

플라즈마 중합 처리된 중공사 막의 혈액 적합성

권오성 · 이삼철*†

전북대학교 신소재공학부, *한려대학교 신소재공학과

Blood Compatibility of Hollow Fiber Membranes Treated with Plasma Polymerization

O. S. Kwon and S. C. Lee*†

School of Advanced Materials Eng., Chonbuk Nat. Univ., Chonju, 561-756, Korea

*Dept. of Advanced Materials Eng., Hanlyo University, Kwangyang, 545-704, Korea

(2005년 6월 2일 받음, 2005년 8월 3일 최종수정본 받음)

Abstract Surface modification of polypropylene hollow fiber membranes was performed in order to develop blood-compatible biomaterials for use in the blood contacting and oxygenation membranes of a lung-assist device(LAD). Blood compatibility was determined by using anticoagulation blood and evaluating formation of blood clots on their surfaces as well as activation of plasma coagulation cascade, platelet adhesion, and aggregation. It was verified that the number of platelets on the silicone coated fibers was significantly lower than those on polypropylene. It was also found that the polypropylene hollow fiber membranes using plasma treatment exhibited suppression of complement activation in blood compatibility test.

Key words blood compatibility, polypropylene hollow fiber membranes, plasma polymerization.

1. 서 론

중공사를 활용한 인공 폐가 생체 폐의 기능이 심하게 손상되었을 때 장기의 대체 혹은 보조할 목적으로 연구되고 있지만 장치와 재료 개발의 한계성을 극복하지 못하여 현재의 인공 폐는 장기간 활용이 요구되는 중환자 적용에는 어려움을 겪고 있는 실정이다. 특히 이 장치의 활용이 절실한 내과 중환자 질환 중에서 질병이나 유발적인 상해에 의해 미국에서 매년 20만 명 이상이 발병하는 것으로 알려져 있는 급성호흡곤란증후군(Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS)¹⁾은 손상된 폐로 인하여 심한 저산소혈증(hypoxemia)을 일으키는 폐 질환 형태로 현재 사망률은 36~60%에 달한다.²⁾ 이러한 증후군의 치료는 최근 반세기 동안 국제적으로 연구되어 왔으나 다양한 인자 때문에 효과적인 치료제와 특수 치료법이 최근까지 개발이 되지 않고 있는 상황이다.^{3,4)}

현재 ARDS 치료의 한 방법으로 체내 이식형 기체교환 장치가 부분적인 호흡 보조에 사용하기 위하여 활발하게 연구가 진행되고 있으며,⁵⁻⁷⁾ 이것은 정맥내의 혈액-기체 교환 장치(intravenous blood-gas exchange device)

로서 기체의 공급과 제거 전에 연결된 길고 가느다란 중공사막 다발을 순환중인 정맥계 내에 노출시켜 혈액이 손상된 폐에 도달하기 전에 산소를 공급하고 이산화탄소를 제거하는 폐의 기능을 대행할 수 있는 장치이다. 이와 같은 중공사형 막은 혈액흐름이 맥관 구조 내에 완전히 남아 있기 때문에 용혈현상(hemolysis)과 감염(infection)을 감소시킬 수 있는 장점이 있으며, 장치의 삽입과 조작이 상대적으로 단순하기 때문에 수술비용이 체외순환 막형 산화기(Extracorporeal Membrane Oxygenator, ECMO)에 비하여 적게 들어 장치의 설계와 개발에 대한 노력을 기울여 오고 있다. Mortenson에 의하여 1980년대 중반에 제안되어 임상에서 처음 사용된 정맥내 산화기(Intravenous Oxygenator, IVOX)⁸⁾는 ARDS환자에 대해 대사 필요량의 30%까지 기체교환 성능을 나타내었으며, 29일간의 체내 삽입에서도 기체교환의 문제점이 거의 없었고 혈전형성(thromboembolism)의 합병증이 나타나지 않았다. 그러나 다만 IVOX 임상 연구 결과는 효율적인 정맥 내 인공 폐로 임상적용을 위해서는 좀 더 효율적인 기체교환을 필요로 한다고 제안하였다.⁹⁻¹¹⁾ 그럼에도 불구하고 아직까지 이와 관련한 연구결과는 장치가 이식되어야 할 맥관 내라는 공간의 한계 때문에 문제를 해결하지 못하고 있는 실정이다.

†E-Mail : cheol@hlu.hanlyo.ac.kr

기존 인공폐막 재료는 폴리프로필렌(polypropylene, PP), 테프론(teflon) 등 소수성 고분자로 제조된 다공성막이다. 비공성막에 비해 투과저항이 적고 기공의 크기(pore size)가 0.1~5 μm 이므로 기체투과성은 우수하지만 세공에 의해 수증기의 통과, 세공 내로의 액체의 인입, 감염, 기체 기포의 혈액 내의 혼입 등으로 인해 혈액과 접촉할 때는 소수성이 저하한다. 혈청이 세공을 통과하여 기체상으로 나가는 혈청 누출(serum leakage)의 문제점이 발생하여 기체교환성능이 현저하게 낮아지는 문제점이 또한 있다. 현 상황에서는 이 장치의 기체전달효율 향상과 혈액적합성 향상이 충분히 이루어지지 않는 상태로 특히 장기간의 사용(Long Term)에는 더더욱 한계가 있다.

고분자 분야에서의 저온 플라즈마의 이용은 그 방법이 다양하며 효과 및 성능 면에서도 특이성이 현저하여 각종 고분자 재료의 기본적인 표면물성의 개질은 물론 전기, 전자, 광학 및 막분리 등의 기능 재료 개발에 있어 중추적인 위치에 놓여 있다. 특히 플라즈마 중합법에 의하여 생성된 중합막은 플라즈마 방전조건의 설정에 따라 그 화학 구조 및 물성을 조절할 수 있으며 각종 기질과의 접착력이 우수함과 동시에 두께의 조절이 용이하므로, 플라즈마 중합법을 이용한 복합막형 기체 분리 막의 연구 활동이 진행되고 있다.

본 연구에서는 새로운 체내 이식형 인공폐의 임상 적용 가능한 중공사 막의 우수한 혈액적합성을 갖도록 플라즈마 중합법으로 처리하여 그 특성 평가를 수행하였다.

2. 실험 방법

2.1 중공사 막의 실리콘 플라즈마 중합

중공사막의 표면처리는 플라즈마를 발생시키기 위해 RF 전력공급 장치(RF power supply: 13.56 MHz, ST 350)와 매칭 네트워크(matching network: LC 1000)를 사용하였다. 각 단량체와 반응기 사이는 1/4 인체 스테인레스관으로 연결하고 중간 부분에는 needle valve와 stop valve를 사용하여 반응기 내부의 유량을 조절하였다. 표면 개질에 사용된 모노머는 hexamethylsiloxane(HMDSO), HMDSO+O₂, HMDSO/O₂이었으며 Table 1과 같은 조건으로 표면처리 하였다.

Table 1. Conditions of surface treatment in experimental treatment code

Treatment code	Conditions of surface treatment
A	Untreated polypropylene hollow fiber
B	HMDSO+O ₂ , 100°F, 40W, 3min
C	HMDSO, 40°F, 409W, 7min

2.2 혈액적합성 평가

혈액적합성은 In-vitro 방법 중에서 전혈(whole blood)의 응고를 관찰하는 Imai-Nose법¹²⁾과 Lee-White법,¹³⁾ 혈장단백질과 상호작용을 조사하는 칼슘 재침가 응고시간(plasma recalcification time, PRT) 실험법,¹⁴⁾ 내인계 응고인자의 활성화정도를 조사하는 활성화 트롬보플라스틴 시간(activated partial thromboplastin time, APTT)^{15,16)} 실험법을 이용하여 평가하였다. 사용된 혈액은 성인의 혈액이며 혈액을 채취하여 혈액 응고 방지제인 10% (v/v)의 ACD(acid-citrate-dextrose)용액을 넣어 냉장 보관하였다. 혈액 응고 방지제인 ACD용액은 sodium citrate dihydrate 1.10 g, citric acid monohydrate 0.04 g과 D-glucose anhydrous 1.23 g을 증류수에 녹여 50 ml가 되게 제조하였다. 또한 중공사막의 혈액 침적 시험은 외경 380 μm , 내경 280 μm 의 표면 처리된 폴리프로필렌 막(Oxyphane, Enka, Germany)과 표면처리하지 않은 막을 각각 길이 50 mm로 절단하여 멸균처리한 후 시편을 준비된 혈액에 침적하였다.

1) Imai-Nose법

측정하고자 하는 PP막과 표면 처리한 막을 시계접시에 부착시킨 후 실험에 사용할 혈액을 채취하여 ACD 용액 10%(v/v)의 첨가하여 혈액 200 μl 를 마이크로피펫으로 취하여 막이 부착된 시계접시에 주입하고, 0.1 mol CaCl₂ 수용액 50 μl 를 주입하여 혈액응고 반응을 개시하였다. 반응개시 후 20분이 경과하면 형성된 혈전에 적당량의 증류수를 가하여 혈액응고반응을 정지시켰으며, 5분 경과 후에 생성된 혈전을 분리하여 37% 포름알데히드 용액에 20분 동안 담귀 혈전을 고정화하였다. 그 후 건조기에서 수분을 제거하고 생성된 혈전의 무게를 측정하였다.

2) Lee-White법

측정하고자 하는 시료를 시험관에 코팅하고 혈액응고 방지제를 첨가하지 않은 순수한 혈액 5 ml를 채취하여 시험관에 주입한 후 4분이 지난 후부터 30초마다 혈전이 한 덩어리가 되어 흐름성이 사라질 때까지의 시간을 측정하였다.

3) 칼슘 재침가 응고시간 실험법

시편은 Lee-White법에서 행한 것과 동일하게 하여 제조하였으며 혈액을 채취하여 ACD용액 10%(v/v)를 넣고 원심분리기를 이용하여 4°C에서 2000 rpm으로 20분간 원심 분리하여 platelet rich plasma(PRP)를 얻은 후, 이것을 다시 5000 rpm으로 20분간 원심 분리시켜 platelet poor plasma(PPP)를 얻었다. 시료가 코팅된 시계접시를 증류수로 팽윤시킨 후 항온조에 넣어 37°C를 유지하였다. 그 후 PPP 200 μl 를 주입하고 0.025 mol의 CaCl₂수용액 200 μl 를 넣어 응고반응을 개시하였으며 혈액이 응고할 때까지의 시간을 측정하여 칼슘 재침가 시간으로 사

용하였다.

4) 내인계 응고인자의 활성화도

시료를 Lee-White법에서 제조한 것과 동일한 방법으로 제조하며 증류수로 팽윤시킨 상태에서 37°C로 조절된 항온조에 정치시켜서 준비하였다. 혈액을 채취하여 10% (v/v)의 ACD용액을 넣고 2000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 혈장(platelet rich plasma, PRP)을 취하여 사용한다. 그리고 준비한 시료에 혈장 100 μ l을 도입하고 APTT 시약 100 μ l를 가하여 5분 동안 혈장을 활성화시킨다. 그리고 염화칼슘용액(0.025mol) 100 μ l를 넣어서 응고반응을 행하며, CaCl₂용액을 도입한 후부터 응고할 때까지의 시간을 측정하여 활성 트롬보플라스틴 시간(APTT)을 정하였다.

5) 항응고제 처리하지 않은 혈액 침적 시험

멸균 처리된 PP 시편을 혈액에 의하여 뜨지 않도록 96 well plate 바닥에 고정하였다. 그 후 채취한 혈액을 각 well에 주사기로 1 cc씩 주입하였으며, 침적처리 시간은 15분, 25분, 35분 동안 처리하였다. 시료가 담긴 well plate는 침적기간 동안 혈액의 세포가 중력에 의해 침전되는 것을 방지하기 위해 Rotator를 사용하여 상하진동 및 회전운동을 하였으며, 37°C의 5% CO₂ Incubator에서 지정된 시간동안 침적처리한 후 시편을 꺼내어 0.1 M PBS로 세척하였다. 세척된 시편을 광학 현미경을 사용하여 혈액의 부착 상태를 관찰하였다.

6) 항응고제 처리한 혈액 침적 시험

멸균처리된 PP 시편을 혈액에 의하여 뜨지 않도록 well plate 바닥에 고정하였다. 그 후 채취한 혈액에 항응고제를 투여하여 혼합한 후, 각 well에 주사기로 1 cc씩 주입하였으며, 침적처리 시간은 30분, 60분, 90분 동안 처리하였다. 시료가 담긴 well plate는 침적기간 동안 혈액의 세포가 중력에 의해 침전되는 것을 방지하기 위해 Rotator를 사용하여 상하진동 및 회전운동을 하였으며, 37°C의 5% CO₂ Incubator에서 지정된 시간동안 침적처리한 후 시편을 꺼내어 0.1 M PBS로 세척하였다. 그 후 항응고제가 사용된 혈액에 침적처리된 시편은 주사전자현미경 관찰을 위하여 세포고정 처리한 후 탈수처리 하였다. 세포고정은 전고정과 후고정으로 이루어진다. 전고정은 glutaraldehyde 와 0.1 M PBS가 1:40으로 혼합된 용액을 사용하여 2시간 동안 고정하여 시편을 0.1 M PBS로 2회 이상 세척하였다. 후고정은 Osmium tetroxide 와 0.1 M PBS가 1:100으로 혼합된 용액을 사용하여 1시간 동안 고정하였으며 0.1 M PBS로 2회 이상 세척하였다. 탈수처리는 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% ethanol을 사용하여 순차적으로 각각 15분 동안 탈수처리 하였다. 탈수처리된 시편의 표면 관찰을 위하여 시편을 Au 코팅한 후 주사전자 현미경(SM-350, TOPCON, Japan)으로 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 플라즈마 중합된 중공사 막

Fig. 1(a)는 표면처리하지 않은 중공사막 treatment code A의 표면과 단면의 주사전자현미경 사진이다. 표면을 관찰해본 결과 그 표면에 수 나노에서 수백 나노 크기의 미세한 기공이 분포하고 있음을 확인할 수 있었다. PP 막의 벽이 미세다공성이기 때문에 이러한 중공사는 지금까지 의학적 가스전달에 사용한 테프론과 실리콘 고무보다 좀 더 향상된 물질전달 특성을 가질 것이다. 또한 이들 중공사막은 혈액응고를 최소화하기 위하여 미세다공성 폴리프로필렌에 플라즈마 중합이나 헤파린 코팅 등의 표면처리를 실시하였다.

Fig. 1(b), Fig. 1(c)는 treatment code B와 C의 각각의 표면과 단면의 주사전자 현미경 사진이다. Code B의 시편에서는 실리콘 재료로 플라즈마 중합 처리했을 경우에 다소 미세한 기공들이 폐쇄되었지만 표면의 큰 기공들을 확인할 수 있었다. Code C의 시편에서는 기공들이 다소 조대화된 모습을 보여주었다. 이들의 결과에서 처리조건 C가 좀더 많은 기공률을 가짐으로서 기체 투과에 개선된 특성을 보이리라 판단된다.

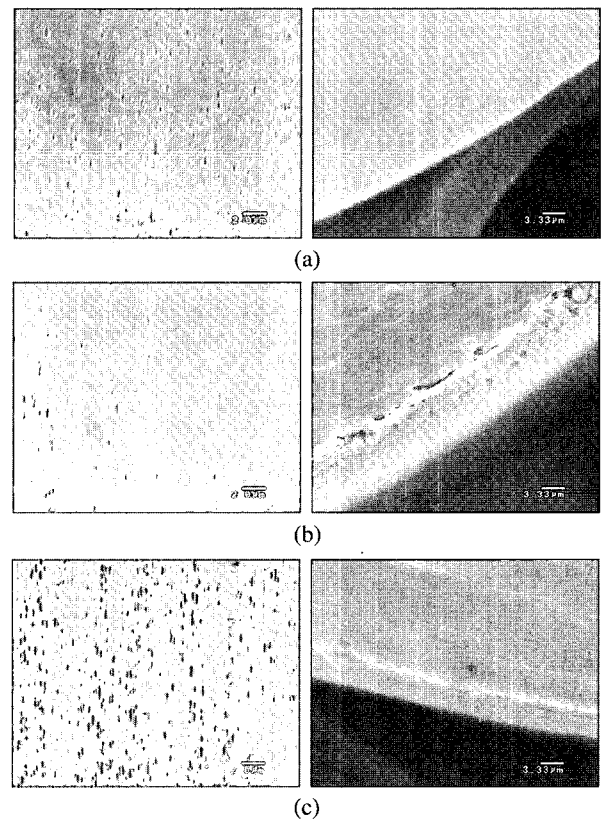


Fig. 1. Scanning electron micrographs of surface and cross section on (a) treatment code A, (b) treatment code B, (c) treatment code C.

고분자의 표면 개질은 크게 플라즈마 처리와 플라즈마 중합으로 나눌 수 있다. 플라즈마 공정은 사용 가스의 종류에 따라 고분자 표면의 화학 개질의 종류를 선택할 수 있으며 습식 화학 처리할 때 발생할 수 있는 화학 성분의 표면 잔류를 방지할 수 있다. 또한 전체 표면이 매우 일정하게 개질되는 등의 장점이 있으나 반면에 진공 상태에서 이루어져야함으로 이에 따른 운전비가 증가하며 시스템이 바뀔 때 따라 공정 인자가 변화하고 무엇보다도 공정이 복잡하여 플라즈마와 표면간의 상호작용에 대한 정확한 이해가 어려운 단점이 있다.

플라즈마 중합 표면 개질에 있어서 중요한 것은 최적의 공정 조건을 찾는 일이다. 플라즈마가 형성되는 반응기의 종류와 형태, 전극의 형태와 위치, 반응기 내에서의 시편(substrate)의 위치, 단량체의 종류, 반응기 내부 압력(내부 유량), 방전 전력, 처리시간 뿐만 아니라 실험시의 외부 온도, 습도 등 상당히 많은 조건들이 변수로 작용한다. 단량체의 단위 분자가 플라즈마 반응상태에서 받게 되는 에너지의 양 W/FM이 증가하면 이들 단위 분자에서의 화학결합의 분리 정도가 커지고 이에 의해 중합체 형성 과정에서 단위 단량체 분자간 공유 결합의 가교 정도가 증대되어 생성 중합체의 화학적 구조가 치밀하게 형성된다. 따라서 플라즈마 중합에 의해 고분자 평면을 평면 개질할 경우, 가교를 통한 치밀한 구조가 만들어지기 위해서는 대체적으로 완만한 중합 반응 속도가 요구되는데 일반적으로 박막 성장 속도는 전력이 공급되는 쪽인 열 전극에서 훨씬 빠르다. 하지만 이 실험에서는 플라즈마 표면처리와 중합의 동일한 조건을 위해서 시편은 열 전극 쪽에 위치시켜 의료용 실리콘 고무의 기능을 부여하는데 있어서 치밀한 박막보다는 친수성기로 전환시키면서 동시에 외부 오염을 줄이고자 하였다.

소수성 표면은 피브리노겐, 피브로넥틴, 비트로넥틴 등의 접착성 단백질을 흡착하기 쉽기 때문에 역으로 혈소판 점착·응집을 강력하게 일으킨다. 이것들은 공통되는 접착성 아미노산배열(Arg-Gly-Asp)을 보유하고 있고, 이 접착부위는 혈소판막 리셉터(Gp IIb-IIIa)의 리간드가 되어, 접착 및 그것에 이어지는 혈소판 활성화를 촉진한다. 또한, 백혈구도 이들 접착성 단백질로 접착이 촉진되므로, 접착성 단백질의 재료표면으로의 흡착은 억제하지 않으면 안된다. 강력한 생체방위기구를 피하여 비용고성을 획득하는 것은 매우 곤란하지만, 혈관벽의 비용고성의 생화학적·생물학적·물리화학적 성질과 기능을 인공적으로 모방한 것이라고 할 수 있다. 즉, 1) 다상계 고분자표면은 혈관내벽이 불균질한 화학구조로 형성되어 있는데 대응하고 있고, 2) 수용성 고분자의 그래프트에 의한 용해쇄 표면은 히드로겔 구조를 모방하고, 3) 생리활성물질의 서방시스템은 혈관벽의 항상성이 강력한 항응고 및 선용효과를 갖는 생리활성물질이 분비됨으로써 유

지되고 있으므로, 이것과 동일한 약리작용을 갖는 생리활성물질을 매립 또는 표면 고정화함으로써, 약리물질의 분비효과를 겨냥한 것이다. 4) 내피세포 자체를 인공표면에 배양하여 이식하는 방법은 1)~3)의 기능에 더하여, 신진대사기능을 부여한 것이라고 할 수 있다.

이들 어프로치 중에서 합성고분자만으로 항응고성을 얻는 것은 1)과 2)이다. 모두 혈액과의 상호작용을 최대한 약하게 하는, 말하자면 수동적인 항혈전성 분자설계법인데, 단백질과의 상호작용에 관해서는 상반된 효과를 갖고 있다. 본 연구에서는 1) 혈소판과 강한 상호작용을 일으키지 않는 단백질을 흡착시킴으로써, 불활성 표면을 만드는 것, 2) 단백질을 흡착시키지 않음으로써, 혈전형성을 미리 저지하는 것 등을 활용한 연구이다.

3.2 혈액적합성 평가

1) Imai-Nose method

Glass에서 응고된 혈전의 양을 100%로 하고 각각의 시편에 형성된 혈전의 양을 무게 비로 나타낸 측정결과는 Fig. 2에 나타내었다. Group B와 C는 PP 중공사막에 실리콘을 적층한 복합막으로 PP 중공사막의 경우 74%이었으며, Group B는 62%, Group C는 58%이었다. 실리콘을 코팅한 Group B와 Group C가 PP 중공사막인 Group A보다 혈전 형성의 양이 적어 혈액적합성이 우수하였다.

2) Lee-White method

각 시료 고분자 재료의 응고시간은 Fig. 3에 나타내었다. 시료를 부착하지 않은 시험관에서는 9분이 지난 후 혈액이 모두 응고하여 흐름성이 없었다. PP 중공사막에서는 23분, Group B는 28분, Group C는 35분이 경과 후 혈액의 흐름성이 없었다. Lee-White method에 의한 실험결과도 혈액응고방지제인 ACD용액을 주입한 Imai-Nose method의 실험 결과와 동일한 결과를 얻었다. 따라서 PP 중공사막에 실리콘 코팅한 중공사막이 PP막보다 혈액이 응고되는 시간이 1.5배 가량 길어 혈액적합

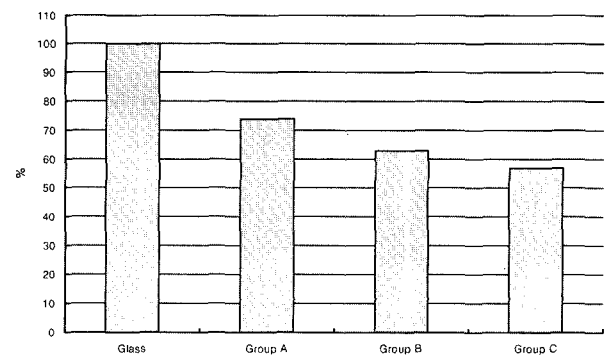


Fig. 2. Thrombus formation on Glass, Group A, Group B and Group C for 20 min incubation measured by the Imai-Nose method.

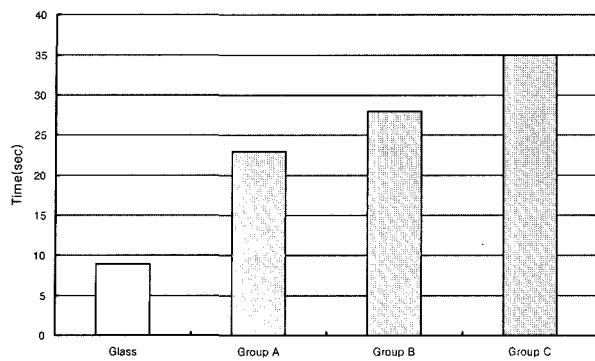


Fig. 3. Whole blood clotting time on Glass, Group A, Group B and Group C measured by Lee-White method.

성이 우수하였다.

3) 칼슘 재침가 응고시간 실험법

혈액을 원심 분리하여 얻은 혈장단백질을 인공계면과 접촉시키고 칼슘용액을 첨가하여 fibrin이 형성될 때까지의 시간을 측정된 결과를 Table 2에 나타내었다. 응고시간은 Group C > Group B > Group A > Glass 이었다. 혈액 응고 방지제인 ACD용액은 Ca⁺⁺을 잡아주는 역할을 하므로 혈액에 첨가하여 혈액의 응고를 방지하는 역할을 한다. 그러나 항응고제를 첨가한 혈액을 원심 분리하여 얻은 혈장 단백질이 다시 칼슘을 가하면 단백질의 응고반응이 진행되어 피브린(fibrin)이 생성된다. 따라서 칼슘을 재 첨가한 직후부터 피브린 네트워크(fibrin network)가 석출될 때까지의 시간을 칼슘 재침가 응고시간이라 하고 이 시간이 길면 항응혈성이 양호함을 나타낸다. 따라서 혈액적합성이 우수한 순서는 Group C > Group B > Group A > 유리이다.

4) 내인계 응고인자의 활성화도

활성 트롬보 플라스틴 시간(APTT)을 측정한 결과는 Table 3에 나타내었다. APTT가 지연되는 순서는 Group C > Group B > Group A > 유리였다.

혈액응고 반응 과정은 많은 응고인자(coagulation factor)가 관여하고 있고, 또한 그 작용도 매우 복잡하다. 혈액 응고 메커니즘은 일반적으로 크게 3단계로 첫 번째는 프로트롬빈(prothrombin)을 트롬빈(thrombin)으로 전환시키는 활성화단계이고, 두 번째는 피브리노겐(fibrinogen)을 피브린(fibrin)으로 전환시키는 응고단계, 그리고 세 번째 단계는 형성된 피브린의 고형화단계로 구분된다. 그리고 첫 번째 단계인 활성화 단계에 작용하는 것이 트롬보 플라스틴(thromboplastin)이다. 트롬보 플라스틴은 여러 응고인자들의 활성화에 관여하고 활성화된 응고인자는 Ca⁺⁺과 혈소판, 인지질의 존재 하에서 프로트롬빈을 트롬빈으로 전환시킨다. 활성 트롬보 플라스틴 시간(APTT)은 내인계 혈액응고 기구에 속하는 내인성 프로트롬빈 활성화 인자의 활성화 정도를 측정하는 것으로 내인계 혈액응고

Table 2. Plasma recalcification time(PRT) of glass, Group A, Group B, and Group C.

Treatment code	Time(sec)
Glass	300 ± 20
A	580 ± 32
B	640 ± 21
C	680 ± 20

Table 3. Activated partial thromboplastin time(APTT) of Group A, Group B, and Group C

Sample	Time(sec)
Glass	28 ± 4
A	33 ± 2
B	37 ± 1
C	41 ± 3

기구에 속하는 8, 9, 11, 12 인자 등의 내인성 프로트롬빈 활성화 인자의 활성화 정도를 측정하는 것이다. APTT 시약은 구성하는 주성분을 인지질로 하고 활성화제로서 에라틴산을 가한 것으로, 이 에라틴산이 8, 9, 11, 12 인자를 활성화시키는 역할을 한다. APTT가 길면 항응혈성이 좋음을 나타낸다. 따라서 혈액적합성이 우수한 순서는 Group C > Group B > Group A > 유리였다.

5) 항응고제 처리하지 않은 혈액 침적 시험

Fig. 4는 항응고제를 처리하지 않은 상태에서 각 시료를 혈액에 침지한 후에 각 시간대별로 광학현미경으로 관찰한 것이다. 플라즈마 처리한 treatment code B와 C에서도 짧은 기간에 있어서 기존의 PP 중공사 막보다도 훨씬 적은 혈액 응고를 확인할 수 있었으며 code C의 혈액 응고가 더 작게 나타났다. 추가적으로 장기적인 관찰이 필요하긴 하지만 단 기간 내에 있어서는 플라즈마 처리한 재료의 혈액적합성은 처리하지 않은 시편에 비하여 크게 향상되었음을 알 수 있었다.

6) 항응고제 처리한 혈액 침적 시험

Fig. 5는 항응고제로 처리한 PP막의 표면을 주사전자 현미경으로 혈액세포의 부착 여부를 확인한 것이다. 그림에서 확인할 수 있듯이 플라즈마 처리한 재료의 혈액 세포 부착이 표면처리하지 않은 PP막에 비해서 세포가 적게 부착되어 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 항응고제를 사용하지 않은 혈액에 침적한 시험 결과와 동일한 경향을 보여준 것이다.

혈액성분들의 흡착은 피흡착체의 표면에너지가 Baier's window로 알려진 20~30 mJ/m² 내에 있을 때 가장 약한 접착력을 가지며 접착력이 약하면 흡착된 단백질들이 변성되기 전에 새로운 단백질들로 교체됨으로써 platelet의 성장이 둔화된다고 알려져 있다. 이 때문에 비교적 낮은 표면 에너지를 가지고 있는 organo silicon과 fluorocarbon

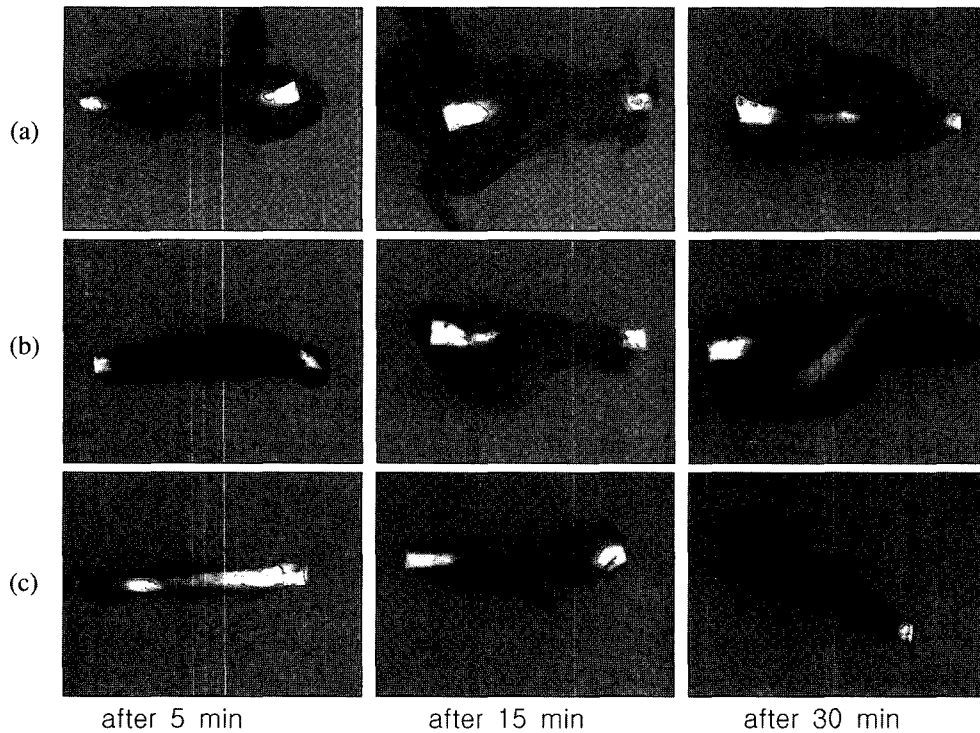


Fig. 4. The optical microscope pictures of the total treatment code without anticoagulation agent treatment. (a) treatment code A, (b) treatment code B, (c) treatment code C.

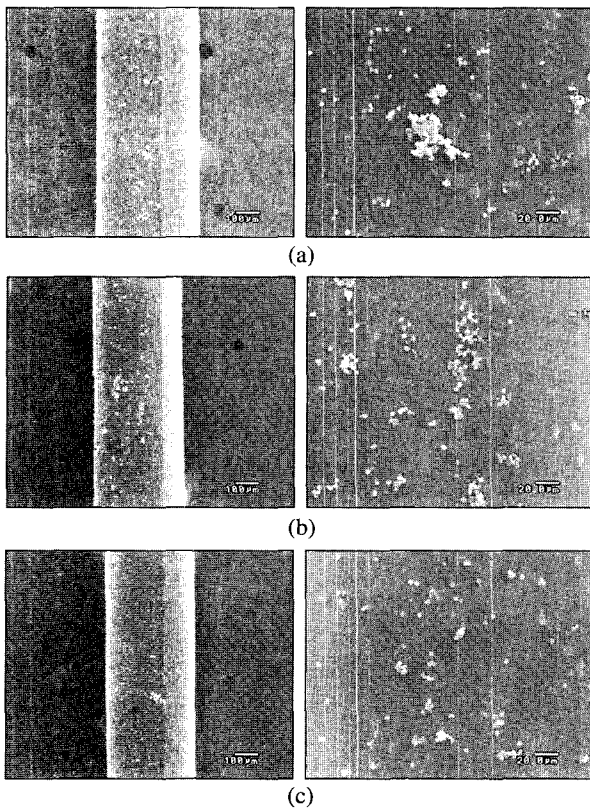


Fig. 5. Scanning electron microscopic observation of the total treatment code with anticoagulation agent treatment. (a) treatment code A, (b) treatment code B, (c) treatment code C.

플라즈마 고분자들이 주로 생체 적합성 박막으로서 현재 연구되고 있다.

4. 결 론

본 연구에서 인공장기에 활용가능한 중공사 막의 혈액 적합성을 향상시키기 위하여 플라즈마중합에 의한 재료 표면의 개질을 통한 재료 표면의 특성평가 결과로 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 플라즈마 중합 처리한 중공사막은 처리조건 B에서 일부 미세한 기공이 폐쇄되었으나 처리조건 C에서는 기공이 조대화 되었다.

2. 전혈응고 관찰에서 응고된 혈전의 양은 PP 중공사막의 경우 Glass에 비하여 74%, Group B는 62%, Group C는 58%를 나타냈으며, 혈액 흐름의 중단은 시료를 부착하지 않은 시험관이 9분, PP 중공사막은 23분, Group B는 28분, Group C는 35분이 걸려 두 가지 시험에서 플라즈마 중합처리한 중공사막이 혈액적합성이 양호하게 나타났다.

3. 혈장 단백질과의 상호작용 조사에서 응고 시간은 Group C > Group B > Group A > Glass 순으로 혈액적합성이 우수한 순서는 Group C > Group B > Group A > Glass이었다.

4. 내인계 응고인자의 활성화정도 조사에서 APTT가 지

연되는 순서는 Group C > Group B > Group A > Glass 순서로, 혈액적합성이 우수한 순서는 Group C > Group B > Group A > Glass 이었다.

5. 혈액에 침적 시험한 결과 플라즈마 중합처리한 중공사막이 표면처리하지 않은 중공사막에 비하여 양호한 혈액적합성이 관찰되었다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 의료공학융합기술개발사업(02-PJ3-PG3-31401-0009)지원으로 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. B. G. Hattler, P. C. Jhonson,, P. J. Sawzik, F. D. Saffer, M. Klain, L. W. Lund, G. D. Reeder, F. R. Walters, J. S. Goode and H. S. Borovetz, *ASAIO J.*, **38**, M322 (1992).
2. B. G. Garber, *Critical Care Medicine*, **24**(4), 687 (1996).
3. S. A. Conrad, J. M. Eggerstedt, V. F. Morris and M. D. Romero, *Chest*, **107**(6), 1689 (1995).
4. T. P. Hooker, P. Thomas, M. D. Hammond and S. Allen, *J. Am. Osteopathic Assoc.*, **92**(7), 886 (1992).
5. H. J. Eash, H. M. Jones, B. G. Hattler and W. J. Federspiel, *ASAIO J.*, **50**, 491 (2004).
6. A. K. Zimmermann, H. Aebert, M. Freitag, M. Hussein, G. Ziemer and H. P. Wendel, *ASAIO J.*, **50**, 193 (2004).
7. D. Wang, S. K. Alpard, C. Savage, H. N. Yamani, D. J. Deyo, S. Nemser and J. B. Zwischenberger, *ASAIO J.*, **49**, 673 (2003).
8. J. D. Mortensen, *Trans. Am. Soc. Artif. Int. Org.*, **33**, 570 (1987).
9. J. Bagley, A. Bagley, J. Henrie, C. Froerer, J. Brohamer, J. Burkart and J. D. Mortensen, *ASAIO Transactions*, **37**, M413 (1991).
10. J. D. Mortensen, *U. S. Patent*, **4**, 583, 969, April (1986).
11. B. G. Hattler, G. D. Reeder, P. J. Sawzik, L. W. Lund, F. R. Walters, A. S. Shah, J. Rawleigh, J. S. Goode, M. Klain and H. Borovetz, *Artif. Organs*, **18**(11), 806 (1994).
12. Y. Imai, Y. Nose, *J. Biomed. Mater. Res.*, **6**, 165 (1972).
13. R. I Lee and P. D. White, *J. Am. Med. Sci.*, **145**, 495 (1913).
14. D. K. Han, S. Y. Jeong, Y. H. Kim, B. G. Min and H. I. Cho, *J. Biomed. Mater. Res.*, **25**, 561 (1991).
15. Y. Ito and Y. Imanishi, *CRC Critical Reviews in Biocompatibility*, **5**, 45 (1989).
16. Y. Ito, K. Iwata, I. K. Hang, M. Sisido and Y. Imanishi, *Int. T. Biol. Macromol.*, **10**, 169 (1988).