide는 ATP와 ADP이며 그의 다른 nucleotides, inosine triphosphate(ITP), guanosine triphosphate(GTP), uridine triphosphate(UTP) 등은 적게 함유하고 있다. 근육내의 creatine은 ATP와 작용하여 creatine phosphate로 되어 에너지를 저장하고 있다. 근육이 수축할 때 creatine phosphate 에너지는 다시 ATP를 형성하여 이용된다.



근육의 강직은 ATP 생산보다 근육의 ATPase에 의하여 ATP 파괴가 더 많아 ATP 수준이 낮아진 것과 관계가 있다. ATP가 감소되기 전에 먼저 creatine phosphate가 감소되고 creatine phosphate의 70%가 분해되면 ATP가 감소되기 시작하고 ATP가 15%로 떨어지면 완전 강직 상태로 기능 상실에 이르게 된다. 이러한 강직은 actin과 myosin의 결합과 관계가 있는데 ATP는 actomyosin을 actin과 myosin으로 분해하여 근육을 이완시키기 때문이다. 즉 ATP가 충분치 못하면 actin과 myosin filament는 결합상태로 있어서 근육은 수축되거나 강직 상태를 유지하게 된다. 또

ATP는 세포의 원형질막사이에서 삼투현상으로 물질을 수송하거나 Na⁺와 K⁺의 수송에 필수적인 역할을 하고 있다. ATP, ADP, AMP는 모든 생명체에 존재하고 있으며 동일한 통괄적인 기능을 맡고 있다. 정상적인 호흡을 하는 세포에서 ATP가 전체 3종류의 adenine nucleotide의 80% 이상을 차지하고 있다¹⁹⁾. 대사조절에서 ATP나 ADP 외에 AMP 역시 관여하고 있다는 것을 설명하기 위해 에너지 전하(energy charge, EC)라는 표현이 세포의 에너지 상태에 관하여 Daniel Atkinson에 의하여 제창되었다²⁰⁾. 이것은 ATP, ADP, AMP 등의 합계인 전체의 adenine nucleotide계가 얼마나 높은 고-에너지 인산기에 의하여 "채워지고" 있는지의 척도이다. 즉 에너지 전하(EC)는 다음과 같이 쓸 수 있다.

$$EC(\text{에너지 전하}) = \frac{[ATP] + 1/2[ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]}$$

전체 adenine nucleotide가 전부 ATP로 인산화되면 에너지 전하는 "1"이며, 또한 adenine nucleotide가 "비어"있고 AMP만 존재하면 "0"이다. 일반적으로 세포의 EC는 약 0.9이며, 이것은 adenine산계가 거의 대부분 ATP로 인산화되어 있다는 것을 의미하고 있다.

본 연구에서는 30분대의 EC는 세 용액군 모두에서 0.6 정도를 유지하였으며, 시간이 경과함에 따라 STS와 BCPS 용액군에서는 0.3~0.5로 감소된 수치를 보이거나 UW 용액군은 24시간대까지도 0.5 정도로 앞의 두 용액군보다는 높은 수치를 유지하였다(Fig. 9).

Purine nucleotide는 5'-nucleotidase의 작용에 의해서 인산기가 떨어져 나가는 경로를 통하여 분해된다. 즉 AMP는 adenosine이 된 다음, 탈아미노화 되어 inosine으로 되고, inosine은 가수분해 되어 purine 염기인 hypoxanthine과 D-ribose로 된다. Hypoxanthine은 연속적으로 산화되어 xanthine, 이어서 요산(uric acid)으로 되어 최종 배설된다. 영장류에서는 요산이 최종 배설산물이나 그 외의 많은 척추동물에서는 요산은 요산 산화효소(urate oxidase)에 의하여 더욱 분해 되어 allantoin이 되어 배설된다²¹⁾.

허혈(ischemia) 상태에서는 심근내 ATP가 심실 기능의 소실이 불완전하게 회복되는 비율에 따라 감소하게 되고²¹⁾ 또한 고에너지를 함유한 phosphate와 adenosine도 감소하게 된다²²⁾. 이렇게 감소된 adenine nucleotides는 2가지 경로로 보충되는데, 첫째는 nucleotide pool로부터의 합성과 재생이다. 그러나 이러한 경로는 매우 느려서 시간당 0.4% 비율로 밖에는 보충되지 않으며, 만약 ATP가 원래의 1/2 수준으로 감소하였다면 원래의 수준으로의 회복에는 1주일까지나 소요된다고 할 수 있다²³⁾. 두번째는 첫번째에

비하여는 효과적인 구제 경로(salvage pathway)이다. 즉 adenosine kinase 효소의 작용으로 adenosine이 AMP으로의 재인산화(rephosphorylation)가 되어 ATP의 재생에 관여하게 되고, adenosine의 보충은 ATP 재생산을 가져와 심실 기능 회복에 효과가 있다²⁴⁾.

Masuda 등²⁵⁾은 사람과 비비원숭이(baboon), 개의 심근육 ATP 농도는 거의 비슷하였으며, 저온 심정지 보존법과 NIH 심정지용액을 사용한 경우를 비교하여도 초기에는 세 가지 종(species) 사이에 ATP 농도의 차이는 없었다고 한다. 그러나 24시간 심장 보존 후 측정된 ATP 및 adenine nucleotides의 분해는 사람에서는 심정지용액을 사용한 경우가 단순 저온 심정지 보존법에 비하여 뚜렷한 장점이 없었으나, 개의 경우는 심정지액을 사용하여 보존한 경우가 확연한 보존 효과를 볼 수 있다고 하였다. Minten 등²⁶⁾은 단순 심장 절제후 단지 저온에서 보존한 경우는 개의 심근육의 ATP가 쥐 보다 1시간까지는 훨씬 높은 보존치를 보이며, 그 이후에도 24시간까지 측정된 수치도 쥐 보다 높은 농도를 유지하였다. Weisel등²⁷⁾은 관상동맥 수술시 혈성 심정지액을 사용하여 심장을 정지시키고 재순환하는 과정 동안의 adenine nucleotide의 변화를 기술하였는데, 계속적인 심근육 보존을 시행한 경우이므로 ATP, ADP 농도는 감소하여 나타나나 그래도 일정한 수준을 보임을 증명하였다. 사람에서 xanthine 농도는 개에 비하여 매우 낮은 수준을 보이므로 xanthine의 탈수소작용을 억제하는 allopurinol (UW의 조성 성분)을 사람에서 사용은 불필요하다고 한다. Neely 등²⁸⁾은 ATP의 감소가 전체적인 adenine nucleotides의 감소와 함께 동반되면 비가역적인 심근육 손상의 지표로 볼 수 있으며, 즉 ATP로의 전환에 필요한 전체 adenine nucleotides가 매우 낮다면 비가역적인 변화로 볼 수 있다. 특히 ATP는 허혈후 심장근육의 회복 여부를 결정하는 중요한 지표로 사용되고 있으나 그에 대한 논란도 적지 않다. 즉 일정 수준 이상의 ATP 농도는 허혈 후에도 가역적인 심근 회복을 보장할 수 있다²⁹⁾고 하며, 혹자는 ATP 농도가 절대적으로 가역적인 심근 회복과 연관성이 있는 것은 아니지만²⁸⁾, 재판류 후에 기능적인 회복을 예측할 수 있는 좋은 표식자가 될 수는 있다³⁰⁾.

본 연구에서 ATP 농도는 30분대에서는 세 용액간 차이는 없었으나, 2시간대 이후에는 UW 용액군이 BCPS와 STS 용액군에 비하여 의미있게 높은 수치를 보였으며 또한 BCPS 용액군도 STS 용액군에 비하여 의미있게 높은 농도를 보였다. AMP 농도는 4시간대 이후에 UW 용액군에서 STS나 BCPS 용액군에 비하여 높은 수치를 보이거나, STS 용액군과 BCPS 용액군 사이에는 의미있는 차이는 없

었다. adenosine 농도가 전시간대에 걸쳐 UW 용액군이 STS 용액군과 BCPS 용액군에 비하여 현저히 높은 수치를 보이는 것은 UW 용액내에 함유된 adenosine 때문으로 생각되며, inosine, hypoxanthine 은 ATP, ADP, AMP 에 비하여 소량의 농도를 보이거나 시간이 경과함에 따라 원만한 증가 추세를 보였다. UW 용액으로 보존한 경우에서의 inosine 과 hypoxanthine 농도가 STS나 BCPS 용액군에서 보다 높은 수치를 보이거나 소량의 농도가 측정되므로 심근 보존능력의 비교 지표로는 부적절하다고 하겠다. 따라서 심장근육의 ATP와 TAN 농도의 증감이 이식 수술 후 심장 기능의 회복 정도의 비교 지표로 사용될 수 있을 것이나 심근 보존 능력의 가역성을 나타낼 수 있는 절대적인 농도의 기준치는 이차적인 이식 실험 등의 부가적인 과정이 시행되어야만 알 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

한국산 잡견을 대상으로 인공심폐기와 산화기를 이용한 전신저체온법을 동시에 시행하면서 St. Thomas 용액 (n=5), 혈성 심정지액(n=5)을 관류시킨 경우와 UW 용액 (n=5) 관류만으로 심근 보존을 한 심장을 0°C Hartman용액에 24시간 보존 후, 각 시간대별 좌심실 근육 조직을 채취하였으며, 초고속 액체 크로마토그래피 방법으로 ATP, ADP, AMP, adenosine, inosine, hypoxanthine, xanthine 농도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. ATP 농도는 세 용액 모두에서 2시간대부터 의미있는 감소를 보였으나, UWS 군에서는 비교적 높은 수치를 보였으며, 특히 4시간대까지도 STS와 BCPS군의 2시간대와 유사할 정도로 높은 농도의 수치를 유지하였다.
2. ADP 농도는 4시간대 이후 UWS와 BCPS군에서 STS군보다 의미있게 높은 수치를 보였으며 세군 모두에서 2시간대와 4시간대에 의미있는 증감을 보이거나 ATP에서와 같은 일률적인 감소를 보이지는 않았다.
3. AMP 농도는 BCPS와 UWS군에서 2시간대 이후로 증가된 양상이 24시간대까지 지속되나 의미있는 차이는 아니었다.
4. TAN 농도는, 세 용액 모두 8시간대부터 의미있는 감소를 보인 후, 24시간대까지 지속적인 감소 양상을 보였다.
5. Adenosine, inosine, hypoxanthine 농도는 UWS군에서 STS와 BCPS군에 비하여 비교적 높은 수치를 보였으나, xanthine 농도는 세군 모두에서 미량의 검출로 비교가 곤란하였다.

이상으로 UW 용액으로 심정지 보존한 경우에서 STS와 BCPS군에 비하여 ATP, TAN의 시간 경과에 따른 보존 능력이 우수함을 볼 수 있으나 향후 심장 기능의 가역적인 회복 정도를 나타내는 adenine nucleotides의 수치의 의미는 이차적인 이식 실험이 동반되어야만 규명이 가능할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Billingham ME, Baumgartner WA, Watson DC, et al. *Distant heart procurement for human transplantation*. Circulation 1980;62(suppl 1):11-9
2. Swanson DK, Dufek JH, Barber TA, et al. *Improving function of hearts preserved for 24 hours by controlling reperfusion*. Transplantation 1979;28:476-81
3. Swanson DK, Myerowitz PD, Watson KM, et al. *A comparison of blood and crystalloid cardioplegia during heart transplantation after 5 hours of cold storage*. J Thorac Cardiovasc Surg 1987;93:687-94
4. Guerraty A, Alivizatos P, Warner M, et al. *Successful orthotopic canine heart transplantation after 24 hours of in vitro preservation*. J Thorac Cardiovasc Surg 1981;82:531-7
5. Wicomb WN, Cooper DKC, Novitzky D, et al. *Cardiac transplantation following storage of the donor heart by a portable hypothermic perfusion system*. Ann Thorac Surg 1984;37:243-8
6. 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
7. Belzer FO, Southard JH. *Principles of solid-organ preservation by cold storage*. Transplantation 1988;45:673-6
8. Lie X, Engleman RM, Wei Z, et al. *Postischemic deterioration of sarcoplasmic reticulum : warm versus cold blood cardioplegia*. Ann Thorac Surg 1993;56:1154-9
9. Novitsky D, Cooper DKC, Zuhoi N, et al. *Triiodothyronine therapy for heart donor and recipient*. J Heart Transplant 1988;7:370-6
10. Oyer PE, Stinson EB, Jamieson SA, et al. *Cyclosporin A in cardiac allografting : a preliminary experience*. Transplant Proc 1983;15:1247-52
11. Hendry PJ, Labow RS, Barry YA, et al. *An assessment of crystalloid solutions for donor heart preservation*. J Thorac Cardiovasc Surg 1991;101:833-8
12. Stein DG, Drinkwater DC Jr, Laks H, et al. *Cardiac preservation in patients undergoing transplantation. A clinical trial comparing University of Wisconsin solution and Stanford solution*. J Thorac Cardiovasc Surg 1991;102:656-65
13. Codd JE, Barner HB, Pennington DG, et al. *Intraoperative myocardial protection : a comparison of blood and asanguineous cardioplegia*. Ann Thorac Surg 1985;39:125-33
14. Sakai A, Mija J, Sohara Y, et al. *Role of red blood cells in the coronary microcirculation during cold blood cardioplegia*.

- Cardiovasc Res 1988;22:62-6
15. Takahashi A, Hearsce DJ, Braimbridge MV, et al. *Harvesting hearts for long-term preservation : detrimental effects of initial hypothermic infusion of cardioplegic solutions.* J Thorac Cardiovasc Surg 1990;100:371-8
 16. Fuller BJ, Luncc J, Healing G, et al. *Reduction of susceptibility to lipid peroxidation by desferroxamine in rabbit kidneys subjected to 24-hour cold ischemia and preservation.* Transplantation 1987;43:604-6
 17. Southard JH, Ricc MJ, Belzer FO. *Preservation of renal function by adenosine-stimulated ATP synthesis in hypothermically perfused dog kidneys.* Cryobiology 1985;22:237
 18. Demertzis S, Wippermann J, Schaper J, et al. *University of Wisconsin versus St. Thomas hospital solution for human donor heart preservation.* Ann Thorac Surg 1993;55: 1131-7
 19. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. *Principles of Biochemistry.* 2nd ed. New York, Worth Publisher 1993;364-99
 20. Boyer PD, Chance B, Ernster L, et al. *Oxidative phosphorylation and photophosphorylation.* Ann Rev Biochem 1977;46:955-1026
 21. Reibel DK, Rovetto MJ. *Myocardial ATP synthesis and mechanical function following oxygen deficiency.* Am J Physiol 1978;234:H620-4
 22. Ely SW, Mentzer RM, Lasley RD, et al. *Functional and metabolic evidence of enhanced myocardial tolerance to ischemia and reperfusion with adenosine.* J Thorac Cardiovasc Surg 1985;90:549-56
 23. Zimmer HG, Trendelenburg C, Kammermeir H, et al. *De novo synthesis of myocardial adenine nucleotides in the rat.* Circ Res 1973;32:635-42
 24. Bolling SF, Bies LE, Gallagher KP, et al. *Enhanced myocardial protection with adenosine.* Ann Thorac Surg 1989;47:809-15
 25. Masuda M, Sukehiro S, Mollhoff T, et al. *Degradation of myocardial high-energy phosphates during twenty-four hours of cold storage.* J Thorac Cardiovasc Surg 1992;103:993-1000
 26. Minten J, Segel LD, Belle HV, et al. *Differences in high-energy phosphate catabolism between the rat and the dog in a heart preservation model.* J Heart Lung Transplant. 1991;10:71-8
 27. Weisel RD, Mickle DAG, Frinkle CD, et al. *Delayed myocardial metabolic recovery after blood cardioplegia.* Ann Thorac Surg 1989;48:503-7
 28. Neely JR, Grottyohann LW. *Role of glycolytic products in damage to ischemic myocardium.* Circ Res 1984;55:816-24
 29. Jennings RB, Hawkins HK, Lowe JE, et al. *Relation between high energy phosphate and lethal injury in myocardial ischemia in the dog.* Am J Pathol 1978;92:187-214
 30. Whitman GJR, Kieval RS, Secholzer S, et al. *Recovery of left ventricular function after graded cardiac ischemia as predicted by myocardial P-31 nuclear magnetic resonance.* Surgery 1985;97:428-35

=국문초록=

한국산 잠건을 대상으로 세 종류의 심정지액으로 심장을 정지 보존 후, 심장을 적출하여 0℃에서 보존하면서 일정한 시간별로 6회에 걸쳐 좌심실 근육조직을 채취하여 -75℃ 냉동고에 저장한 후, 초고속 액체 크로마토그래피법으로 purine metabolites를 측정하였다.

UW 용액(UWS)군의 ATP 농도는 St. Thomas 용액(STS)군과 혈성 심정지액(BCPS)군에 비하여 높으나, STS 군과 BCPS 군 간에는 특이한 차이가 없었다.

UWS 군과 BCPS 군의 ADP 농도가 4, 8, 12, 24 시간대의 STS 군보다 높지만, UWS 군과 BCPS 군 사이에는 특이한 차이가 없었다.

AMP 농도는 세군 모두에서 변화가 많지 않았고, adenosine, inosine, hypoxanthine 농도는 시간 경과에 따라 점차 증가하였고, xanthine 의 농도는 매우 소량이어서 비교가 불가능하였다.

본 연구 결과, UW 용액이 장시간의 심근보존능력에는 아직 문제점이 있으나, 전신 저체온법을 동시에 시행한 St. Thomas 용액이나 혈성 용액보다는 보다 우수한 보존용액으로 사료된다.

중심 단어 : 1. 심장 보존
2. 심정지용액