

돼지 대동맥 판막과 폐동맥 판막의 고정 방법에 따른 양방향 압력-신장도의 비교분석

조성규* · 김용진* · 김수환** · 최승화**

Biaxial Strain Analysis of Various Fixation Models in Porcine Aortic and Pulmonary Valves

Sungkyu Cho, M.D.*, Yong-Jin Kim, M.D.*, Soo Hwan Kim, B.S.**, Seung Hwa Choi, B.S.**

Background: The function of a bioprosthetic heart valve is determined largely by the material properties of the valve cusps. The uniaxial tensile test has been studied extensively. This type of testing, however, does not replicate the natural biaxial loading condition. The objective of the present study was to investigate the regional variability of the biaxial strain versus pressure relationship based on the types of fixation liquid models. **Material and Method:** Porcine aortic valves and pulmonary valves were assigned to three groups: the untreated fresh group, the fixed with glutaraldehyde (GA) group, and the glutaraldehyde with solvent (e.g., ethanol) group. For each group we measured the radial and circumferential stretch characteristics of the valve as a function of pressure change. **Result:** Radial direction elasticity of porcine aortic and pulmonary valves were better than circumferential direction elasticity in fresh, GA fixed, and GA+solvent fixed groups ($p=0.00$). Radial and circumferential direction elasticity of pulmonary valves were better than aortic valves in GA fixed and GA+solvent fixed groups ($p=0.00$). Radial and circumferential direction elasticity of aortic valves were decreased after GA and GA+solvent fixation ($p=0.00$), except for circumferential elasticity of GA+solvent fixed valves ($p=0.785$). The radial ($p=0.137$) and circumferential ($p=0.785$) direction of elasticity of aortic valves were not significantly different between GA fixed and GA+solvent fixed groups. Radial ($p=0.910$) and circumferential ($p=0.718$) direction of elasticity of pulmonary valve also showed no significant difference between GA fixed and GA+solvent fixed groups. **Conclusion:** When fixing porcine valves with GA, adding a solvent does not cause a loss of mechanical properties, but, does not improve elasticity either. Radial direction elasticity of porcine aortic and pulmonary valves was better than circumferential direction elasticity.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2009;42:566-575)

Key words: 1. Xenograft
2. Glutaraldehyde
3. Heart valve prosthesis

서 론

심장 수술의 발전과 함께 선천성 복잡 심장 기형, 심장

판막 질환 및 대소 혈관 질환 등을 교정하기 위해 자기 조직이 아닌 다른 인공 보철편의 필요가 늘어나 다양한 대체재가 연구 개발, 이용되고 있으며, 특히 이종 장기로부

*서울대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Seoul National University Hospital, Seoul National University College of Medicine

** 서울대학교병원 임상의학 연구소, 바이오 이종장기개발사업단

Seoul National University Hospital Clinical Research Institute, Xenotransplantation Research Center

†본 연구는 보건복지가족부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(과제고유번호 A04004-008).

논문접수일 : 2009년 4월 13일, 논문수정일 : 2009년 5월 24일, 심사통과일 : 2009년 6월 4일

책임저자 : 김용진 (110-744) 서울시 종로구 연건동 28번지, 서울대학교병원 흉부외과

(Tel) 02-2072-3638, (Fax) 02-745-5209, E-mail: kyj@plaza.snu.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

터의 대체재는 오래 전부터 개발 사용 되고 있다[1,2]. 특히 근래 인간의 늘어나는 수명연장으로 인한 노인성 심장 질환인 퇴행성 판막질환의 증가에 따른 수요의 증가와 이종보철판막의 기능개선의 시도로서 임상에서 흔히 쓰이고 있는 이종돼지조직판막에 대하여, 향후 더 나은 돼지 생체조직판막의 개발을 위하여, 대동맥, 폐동맥 판막의 성질에 대한 더 많은 이해와 정확한 평가가 필요하며, 심장 판막 조직의 물리적 성질에 대한 이해와 이상적인 판막의 개발단계의 평가로서, 단 방향 장력 검사 및 양방향성 장력검사가 많이 시행되고 있다[1-7]. 단 방향 장력검사는 시행하기에는 용이하나, 생체 내에서와 같이 양측 방향으로 압력이 가해지는 환경에 대한 물리적 변화를 반영하지는 못한다. Mayne 등에 의해 이전에 시행된 양방향성 장력검사는[8], 대동맥 도관에서 판엽을 절제하여 검사한 것으로 정상적으로 굴곡지어 있는 판엽을 평평하게 펴서 검사를 하였기 때문에 구조적 모양 변화에 따른 결점과, 판막의 긴장도를 변형시킬 수 있다.

돼지의 대동맥판막과 폐동맥 판막은 구조적 형태는 유사하나, 판엽(leaflet)의 두께나, 콜라겐(collagen)함유 면에서 차이가 있다. 태아 시에는 가해진 압력이 같아 출생 시에 구조적으로 비슷하다고 가정할 수도 있으나, 이후 대동맥 판막은 지속적으로 80 mmHg의 압력을 받고, 폐동맥 판막은 5~10 mmHg의 압력을 받는다. 성장하면서 폐동맥 판막의 두께나, collagen은 상대적으로 적게 되며, 이것은 육안적 소견으로나, 손으로 만져보았을 때도 명백히 알 수 있다.

생체조직의 글루타알데하이드(GA) 고정은 조직의 콜라겐을 교차 결합(cross-linking) 하게 하여 조직을 견고하게 하나, 석회화를 일으키는 원인이 되어 현재 에탄올(ethanol)과 같은 용매(solvent)를 첨가하여 사용하거나, 그 독성을 제거하고자 항 석회화 방법으로 여러 가지 아미노산들을 결합시키거나, 세정제 첨가, 무 세포화, 그 외 GA의 저-고농도, 고온 처리법 등의 방법을 이용하여 처리하기도 한다.

본 연구에서 돼지의 대동맥 판막과 폐동맥 판막을 판막에 따라 임상적 사용 전 아무 처치도 하지 않은 신선한(Fresh) 그룹, 글루타알데하이드(GA)로 고정한 그룹, GA에 에탄올, 옥탄올(octanol) 등과 같은 용매를 첨가하여 고정한 그룹으로 나누어 실제 생체 내에서와 같이 삼차원적 구조를 유지할 수 있게 고안된 시스템으로 수압을 이용하여 양방향 장력검사를 시행, 압력에 변화에 따른 물리적 성질 변화를 알아 보고자 하였다.

대상 및 방법

1) 돼지 판막의 채취

도살장에서 수의사의 협조 하에 건강한 도살된 돼지에서 심장을 적출하고, 생리식염수로 여러 차례 세척한 다음, 복합항균제(1 cc/L, antibiotic & antimycotic solution, Sigma)를 섞은 차가운 인산 염 완충 용액(phosphate buffered solution (PBS, 0.1 M, pH 7.4)에 세척, 보관하여, 아이스 박스에 담아 실험실로 운반하여, 냉장 상태에서 대동맥 판막, 폐동맥 판막을 분리 적출하여 실험에 사용할 수 있도록 보관 운반한다.

2) 돼지 판막의 고정

도살장에서 냉장 상태(4°C)로 실험실로 운반한 돼지의 대동맥 판막, 폐동맥 판막을 도살 후 최소 12시간 내에 즉시 고정한다. GA로 고정한 그룹은 0.5~0.625% 혹은 1.5%, 2%, 3%의 완충 GA (buffered glutaraldehyde)에 담가 4°C에서 2~3일 고정 후 상온에서 0.3~0.25%의 완충 GA에서 7일 간 고정하였다. GA의 고정과 함께 항 석회화를 위한 용매를 이용한 그룹은 0.25~0.3%, 0.5~0.625% 혹은 1.5%, 2%, 3% GA 고정 전과 고정 후의 방법으로 처리하였다. 처음부터 80% 에탄올이나 75% 에탄올+5% 옥탄올 혹은 75% 에탄올+5% 옥타네디올(octanediol)을 GA 고정 시 같이 섞어 4°C에서 고정 후 상온에서 0.25~0.3% GA에 12일간 상온에서 고정하거나, 상온에서 0.5~0.625% GA에 5일 동안 고정 후 80% 에탄올 이나 75% 에탄올+5% 옥탄올 혹은 75% 에탄올+5% 옥타네디올(PBS buffer, Ph 7.4)이 담긴 진탕기(shaker bath)에 넣어 2~3일간 처리 후 다시 상온에서 0.25~0.3% GA에 담가 7일간 고정 하였다. 이때 돼지의 대동맥 판막과, 폐동맥 판막의 고정 시에는 자연적인 형태를 유지하기 위해 무-경 판막압력(zero pressure)고정 형성 틀에 넣고, 대동맥판막은 14 mmHg, 폐동맥판막은 7 mmHg의 부하 압력(distension pressure)을 가한 후 판막이 뒤로 탈출되지 않음을 확인 후 무-경 판막압력으로 고정하였다. 실험 판막 옆 중 천공이 있거나 망가진 것은 없었고, 이전 연구 결과 대동맥 판막의 관상동맥엽과 무 관상동맥엽 간에 특정한 차이는 없어 각각 따로 비교하지는 않았다[8].

3) 돼지 대동맥 판막, 폐동맥 판막의 양방향 압력-팽창성 검사

처리된 돼지 대동맥 판막과 돼지 폐동맥 판막의 심실

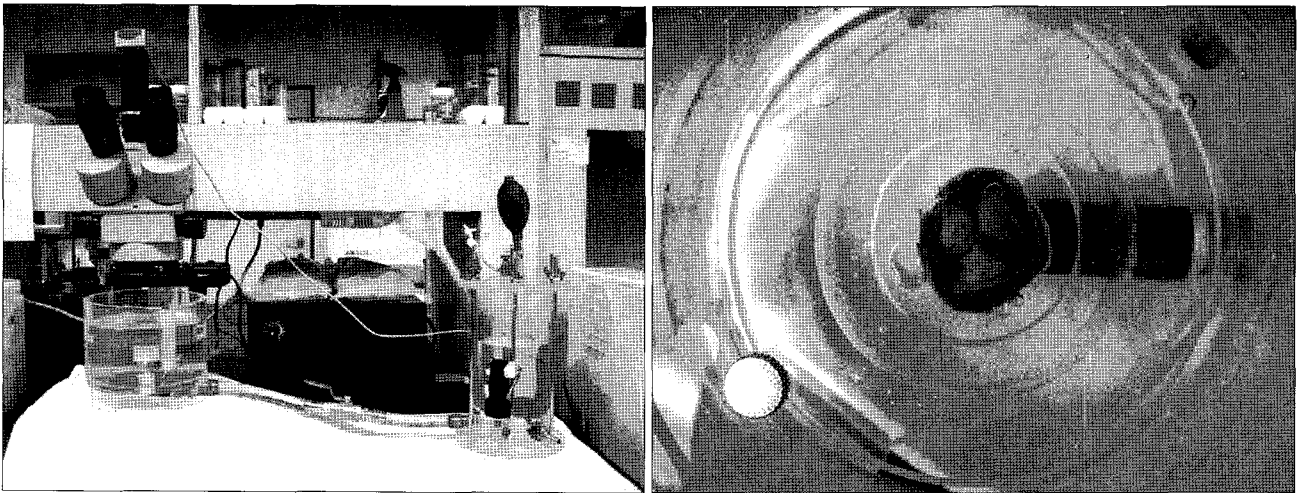


Fig. 1. System for axial strain test and dotted porcine valve.

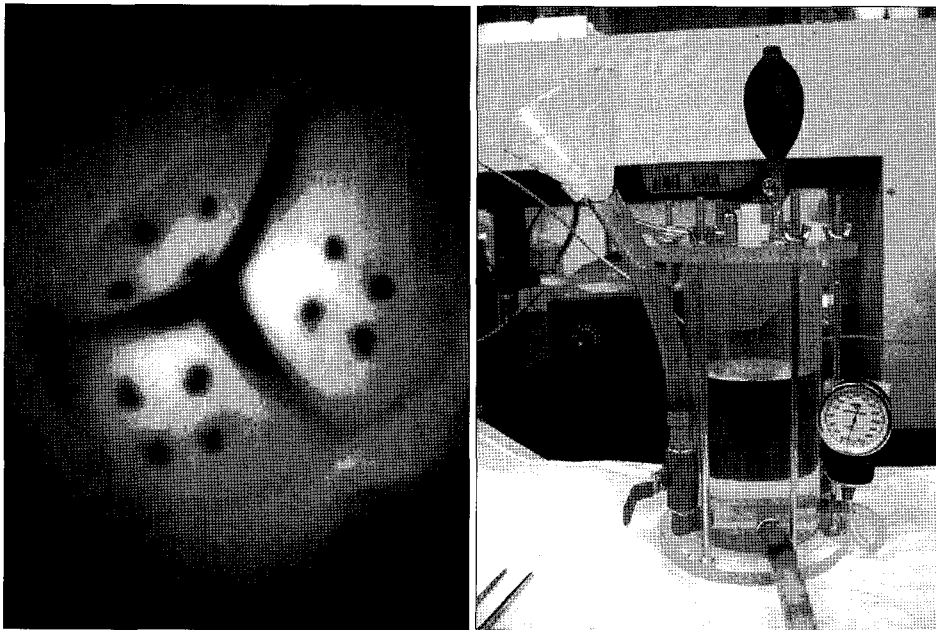


Fig. 2. Changing of paired dots distance by hydrostatic pressure and hydrostatic pressure transducer.

측면에 원주 방향과 방사 방향의 압력에 따른 길이 변화를 측정하기 위해 쌍으로 각각의 엽에 점을 찍어 표시하고, 수압을 측정할 수 있게 고안된 시스템에 넣어 0 mmHg에서 150 mmHg까지의 압력변화에 따른 길이 변화를 측정하여 변화된 길이의 변화를 %로 표시 평균값을 내고 압력에 따른 변화 양상을 그래프로 나타내었다(Fig. 1). 압력은 압력변환기를 이용하여 측정하고, 10 mmHg 증가 시마다 각 점간의 길이변화를 촬영하여 표시하였다(Fig. 2). 압력 변화에 따른 연속적인 변화 값들을 측정하여 각각의 값을 평균 내어 그래프로 나타내었으며, 80

mmHg와 150 mmHg에서의 각 군간의 값들을 통계 분석하여 비교 하였다.

4) 통계 방법

돼지의 압력변화에 따른 원주방향과 방사방향으로 쌍으로 표시한 점간의 길이를 % 평균±표준편차로 표시하였다. 각 군간의 통계적 차이는 paired T-test, ANOVA test로 검증하며, 각 군마다 압력에 따른 변화양상을 그래프로 표시하였다. $p < 0.05$ 를 의미 있는 것으로 간주한다.

Table 1. Fresh porcine aortic and pulmonary valve

| | Fresh aortic valve circumferential | Fresh aortic valve radial | Fresh pulmonary valve circumferential | Fresh pulmonary valve radial |
|----------------------|------------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|------------------------------|
| n | 35 | 35 | 26 | 26 |
| Pressure 80 mmHg (%) | 5.17±2.33/6.39±2.87 | 27.94±12.70/29.99±12.97 | 6.68±2.14/7.64±2.26 | 11.04±5.14/12.08±5.49 |
| 150 mmHg (%) | | | | |

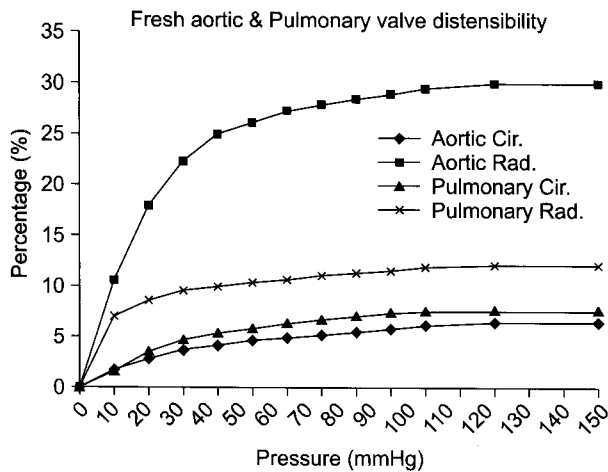


Fig. 3. Fresh porcine aortic & pulmonary valve distensibility. Cir=Circular direction; Rad=Radial direction.

결 과

1) 신선한 돼지 대동맥 판막, 폐동맥 판막 양방향 압력-팽창성 비교

신선한 돼지 대동맥 판막, 폐동맥 판막의 압력 80 mmHg와 150 mmHg에서의 늘어난 정도(%)값을 Table 1에 대표적으로 기술하였고, 0 mmHg에서 150 mmHg까지의 매 10 mmHg의 압력 변화에 따라 압력/긴장(pressure/strain)곡선을 Fig. 3에 나타내었다.

대동맥 판막에서 원주방향이 방사방향보다 압력 80 mmHg (5.17±2.33% vs 27.98±12.70%, p=.00), 150 mmHg (6.39±2.87% vs 29.99±12.97%, p=.00) 모두에서 적게 늘어났고 폐동맥 판막에서도 원주 방향이 방사방향보다 압력 80 mmHg (6.68±2.14% vs 11.06±5.14%, p=.00), 150 mmHg (7.64±2.26 vs 12.08±5.49, p=.00) 모두에서 적게 늘어났음을 알 수 있다. 압력 변화에 따라 측정된 압력/긴장 곡선에서 연속적으로 변화하는 양상을 볼 수 있다. 이전 연구들과 비교 해 볼 때, 같은 판막 내에서의 원주 방향과 방

사 방향 비교는 비슷하게 나왔으나[8,9], 대동맥 판막이 좀 더 견고하여 적게 늘어난다는 결과들과 비교했을 때 이번 실험에서는 폐동맥 판막 보다 대동맥 판막이 같은 압력에서 더 많이 늘어났다. 통상적으로 대동맥 판막이 폐동맥 판막보다 더 견고하다는 것은 잘 알려진 사실이나 이번 실험에서 이런 결과가 나타난 것은 인체와 비슷한 환경에서의 압력 변화를 측정하기 위해 도관 채로 틀에 고정하여 압력을 측정하는 과정에서 신선한 폐동맥의 경우 객관적인 수치로 측정하진 않았으나, 압력에 따른 판막 옆의 팽창 중 판막뿐 아니라 폐동맥 도관 자체도 같이 늘어나는 것을 볼 수 있었으며, 신선한 폐동맥 판막 옆에서는 방사방향(radial direction)으로 오히려 더 적게 늘어 나는 팽창-탄력성이 적은 결과가 나온 것으로 보인다.

2) 돼지 대동맥 판막, 폐동맥 판막 GA 고정 후 양방향 압력-팽창성 비교

GA 고정 후의 돼지 대동맥 판막, 폐동맥 판막의 압력 80 mmHg와 150 mmHg에서의 늘어난 정도(%)값을 Table 2에 대표적으로 기술하였고, 0 mmHg에서 150 mmHg까지의 매 10 mmHg의 압력 변화에 따라 압력/긴장(pressure/strain)곡선을 Fig. 4에 나타내었다.

대동맥 판막에서 원주방향이 방사방향보다 압력 80 mmHg (3.79±2.76% vs 7.56±3.40%, p=.00), 150 mmHg (4.78±3.14% vs 9.35±4.02%, p=.00) 모두에서 적게 늘어났고 폐동맥 판막에서도 원주 방향이 방사방향보다 압력 80 mmHg (11.99±7.82% vs 27.70±13.65%, p=.00), 150 mmHg (13.83±8.80 vs 32.88±16.33, p=.00) 모두에서 적게 늘어났음을 알 수 있다. 그리고 앞에서의 신선한 판막 실험과는 달리 이전 연구 결과와 비슷하게 GA 고정된 대동맥 판막이 폐동맥 판막보다 각각 원주 방향과(80 mmHg: 3.79±2.76 vs 11.99±7.82, p=.00; 150 mmHg: 4.78±3.14 vs 13.83±8.80, p=.00) 방사방향(80 mmHg: 7.56±3.40 vs 27.70±13.65, p=.00; 150 mmHg: 9.35±4.02 vs 32.88±16.33, p=.00) 비교했을 때 폐동맥 판막이 같은 압력에 대해 더 많이 늘어났

Table 2. GA fixed porcine aortic valve and pulmonary valve

| | GA fixed aortic valve circumferential | GA fixed aortic valve radial | GA fixed pulmonary valve circumferential | GA fixed pulmonary valve radial |
|---------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|--|---------------------------------|
| n | 21 | 21 | 21 | 21 |
| Pressure 80 mmHg (%) / 150 mmHg | 3.79±2.76/4.78±3.14 | 7.56±3.40/9.35±4.02 | 11.99±7.82/13.83±8.80 | 27.70±13.65/32.88±16.33 |

GA=Glutaraldehyde.

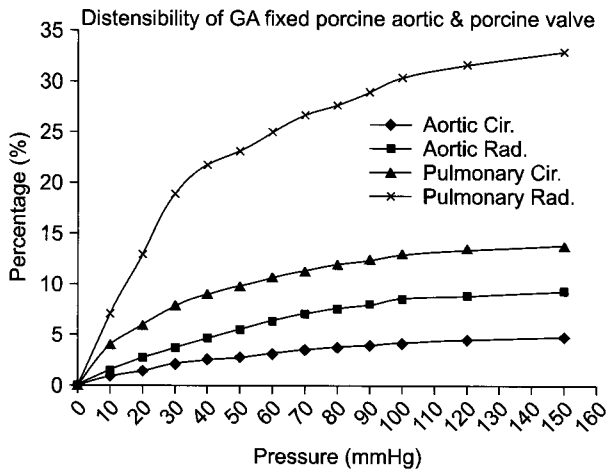


Fig. 4. GA fixed porcine aortic valve and pulmonary valve distensibility. Cir=Circular direction; Rad=Radial direction.

다[8,9]. 압력 변화에 따라 측정된 Fig. 4의 압력/긴장 곡선에서도 이와 비슷하게 연속적으로 변화하는 양상을 볼 수 있고, 압력 변화 시 늘어나는 곡선의 경사도가 대동맥 판막에서 좀 더 완만한 것으로 보아 대동맥 판막 조직이 더 유연하지 않음을 알 수 있다.

3) 돼지 대동맥 판막, 폐동맥 판막 GA+용매 고정 후 양방향 압력-팽창성 비교

GA+용매 고정 후의 돼지 대동맥 판막, 폐동맥 판막의 압력 80 mmHg와 150 mmHg에서의 늘어난 정도(%)값을 Table 3에 대표적으로 기술하였고, 0 mmHg에서 150 mmHg까지의 매 10 mmHg의 압력 변화에 따라 압력/긴장(pre-pressure/strain)곡선을 Fig. 5에 나타내었다.

대동맥 판막에서 원주방향이 방사방향보다 압력 80 mmHg (4.91±5.18% vs 9.14±4.14%, p=.00), 150 mmHg (6.21±6.39% vs 11.70±4.90%, p=.00) 모두에서 적게 늘어났고 폐동맥 판막에서도 원주 방향이 방사방향보다 압력 80 mmHg (12.88±9.68% vs 27.26±14.84%, p=.00), 150 mmHg

(14.81±11.06 vs 31.26±16.05, p=.00) 모두에서 적게 늘어났음을 알 수 있다. GA+용매 고정 시에도 대동맥 판막과 폐동맥 판막 각각 원주 방향과(4.91±5.18 vs 12.88±9.68, p=.00; 150 mmHg: 6.21±6.39 vs 14.81±11.06, p=.00) 방사방향(80 mmHg: 9.14±4.14 vs 27.26±14.84, p=.00; 150 mmHg: 11.70±4.90 vs 31.26±16.05, p=.00)을 비교했을 때 폐동맥 판막이 같은 압력에 대해 더 많이 늘어났다. 압력 변화에 따라 측정된 Fig. 5의 압력/긴장 곡선에서도 이와 비슷하게 연속적으로 변화하는 양상을 볼 수 있고, 곡선의 경사도가 대동맥 판막에서 좀 더 완만한 것으로 보아 대동맥 판막 조직이 더 유연하지 않음을 알 수 있다.

4) 돼지 대동맥 판막의 고정 방법에 따른 양방향 압력-팽창성 비교

신선한 돼지 대동맥 판막의 고정 방법에 따른 원주 방향 방사 방향의 압력-팽창 곡선을 Fig. 6에 나타내었다. 그리고 압력 80 mmHg, 150 mmHg에서의 값은 Table 1~3에 있으므로 따로 기술하지 않았다. 돼지의 신선한 대동맥 판막을 GA 고정 후에 원주 방향(p=0.049)과 방사 방향(p=.000)에서 모두 신장도가 유의하게 감소하였다. GA+용매 고정 시에 방사 방향에서는 신장도가 유의하게 감소(p=.000) 하였으나, 원주 방향에서는 그렇지 않았다(p=0.785). 그리고 GA 고정 그룹과 GA+용매 그룹간의 비교에서 원주 방향 신장도(p=0.357)와 방사방향 신장도(p=0.137)가 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

5) 돼지 폐동맥 판막의 고정 방법에 따른 양방향 압력-팽창성 비교

신선한 돼지 폐동맥 판막의 고정 방법에 따른 원주 방향 방사 방향의 압력-팽창 곡선을 Fig. 7에 나타내었다. 그리고 압력 80 mmHg, 150 mmHg에서의 값은 Table 1~3에 있으므로 따로 기술하지 않았다. 돼지의 신선한 폐동맥 판막을 GA 고정 후에 원주 방향(p=0.002)과 방사 방향(p=.000)에서 모두 신장도가 유의하게 증가 하였으나 앞에서

Table 3. GA+solvent fixed aortic valve and pulmonary valve

| | GA+solvent fixed aortic valve circumferential | GA+solvent fixed aortic valve radial | GA+solvent fixed pulmonary valve circumferential | GA+solvent fixed pulmonary valve radial |
|-----------------------------------|---|--------------------------------------|--|---|
| n | 42 | 42 | 42 | 42 |
| Pressure 80 mmHg/ 150 mmHg (%) | 4.91±5.18/6.21±6.39 | 9.14±4.14/11.70±4.90 | 12.88±9.68/14.81±11.06 | 27.26±14.84/31.26±16.05 |

GA=Glutaraldehyde.

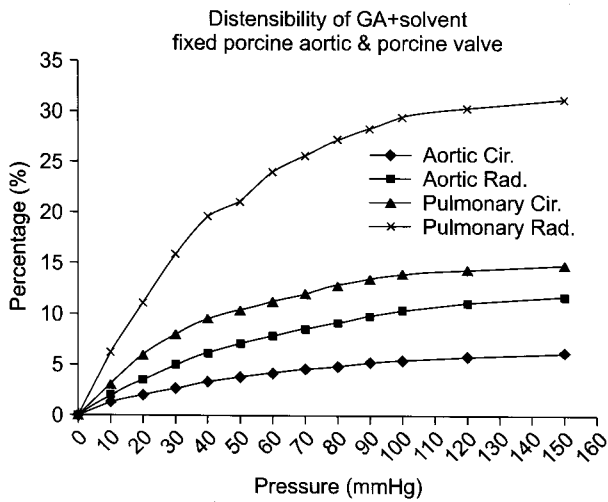


Fig. 5. GA+solvent fixed aortic valve and pulmonary valve distensibility. Cir=Circular direction; Rad=Radial direction.

설명한 이유로 객관적인 결과라고는 할 수 없겠으며 오히려 폐동맥 도관 조직의 고정으로 고정된 그룹에서 판막의 압력에 따른 신장도 변화 실험이 제대로 이루어졌다고 할 수 있겠다. GA+용매 고정 시에도 같은 이유로 원주 방향(p=.002)과 방사 방향(p=.000)에서는 신장도가 유의하게 증가(p=.000)하였다. GA 고정 그룹과 GA+용매 그룹간 비교에서는 원주 방향 신장도(p=0.718)와 방사방향 신장도(p=0.910)가 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

종합하여 기술하면 신선한, GA 고정 후의, 그리고 GA+용매 고정 후의 대동맥 판막, 폐동맥 판막 모두에서 원주 방향이 방사방향보다 압력 증가에 따라 적게 늘어났다.

GA 고정 후와 GA+용매 고정후의 대동맥 판막이 폐동맥 판막보다 각각 원주 방향과, 방사방향 비교했을 때 폐동맥 판막이 같은 압력에 대해 더 많이 늘어났다.

돼지의 신선한 대동맥 판막을 GA 고정 후에 원주 방향과 방사 방향에서 모두 신장도가 유의하게 감소하였다. GA+용매 고정 시에 방사 방향에서는 신장도가 유의하게

감소 하였으나, 원주 방향에서는 그렇지 않았다. 그리고 GA 고정 그룹과 GA+용매 그룹간의 비교에서 원주 방향 방사방향 신장도가 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 폐동맥 판막에서도 GA 고정 그룹과 GA+용매 그룹간의 비교에서 원주 방향 방사방향 신장도가 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

그리고 Fig. 6, 7을 보면 돼지의 대동맥 판막은 20~30 mmHg 정도에서 그래프의 경사도가 감소하며 80~90%가 늘어나있는 상태이고, 신선한 판막을 제외한 폐동맥 판막은 10~20 mmHg 정도에서 경사도가 감소하며 80~90%가 늘어나있는 상태로 압력 변화에 따라 판막 별로 신장되는 경향에 차이가 있음을 보여준다. 이것은 폐동맥 판막이 대동맥 판막보다 콜라겐 섬유 분포가 적어 차이가 생기는 것으로 생각된다[9]. 그러나 각 판막과 방사 방향 원주 방향 군 별로 GA 고정군과 GA+용매 고정군 간에 앞에서 기술한 압력 별로 통계적으로 유의하게 차이가 없었던 것과 같이 경사도 변화에도 차이는 없는 것으로 보인다.

고 찰

판막의 양방향성 신장 성을 알아보기 위한 특히 인체와 같은 물리적 환경에서의 실험을 위한 실험 기법은 여러 가지가 있으며 중요한 요소들이 있다. 판막을 잘라 평평하게 펴서 양방향으로 당기면서 실험을 할 수도 있고[9], 대동맥 판막의 경우 관상동맥엽과 무관상동맥엽을 비교[10]할 수도 있으며, 압력을 주어 한번 팽창 시킨 뒤 다시 여러 번 측정하는 방법 등이 소개 되었다. 이번 연구에서는 직접 제작한 시스템으로 동맥 도관을 압력을 줄 수 있는 원기 등에 끼워 압력의 변화를 주어 세 판막의 길이 변화를 측정 군을 내어 양방향 팽창실험을 하였다. 판막의 GA 고정 시 판막이 접히거나 외부의 힘을 받아서는 안되며, 압력 0 mmHg에서 고정이 되어야 한다. 조직의 고정 시 통상적으

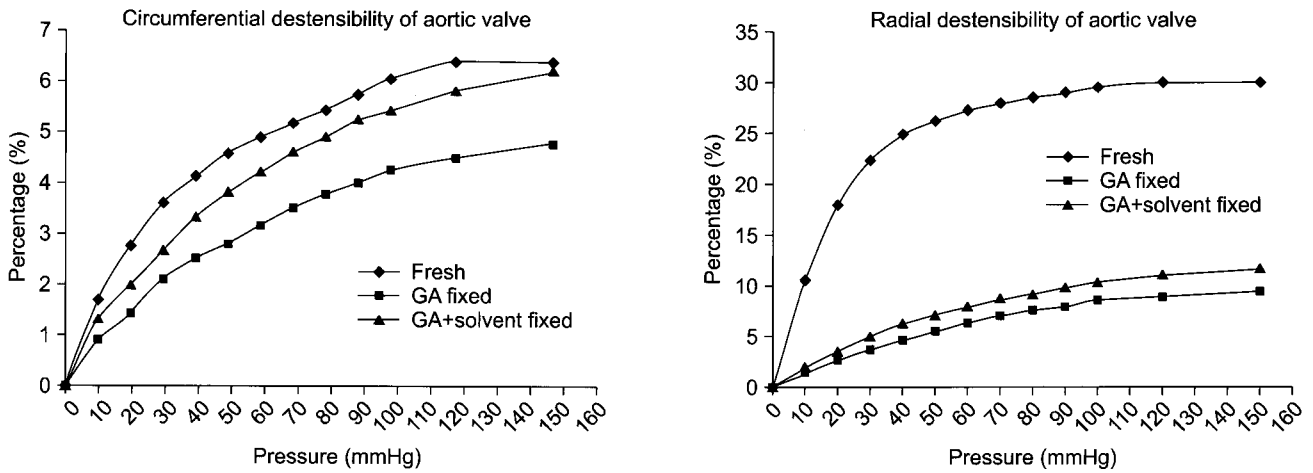


Fig. 6. Radial and circumferential distensibility of porcine aortic valve.

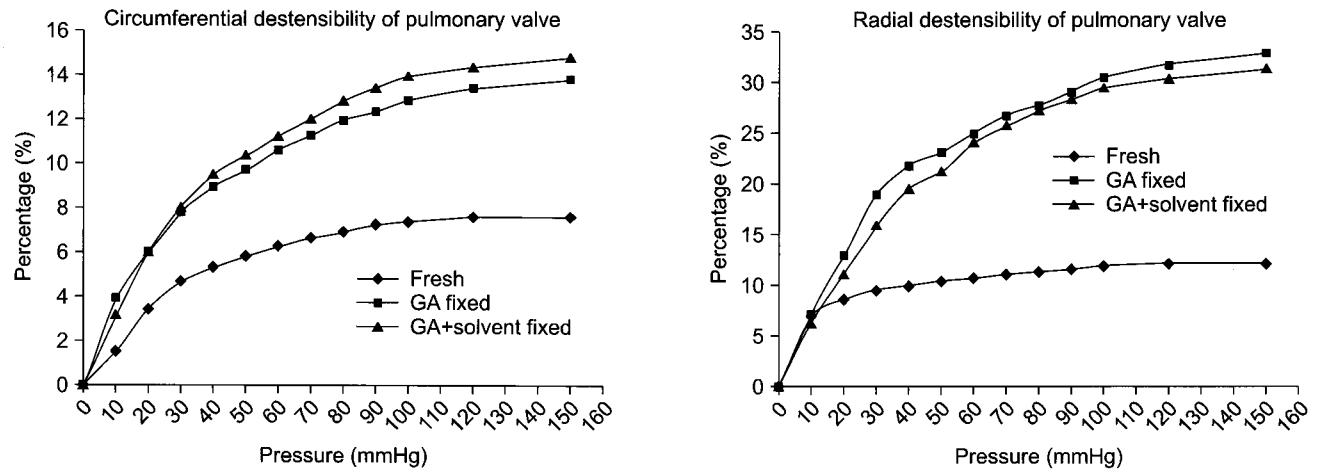


Fig. 7. Radial and circumferential distensibility of porcine pulmonary valve.

로 pH, 온도, 고정액의 농도가 높을수록 더 단단하게 고정되는 경향이 있는 것으로 알려져 있다[5]. GA 고정은 이종 보철편의 면역성을 감소시키고, 효소 성분해에 저항성을 증진시킨다[11]. 또한 조직의 교원 섬유들이 GA와 안정된 교차 결합을 이루며 GA 중합체(polymer)를 표면에 형성하게 한다. GA만으로 고정 시 크게 두 가지 문제점이 제기되고 있는데, 조직의 경직으로 이중판막의 경우 여단이 시에 죄어짐(buckling)이 발생하여 구조적 분해를 조장하게 되는 것과, 많은 연구에서 조직의 석회화, 세포독성이 문제 시 되고 있다[12]. GA의 자유 알데하이드(Aldehyde)기가 칼슘과 결합하는 것이 석회화의 주 원인으로 생각되고 있어[7,13-15] 이 알데하이드기의 결합 부위를 다른 물질과 반응시켜 칼슘이 붙는 것을 방해하면

석회화를 예방할 수 있을 것으로 생각되어 고정 처리시 에탄올, 부탄올(butanol), 메탄올(methanol) 혹은 long chain alcohol (LCA)인 옥탄올, 옥타네디올과 같은 용매를 첨가하는 방법들이 알려져 있는데, 이 방법은 칼슘과 결합하는 근원이 되는 조직의 인지질 성분을 감소시키고 칼슘인 핵 응집(Calcium phosphate nucleation)을 억제하고 콜라겐의 크기와 수를 감소시키며, GA와 칼슘의 결합을 억제하여 조직의 석회화 성향을 감소시킨다[12]. 에탄올과 같은 short chain alcohol (SCA)의 경우 고농도(>50% in aqueous buffers)에서 알데하이드기에 붙을 수 있는 인지질을 제거하고 조직 콜라겐의 입체형태를 변화 시키고, SCA와 LCA를 같이 사용할 경우 LCA의 구조가 인지질과 비슷하여 효과적으로 인지질을 제거 하는 것으로 알려져 있다

[12]. GA 고정과, 여러 용매의 이점이 있는바 신선한 판막 조직과 GA 고정 판막 조직의 비교에 GA+용매 고정 판막 군을 추가하여 비교, 특히 GA 고정 군에 비해 GA+용매 고정 시 양방향성 신장도에 변화가 오는지를 비교 하였다.

신선한 돼지의 대동맥 판막과, 폐동맥 판막을 원주 방향 방사방향으로 양방향 신장도를 비교 했을 때, 이전 연구[8,9,16]에서 확립된 것처럼 방사 방향이 원주 방향 보다 더 잘 늘어났고 이것은 판막의 콜라겐 주름 지지의 결합 구조가 압력에 따른 신장도 변화에 영향을 주기 때문이다[17]. 위에서 여러 차례 설명한 이유로 이전 실험들과는 다르게 신선한 판막에서 폐동맥 판막 보다 대동맥 판막이 더 잘 늘어 나는 것으로 나타났으며 이에 대해서는 압력에 따라 폐동맥 도관이 영향을 받지 않도록 실험 시스템을 개선하여 추가 연구를 할 필요가 있을 것으로 사료된다.

돼지의 대동맥 판막과 폐동맥 판막을 GA로 고정한 군과, GA+용매로 고정한 군 모두 방사 방향이 원주 방향보다 더 잘 늘어났고 압력-팽창 곡선의 경사도 변화를 보면 원주 방향이 좀 더 견고함을 알 수 있다. 그리고 GA, GA+용매 고정 후의 폐동맥 판막은 대동맥 판막 보다 모두 잘 늘어났고, 압력-팽창 곡선에서도 대동맥이 좀 더 견고함을 알 수 있었다. 판막 별로, 원주 방향과 방사방향의 신장도를 고정 방법에 따라 비교 하였을 때 대동맥 판막은 방사 방향에서 신선한 판막보다, GA 혹은 GA+용매로 고정 시 잘 늘어나지 않았고, GA 고정한 것과 GA+용매 고정한 것간에는 유의하게 차이가 없었다. 압력 변화에 따른 압력-팽창 곡선의 변화도 두 군은 비슷하였다. 대동맥 판막의 원주 방향 비교의 경우는 GA+용매군이 GA군보다 좀 더 잘 늘어나는 경향을 보였다. 폐동맥 판막은 GA 혹은 GA+용매 고정한 군이 신선한 판막보다 잘 늘어나는 것으로 결과가 나왔으나 위에서 설명한 이유로 유의 하다고 할 수는 없었다. 돼지의 폐동맥 판막의 원주 방향 비교와 방사 방향 비교 모두에서 GA로 고정한 군과 GA+Solvent로 고정한 군이 신장도에 유의한 차이가 없었으며, 압력-팽창 곡선도 비슷한 양상으로 변화 하였다. 돼지의 대동맥 판막에서 GA 혹은 GA+용매를 처리한 것이 원주방향과 방사 방향 모두에서 더 견고 해지고 신장도는 감소함을 알 수 있었고, GA+용매로 처리한 돼지의 대동맥 판막의 원주 방향 비교를 제외한 고정방법에 따른 비교에서 대체로 신장도에 차이가 없고 압력-팽창도 곡선의 변화 양상이 비슷한 것으로 보아 용매의 첨가가 통계적으로 유

의한 물리적 변화를 가져 오지 않았음을 알 수 있었다. 조직의 GA 고정은 조직의 교차 결합 증가 및 콜라겐의 중합체 연결을 증가하게 하고, 같은 용적대비 콜라겐의 양을 증가시키게 하는 효과를 하게 함으로 더 견고 하게 하여 같은 길이를 늘어 나게 하기 위해서 더 많은 압력을 가하게 한다. 즉 대동맥 판막이나 심낭과 같은 콜라겐이 많은 조직일수록 GA 고정을 하게 되면 더 견고하게 되는데 이번 실험에서 상대적으로 콜라겐 조직이 적은 폐동맥 판막의 신선한 판막 실험이 잘 되지 않은 것이 제한점이라고 판단 된다. GA 고정 후 변한 물리적 성질은 에탄올, 옥탄올과 같은 SCA, LCA의 용매 첨가 시 콜라겐 수가 감소할 수 있으나 이번 실험에서 물리적 성질은 크게 변하지 않았다. 또한 압력에 따른 압력 신장도 그래프 변화 양상을 보면, 대동맥판막과 폐동맥 판막의 급격 경사도 전환점이 다른 것을 알 수 있는데 인공 판막의 고정 시 제로 압력 혹은 저 압력에서의 고정이 고 압력에서 고정 시 보다 비틀림이 적게 하여 부분만 경첩화 시키는 것을 막아 물리적 기능 저하를 덜 시킨다고 되어 있어 인공 판막 고정 시 각 판막의 급격 경사도 전환점을 고려하여 판막을 고정하여야 하겠다[16]. 판막의 고정 시 제거 되고 있는 탄성도의 감소는 판막의 여달이 시 압력에 따른 저항을 증가 시키고 이것은 물리적 압박을 야기 시켜 판막의 기능 부전을 야기 시킬 수 있다[9,16]. 특히 이완기에 물리적 압박을 많이 받으며, 판막 옆이 너무 견고할 경우 부적격 폐쇄가 일어날 수 있다. 이번 실험에서의 용매를 첨가한 방법 이외에 Carbodiimide, Diamine, Glycerol 등의 대체 물질을 이용한 단백질의 교차 결합 방법, Hydrothermal method 등과 같은 대체 고정 방법이 있으며, GA 중화 작용을 통해 석회화를 억제하고 독소를 제거 하는 L-glutamic acid, lysine과 같은 인지질을 이용한 연구도 이루어 졌다[18,19]. 이종 조직의 면역 반응억제를 위해 고농도 GA 고정을 통한 석회화 감소와 무세포화 처리 연구도 보고 되고 있다 [6,20]. 무세포화 처치를 위해 사용되고 있는 물질은 sodium dodecylsulfate (SDS), octylphenoxy polyethoxyethanol, Deoxycholate 등이 있으며 대부분 세포벽내의 인지질을 제거하여 면역반응에 기이한 석회화를 방지한다. 이번 실험에서 GA 고정 시 용매의 첨가가 크게 물리적 변화를 야기 시키지는 않았으나, 신전도는 크게 향상시키지 않은 것으로 보이며 더 나은 이종 이식 판막의 임상 적용을 위해 이를 보완 위에서 설명한 여러 실험들을 추가 시행 연구 하여야 하겠다.

결론

양방향 압력에 따른 신장도 검사에서, 돼지의 대동맥 판막의 GA 혹은 GA+용매 고정 후 신전한 돼지 대동맥 판막 보다 더 견고 해지고 신장도는 감소 하였다. 돼지의 대동맥 판막과 폐동맥 판막의 GA 혹은 GA+용매 고정 군 간에 양방향 압력에 따른 신장도 검사에서 용매 첨가 후 유의한 물리적 변화 차이는 없었다. 돼지의 대동맥 판막과 폐동맥 판막은 고정 방법 차이 없이 모든 실험 군에서 압력에 대해 원주 방향보다 방사 방향으로 더 잘 늘어났다. 더 나은 이종 장기 판막 개발을 위해 이번 실험 연구 결과를 응용할 수 있겠고, 실험 시스템 방법의 개선과 더 많은 판막의 교차 결합에 대한 조직강화 및 판막 옆의 유연성 향상에 대한 연구, 고정 방법에 따른 판막의 석회화 변화에 대한 장기 연구 및 이종 소 동물 이식 실험을 추가 시행 하여야 할 것으로 생각된다.

참고 문헌

1. Opie JC, Larrieu AJ, Cornell IS. *Pericardial substitutes: delayed explantation and findings*. Ann Thorac Surg 1987;43:383-5.
2. Carpentier A, Nashef A, Carpentier S, Ahmed A, Goussef N. *Technique for prevention of calcification of valvular bioprosthesis*. Circulation 1984;70(Suppl I):I165-8.
3. Neethling WM, Hodge AJ, Clode P, Glancy R. *A multi-step approach in anti-calcification of glutaraldehyde-preserved bovine pericardium*. J Cardiovasc Surg (Torino) 2006;47:711-8.
4. Garcia Paez JM, Jorge-Herrero E, Carrera A, et al. *Chemical treatment and tissue selection: factors that influence the mechanical behaviour of porcine pericardium*. Biomaterials 2001;22:2759-67.
5. Sung HW, Hsu CS, Lee YS, Lin DS. *Crosslinking characteristics of an epoxy-fixed porcine tendon: Effects of pH, temperature, and fixative concentration*. J Biomed Mater Res 1998;31:511-8.
6. Zilla P, Weissenstein C, Human P, Dower T, Oppell UO. *High glutaraldehyde concentrations mitigate bioprosthetic root calcification in the sheep model*. Ann Thorac Surg 2000;70:2091-5.
7. Nimni ME. *The cross-linking and structure modification of the collagen matrix in the design of cardiovascular prosthesis*. J Card Surg 1988;3:523-33.
8. Mayne AS, Christie GW, Smaill BH, Hunter PJ, Barratt-Boyes BG. *An assessment of the mechanical properties of leaflets from four second-generation porcine bioprostheses with biaxial testing techniques*. J Thorac Cardiovasc Surg 1989;98:170-80.
9. Grant WC, Barratt-Boyes BG. *Mechanical properties of porcine pulmonary valve leaflet: how do they differ from aortic leaflets?* Ann Thorac Surg 1995;60:S195-9.
10. David L, Ivan V. *Biaxial strain analysis of the porcine aortic valve*. ATS 1995;60:S374-8.
11. Gratzner PF, Pereira CA, Lee JM. *Solvent environment modulates effects of glutaraldehyde crosslinking on tissue-derived biomaterials*. J Biomed Mater Res 1996;31:533-43.
12. Pathak CP, Adams AK, Simpson T, Phillips RE, Moore MA. *Treatment of bioprosthetic heart valve tissue with long chain alcohol solution to lower calcification potential*. J Biomed Mater Res 2004;69:140-4.
13. Webb CL, Benedict JJ, Schoen FJ, Linden LA, Levy RJ. *Inhibition of bioprosthetic heart valve calcification with aminodiphosphonate covalently bound to residual aldehyde groups*. Ann Thorac Surg 1988;46:309-16.
14. Stein PD, Riddle JM, Kemp SP, et al. *Effect of warfarin on calcification of spontaneously degenerated porcine bioprosthetic valves*. J Thorac Cardiovasc Surg 1985;90:119-25.
15. Golomb G, Ezra V. *Prevention of bioprosthetic heart valve tissue calcification by charge modification: effects of protamine binding by formaldehyde*. J Biomed Mater Res 1991;25:85-98.
16. Christie GW. *Anatomy of aortic heart valve leaflets: the influence of glutaraldehyde fixation on function*. Eur J Cardiothorac Surg 1992;6(Suppl)1:S25-32.
17. Broom ND, Christie GW. *The structure/function relationship of fresh and glutaraldehyde-fixed leaflets*. In: Cohn LH, Gallucci V. *Cardiac bioprostheses*. New York: Yorke Medical Books 1982;476-91.
18. Humana P, Benzuidenhouta D, Torriannib M, Hendriksc M, Zilla P. *Optimization of diamine bridges in glutaraldehyde treated bioprosthetic aortic wall tissue*. Biomaterials 2002;23:2099-103.
19. Zilla P, Fullard L, Trescony P, et al. *Glutaraldehyde detoxification of aortic wall tissue: a promising perspective for emerging bioprosthesis valve concepts*. J Heart Valve Dis 1997;6:510-20.
20. Korossis SA, Booth C, Wilcox HE, et al. *Tissue engineering of cardiac valve prostheses II: biomechanical characterization of decellularized porcine aortic heart valves*. J Heart Valve Dis 2002;11:463-71.

=국문 초록=

배경: 심장 판막의 기능은 대부분 판엽의 성질에 의해 결정된다. 단방향성 압력 장력 검사로 광범위하게 연구 되었으나, 단방향성 압력 장력 검사는 자연 상태에서의 압력 부하를 측정할 수 없다. 이번 연구는 더 나은 이중 이식 판막의 개발을 위하여 돼지의 대동맥 판막과, 폐동맥 판막을 고정액에 따라 자연적인 상태에서의 물리적 변화 즉 양방향성 압력-팽창성 변화를 알아 보고자 하였다. **대상 및 방법:** 돼지의 대동맥 판막과 폐동맥 판막을 아무것도 처리하지 않은 신선한 판막과 글루타알데하이드(glutaraldehyde, GA)로 고정한 군, GA에 에탄올과 같은 용매로 고정한 군으로 나누어 판막의 방사방향과 원주 방향의 양방향성 압력-신장도 변화를 조사 비교하였다. **결과:** 신선한, GA 고정 후의, 그리고 GA+용매 고정 후의 대동맥 판막($p=0.00$), 폐동맥 판막($p=0.00$) 모두에서 방사방향이 원주방향보다 압력 증가에 따라 더 잘 늘어 났다. GA 고정 후와 GA+용매 고정후의 대동맥 판막이 폐동맥 판막보다 각각 원주 방향과, 방사방향 비교했을 때 폐동맥 판막이 같은 압력에 대해 더 많이 늘어 났다 ($p=0.00$). 돼지의 신선한 대동맥 판막을 GA 고정 후에 원주 방향과 방사 방향에서 모두 신장도가 유의하게 감소 하였다($p=0.00$). GA+용매 고정 시에 방사 방향에서는 신장도가 유의하게 감소 하였으나 ($p=0.00$), 원주 방향에서는 그렇지 않았다($p=0.785$). 그리고 GA 고정 그룹과 GA+용매 그룹간의 비교에서 원주 방향($p=0.785$), 방사방향($p=0.137$), 신장도가 유의한 차이는 없었다. 폐동맥 판막에서도 GA 고정 그룹과 GA+용매 그룹간의 비교에서 원주 방향($p=0.718$), 방사방향($p=0.910$), 신장도가 유의한 차이는 없었다. **결론:** 돼지의 대동맥 판막과 폐동맥 판막의 GA 고정 시, 용매의 첨가는 물리적 손실은 가져 오지 않으나 신장도는 더 나아지지 않았다. 돼지의 대동맥 판막과 폐동맥 판막은 고정 방법에 관계 없이 방사방향 신장도가 원주 방향보다 더 낮다.

- 중심 단어 :** 1. 이중이식
2. 글루타알데하이드
3. 인공심장판막