

흰쥐의 적출된 심장에서 심정지액의 온도가 심근 보호에 미치는 영향

김 용 한* · 김 영 진* · 고 태 환* · 이 종 욱*
손 동 섭* · 조 대 윤* · 양 기 민*

—Abstract—

The Effect of Temperature of Cardioplegic Solution on Myocardial Protection from Ischemia —Experimental Study using Isolated Rat Heart Perfusion Technique—

Yong Han Kim, M.D., Young Jin Kim, M.D., Tae Whan Koh, M.D., Jong Wuk Lee, M.D.,
Dong Suep Sohn, M.D., Dai Yun Cho, M.D., Ki Min Yang, M.D.*

The effect of temperature of cardioplegic solution on myocardial preservation was studied using isolated rat heart perfusion technique. Twenty Sprague-Dawley rats, weighing 120–140gm, were pretreated with intraperitoneal injection of heparin sodium(300u/kg) and then the hearts were excised after cervical herniation 30 minutes later. The hearts were perfused in isolated working heart apparatus with oxygenated modified Tyrode solution at 37°C. After 10 minutes of non working heart perfusion, the hearts were subjected to arrest for 30 minutes by administration of 5cc cardioplegic solution at the temperature of 4°C (Group I), 15°C (Group II), 25°C (Group III), 37°C (Group IV). At the same time, the topical cooling of heart was performed using ice saline. After arrest, the hearts were reperfused by non working heart perfusion for 1 hour with modified Tyrode solution at 37°C. The CPK, GOT and LDH in reperfusate were measured at 5, 20, 40, 60 minutes after start of reperfusion. With the values of those, we compared the effect of temperature of cardioplegic solution on myocardial preservation.

The results were as follows :

1. The enzyme values in reperfusate were highest at 5 minute and after then declined.
2. At 5 minutes after reperfusion, the enzyme values in Group I were lower than those in other Groups.

These results suggest that the cardioplegic solutions using for cardiac arrest and myocardial protection can be working better at 4°C than at any other temperature.

서 론

개심술시는 정교한 수술조작을 위하여 심정지가 필

수적이나, 심정지는 심근손상을 동반하기에 개심술시에는 심근손상을 극소화시키기 위하여 심근 보호법들이 요구되고 있다. 개심술시 사용되는 대표적인 심근 보호법으로는 저체온법과 심정지액의 사용을 들 수 있으며, 저체온법에서는 전신을 냉각시키는 전신 저체온법, 심장과 그 주위만을 냉각시키는 국소 저체온법 등

*중앙대학교 의과대학 흉부외과학교실

*Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery,
College of Medicine, Chung-Ang University.

이 사용되고, 심정지액의 사용에서는 심정지액의 구성 성분이나 투여방법을 변화시킴으로서 최대한의 심근 보호 효과를 꾀하고 있다. 이런 심근 보호법에 대한 연구는 여러가지 요소를 대상으로 하여서 시행되어 왔으나, 심정지액의 온도 변화가 심근에 미치는 영향에 대한 보고는 매우 드물다. 그러나, 실제 임상에서는 주입되는 심정지액의 온도를 냉각시킴으로 심마비를 급속하게 유도하고 심근을 빠르고 균등하게 냉각하는 효과를 얻기 위하여 심정지액을 냉각하여 사용하고 있기에 이에 대한 실험적인 근거가 필요하다.

이에, 본 실험은 개심술시 심정지와 심근보호 목적으로 사용되는 심정지액이 온도변화에 따라 술후 심근 손상 정도나 심근보호에 어떤 영향을 미치는가를 비교하기 위하여 시행되었다.

재료 및 방법

실험 재료로서 몸무게가 120-140gm인 수컷 흰쥐 (Sprague-Dawley strain) 20 마리를 이용하였다. Heparin을 300u/kg로 복강내에 주사하고 30분 후 경부 탈골시켜 실신시킨 후 고정판에 쥐를 고정하고 정중 개흉술을 시행하여 심장을 적출하였다. 37℃의 Modified Tyrode solution(Table 1)으로 채워진 동맥관을 적출된 심장의 대동맥에 삽관하여 결찰한 뒤 모든 line에 공기를 제거하고 적출 심장 관류장치(Isolated heart perfusion system, Fig. 1)에 매달고 비작업성 심장 순환을 시작하였다. 관류액인 Modified Tyrode solution을 37℃로 유지하면서 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합 가스를 공급하여 PH 7.4, 산소 분압을 300-350mmHg, 이산화탄소 분압을 30-35mmHg 사이로 유지하였고, 관류액은 roller pump에 의해 분당 9cc의 비율로 대동맥관을 통하여

Table 1. Composition of Modified Tyrode Solution.

Component	Amount
NaCl	140.0mM(8.18gm /l)
KCl	4.4mM(0.328gm /l)
CaCl ₂ ·2H ₂ O	1.0mM(0.148gm /l)
MgCl ₂	1.6mM(0.095gm /l)
HEPES*	3.0mM(0.8 gm /l)
Glucose	10.0mM(1.8 gm /l)

*HEPES : N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid

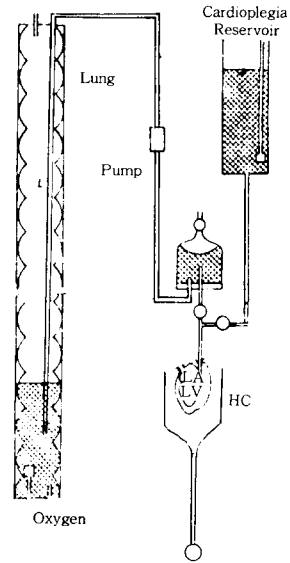


Fig. 1. Schematic diagram of isolated rat heart perfusion apparatus used in experiment.

Table 2. Composition of Cardioplegic Solution.

Component	Amount
NaCl	110.0mmol /l
KCl	16.0mmol /l
CaCl ₂	1.2mmol /l
MgCl ₂	16.0mmol /l
NaHCO ₃	10.0mmol /l
Procaine	0.05mmol /l
증류수	적 량

324 mOsm /Kg of H₂O ; PH 7.8

10분간 역관류하여 비작업성 심장순환을 시켰다. 동시에 심장이 들어 있는 수조의 온도도 37℃로 유지하였다. 그 후 역관류를 중지시킴과 동시에 37℃로 유지시키던 수조의 작동도 중지시켰다. 각군에 따라 심정지액(Table 2)의 온도를 4℃, 15℃, 25℃, 37℃로 하여 심장 상방 80cm의 높이에서 대동맥관을 통하여 5cc를 관류시켜 심정지를 유발시켰으며, 이후 4℃로 냉각된 식염수를 심장 주위에 채워서 국소냉각도 병행하면서 심정지를 30분간 유지하였다. 그 후 심장을 37℃의 Modified Tyrode solution으로 재관류하여 비작업성 심장순환을 시켰다. 동시에 냉각 식염수를 제거하고 수조를 이용하여 심장 주위의 온도를 37℃로 유지하였다. 심정지액의 온도 변화가 심근보호에 미치는 영향

을 알아보기 위하여, 심정지 후 비작업성 심장 순환을 시작한 때부터 5분, 20분, 40분, 60분에 대동맥관을 통하여 심장내 순환후 우심방으로 유출되는 관류액을 모아 CPK, GOT, LDH치를 측정하였다.

실험결과

각 군에 해당되는 온도의 심정지액을 5cc씩 투여함으로 모든 레에서 즉시 심정지가 나타났으며 심정지후 37°C Modified Tyrode solution으로 재관류시켰을 때 곧바로 모든 레에서 정상 박동을 회복하였다. 각 군에서 심정지후 재관류를 시행한 뒤 5분, 20분, 40분, 60분 경과후 우심방으로 유출되는 관류액을 모아 CPK, GOT, LDH를 측정한 결과(Table 3,4,5), 모든 군에서 CPK, GOT, LDH의 수치는 재관류후 5분에 가장 높았으며 그 후 시간이 경과함에 따라 점차 감소하는 추세를 보였다(Fig. 2,3,4).

1. CPK

모든 군에서 재관류 5분 후에 가장 높다가 그 후 감소하는 것으로 나타났으며, 각 군간을 비교하여 보면, 재관류 5분 후에 I군에서 가장 낮았고 II군에서 가장

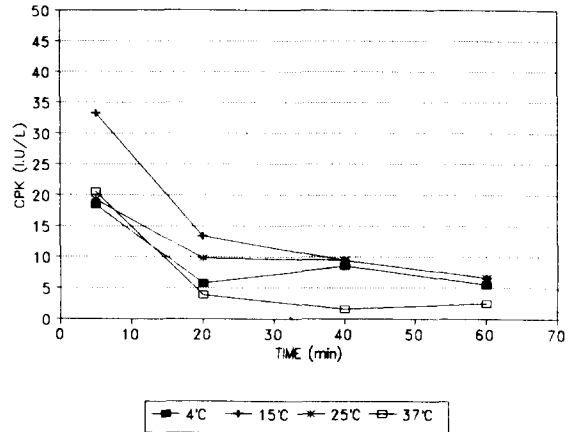


Fig. 2. The change of CPK value on each temperature during reperfusion.

Table 3. The results of CPK of each group during reperfusion.

Group	5	20	40	60(minutes)
I	18.42 ± 4.51	5.76 ± 2.00	8.56 ± 2.64	5.50 ± 2.47
II	33.30 ± 6.33	13.40 ± 6.14	9.50 ± 4.29	6.58 ± 2.29
III	19.24 ± 5.98	9.78 ± 4.42	9.46 ± 0.83	6.58 ± 2.02
IV	20.06 ± 7.02	3.86 ± 2.77	1.54 ± 0.93	2.42 ± 2.34

Note : Values are mean ± standard deviation for 5 hearts(I,U /L).

Table 4. The results of GOT of each group during reperfusion.

Group	5	20	40	60(minutes)
I	10.40 ± 3.11	4.94 ± 1.68	5.02 ± 1.97	3.16 ± 1.92
II	18.90 ± 7.39	8.42 ± 3.50	7.19 ± 2.14	4.36 ± 2.45
III	21.02 ± 3.14	4.66 ± 2.45	5.58 ± 1.20	4.74 ± 1.97
IV	20.36 ± 6.55	4.78 ± 3.51	5.42 ± 3.22	3.00 ± 1.84

Note : Values are maen ± standard deviation for 5 hearts(I,U /L)

Table 5. The results of LDH of each group during reperfusion.

Group	5	20	40	60(minutes)
I	20.08 ± 7.09	10.38 ± 5.38	7.80 ± 4.00	4.38 ± 1.31
II	32.04 ± 7.37	17.20 ± 7.89	10.26 ± 5.67	6.48 ± 4.82
III	40.86 ± 6.27	12.70 ± 5.38	6.60 ± 0.94	6.02 ± 1.12
IV	24.42 ± 5.12	8.66 ± 2.40	5.96 ± 1.94	3.92 ± 1.99

Note : Values are mean ± standard deviation for 5 hearts(I,U /L).

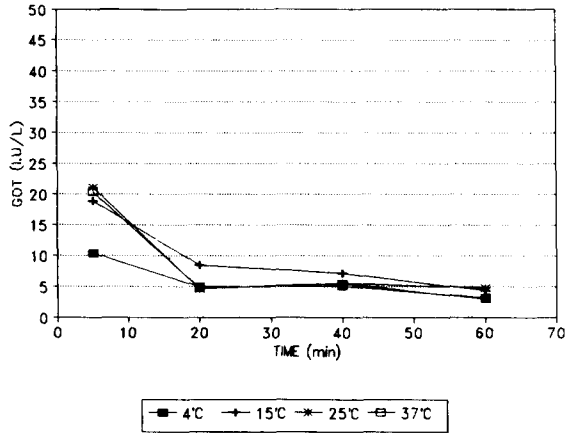


Fig. 3. The change of GOT value on each temperature during reperfusion.

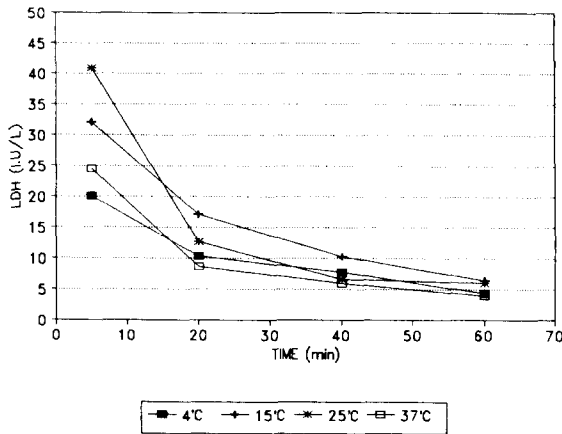


Fig. 4. The change of LDH value on each temperature during reperfusion.

높게 나타나 의미있는 차이를 보였다(18.42 ± 4.51 vs 33.30 ± 6.33 , $P < 0.005$). 재관류 40분 후에 I, II, III군과 IV군 사이에 차이가 있었다($P < 0.01$). 재관류 20분과 60분 후에 IV군이 다른 군에 비해 낮은 수치를 보였으나 의미있는 차이는 아니었다.

2. GOT

모든 군에서 재관류 5분 후에 가장 높다가 그 후 감소하는 추세를 보였다. 각 군간의 비교에서는 재관류 5분 후에 I군에서 가장 낮고 III군에서 가장 높아 의미있는 차이를 보였다(10.40 ± 3.11 vs 21.02 ± 3.14 , $P < 0.001$). 그 외에는 의미있는 차이가 없었다.

3. LDH

CPK와 GOT와 같이 모든 군에서 재관류 5분 후에 가장 높게 나타나다가 그 후에는 감소하였다. 각 군을 비교하면, 재관류 5분 후에 I군이 가장 낮아 II군과 (20.08 ± 7.09 vs 32.04 ± 7.37 , $P < 0.04$) 비교와 III군과 (20.08 ± 7.09 vs 40.86 ± 6.27 , $P < 0.001$) 비교에서 의미있는 차이를 나타냈다. 그외에는 II군이 재관류 20분, 40분, 60분 후에 다른 군에 비해 높았으나 의미있는 차이는 없었다.

고 찰

개심술시 심정지중 나타나는 심근손상을 막기 위하여 여러가지 방법이 사용되고 있으나, 대표적인 것이 저체온법이다. 저온의 심근보호 기전은 심근세포의 기초대사를 줄이며, 이산화탄소나 수소이온과 같은 독성 대사산물의 생성을 억제하고 또한 ATP의 소모를 억제하여 고에너지 인산염의 농도를 유지시켜 심장 기능 유지를 돕는다¹⁻⁵⁾. 현재 임상에서 흔히 사용하는 방법으로는 전신 저체온법, 심장 주위를 국소적으로 냉각시키는 국소냉각법 그리고 심정지액의 사용 등이 있으며 위의 방법들이 단독 혹은 혼합하여 사용된다.

심정지액은 심마비를 급속하게 유도하여 개심술시에 무동의 시야를 제공하며 또한 심근의 산소 요구량과 심근의 에너지 소비를 감소시킨다. 심정지액으로 필요한 요소들을 열거하면 즉각적인 심정지를 일어나게 하기 위하여 고 농도의 K^+ 등의 전해질이 있어야 한다. 현재 심장을 급속히 마비시키기 위하여 여러가지 화학물질들이 사용되고 있으나 K^+ 을 이용한 심정지 방법이 가장 널리 사용되고 있다⁶⁾. 세포외액에 있는 고 농도 K^+ 은 세포 내외의 K^+ 경사를 감소시켜 세포를 탈분극시키며 그 결과 세포막의 이온펌프를 이용하는데 필요한 에너지의 소모를 없게 한다. K^+ 의 농도는 여러 연구 결과 $15-20mM/L$ 가 가장 적당한 것으로 되어있다⁷⁻¹⁰⁾. 고 농도의 K^+ 은 심근의 구축(contraction)이나 다른 손상을 줄 수도 있으며¹¹⁾, 반대로 저 농도의 K^+ 은 즉각적인 심정지를 일으키는데 효과적이지 못한다. Mg^{++} 은 주로 사립체(Mitochondria)나 근원 섬유(Myofibril)내에 존재하는 세포내 주요 양이온이며 세포막에 작용하여 Ca^{++} 수용체에 경쟁적으로 억제하며 Ca^{++} 의 세포내 유입을 지연시킨다.

또한 Mg^{++} 은 고 에너지 인산염의 주요 구성 성분이며 세포 효소계내의 보인자(cofactor)이기도 하다. 허혈성 심정지기간 동안이나 재관류시에 Mg^{++} 이 부족하게 되면 ATP 합성의 장애가 초래될 수 있기 때문에 심정지액에 반드시 포함되어야 하며 그 농도는 15-20mM/L가 적당한 것으로 되어 있다¹⁰⁾. Ca^{++} 은 Actin-Myosin 상호 작용에서 필수 요소이며 심근 수축의 조절에 중요 역할을 하고¹²⁾, 세포막의 긴장성(integrity) 유지와 여러가지 세포내 기능의 유지에 필요하다. 여러 연구에서 Ca^{++} 의 적절한 농도는 0.5-1.5mM/L로 되어있다⁹⁾. 세포내 Ca^{++} 유입(influx)은 Mg^{++} 이나 procaine 외에 calcium-blocking 제제들에 의해서 저하될 수 있는데 slow channel calcium-blocking 제제들은 선택적으로 Sacrolemmal slow calcium channel을 억제하여 세포내 Ca^{++} 의 축적과 ATP의 퇴화(degradation)를 막는다. 또한 Na^+ 의 농도가 저하될 때 세포막 내외의 농도 경사가 없어져서 세포의 탈분극이 발생하여 심마비가 일어나게 된다. Mg^{++} 와 비슷하게 Na^+ 은 Ca^{++} 의 세포내 이동의 조절을 통하여 심근의 보호 역할을 한다. 고 농도 K^+ 으로 유도된 심정지에 있어서 심근을 보호하기 위한 가장 적절한 Na^+ 의 농도는 100-130mM/L이다. 이런 물질들은 단독으로 사용되어 심정지의 유도와 유지에 사용될 수 있으며 또한 다른 제제들과 병행되어 사용되기도 한다.

심정지액으로 필요한 요소는 그외에도 심근과 간질 조직의 부종을 감소시키기 위하여 고 삼투압을 가져야 한다. 어떤 심정지액은 비정상적 Ca^{++} 의 유통을 막기 위하여 Ca^{++} 길항제도 포함되어 있는 경우가 있으며 세포막을 안정시키기 위하여 국소 마취제나 스테로이드를 포함하는 경우도 있다. 국소 마취제는 Sarcolemma의 Sodium channel을 차단함으로써 심정지를 유도하며 또한 Ca^{++} 의 세포내 이동을 억제하여 심근 보호의 역할을 한다. 또한 심정지액에 국소 마취제를 포함하여 재관류 초기 단계에 발생할 수 있는 심실성 세동의 빈도를 줄일 수 있으며¹³⁾, 용량은 Procaine의 경우 0.05-1mM/L이다⁸⁾. 본 실험에서 사용한 심정지액은 위의 열거한 성분들을 적정 농도로 유지하고 있고 삼투압도 높아 이상적인 심정지액인 것을 알 수 있겠다.

심정지액의 심근 보호효과는 여러 연구에서 알려져 있으나 심정지액의 온도 변화에 따른 심근 보호효과에

관한 연구는 많지 않으며 결과도 언제나 일치되게 나타나지 않고 있다. Tyers 등은 적출된 쥐 심장을 이용하여 관상동맥에 여러가지 온도의 전해질 용액을 투여하였을 때 심근에 어떤 영향을 주는지 관찰하였는 바 4℃ 전해질 용액보다 10℃, 15℃의 전해질 용액을 투여했을 때가 심근 대사와 혈액학적 기능의 회복이 더 우수했으며 10℃ 이하의 전해질 용액을 관상 동맥에 투여하여 허혈성 심정지를 시키면 심근에 손상이 올 수 있다고 보고하였다. 그러나 이와는 달리 Hearse, Harlan 등은 흰 쥐의 적출된 심장에서 각각 다른 온도의 심정지액을 관상 동맥에 투여한 후 심근 보호효과를 연구한 결과 4℃의 심정지액을 사용하였을 때가 심근 보호에 있어서 가장 우수한 것으로 나타나서¹⁴⁾ 본 실험과 같은 결과를 보여 주었다. 한편 Rosenfeldt 등도 국소 냉각법의 심근 보호효과에 대한 연구에서 국소 냉각법 자체가 심근 조직을 열게 할 정도로 냉각시키지만 않는다면 온도가 낮을수록 심근 보호가 더 우수하며 개심술시 심근 보호를 위한 가장 적절한 온도는 4-6℃라고 하였다¹⁵⁾. 그러나 재관류액의 온도에 관한 연구에서는 심정지액의 온도와는 다르게 나타나, Metzdorff 등은 초기 재관류액의 온도가 낮을수록 대동맥 박출량 감소와 관상 관류량내 CK 유출이 증가하는 것을 보여주었다¹⁶⁾.

관상 동맥에 냉각된 심정지액을 관류하거나 심장의 국소 냉각법 등에 의한 심근 저온은 수술시에 무혈, 무동의 시야를 만드나, 피해야 할 몇가지 문제점이 있다. 즉, 관상 동맥내 관류에 의해 색전증 등의 합병증이 발생할 수 있고 국소적 심장 냉각법에 의해 심내막의 보호효과없이 심외막의 손상이 올 수 있으며 정상 온도에서의 대동맥 차단시 전반적인 허혈성 손상이 생길 수 있다¹⁸⁾. 또한 심정지액을 대동맥으로 관류하면서 관상 동맥수술을 할 때 부분적 심근의 허혈이 생길 수 있으며 이것은 심실 세동을 유발하기도 한다.

본 실험에서는 심정지의 온도 변화에 따른 심근 보호효과를 관찰하기 위해 4℃, 15℃, 25℃, 37℃의 심정지액을 관상 동맥내 투여했으며 이와 동시에 4℃ 정도의 냉각 식염수로 심장의 국소 냉각을 시행하였고 그 후 재관류 하면서 심근 손상의 지표가 될 수 있는 CPK, GOT, LDH 값을 측정한 바 4℃의 심정지액을 사용한 경우에서 그 측정치가 다른 온도때보다 상대적으로 낮았다. 이런 결과로 미루어 보아, 본 실험이 분리 심장을 이용한 실험으로 제한점이 있고 실험 결과가

언제나 통계학적으로 의미있는 차이를 나타내지는 않았으나, 심정지액의 알맞는 온도는 4℃로 생각된다.

결 론

심정지시에 사용되는 심정지액의 온도가 심근 보호 효과에 어떠한 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 적출된 흰쥐의 심장을 이용하여 4℃, 15℃, 25℃, 37℃의 심정지액을 투여한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

재관류 5분 후에 4℃의 심정지액을 사용한 군에서 CPK, GOT, LDH 값은 다른 군의 값보다 낮았다.

이상의 결과로 보아 심정지액을 사용하여 심정지를 시킬 때 심정지액의 알맞는 온도는 4℃로 생각된다.

REFERENCES

1. Todd GJ, Tyers GFO : *Amelioration of the effect of ischemic cardiac arrest by the intracoronary administration of cardioplegic solutions. Circulation* 52 : 1111, 1975
2. Tyers GFO : *Metabolic arrest of the heart. Ann Thorac Surg* 20 : 91, 1975
3. Tyers GFO, Manley JJ, Williams GH, et al : *Preliminary clinical experience with isotonic hypothermic potassium induced arrest. J Thorac Cardiovasc Surg* 74 : 674, 1977b
4. Tyers GFO, Morgan HE : *Isolated heart perfusion techniques for rapid screening of myocardial preservation methods. Ann Thorac Surg* 20 : 56, 1975
5. Tyers GFO, Williams EH, Hughes HC, Todd GJ : *Effect of perfusate temperature on myocardial protection from ischemia. J Thorac Cardiovasc Surg* 73 : 766-771, 1977
6. Gay WA, Ebert PA : *Functional, metabolic and morphological effects of potassium induced cardioplegia. Surgery, 74 : 284, 1973*
7. Hearse DJ, Braimbridge MV and Jynge P : *Protection of the ischemic myocardium : Cardioplegia. New York, Raven Press, 1981*
8. Hearse DJ, O'Brien K and Braimbridge MV : *Protection of the myocardium during ischemic arrest : Dose-response curves for procaine and lignocaine in cardioplegia solutions. J Thorac Cardiovasc Surg, 81 : 873,,1981*
9. Hearse DJ, Braimbridge MV, Stewart DA : *Myocardial protection during ischemic cardiac arrest : The importance of magnesium in cardioplegic infusates. J Thorac Cardiovasc Surg, 75 : 877, 1978b*
10. Hearse DJ, Stewart DA, Braimbridge MV : *Cellular protection during myocardial ischemia. The development and characterization of the induction of reversible ischemic arrest. Circulation* 54 : 193, 1976
11. Melrose DG : *Elective cardiac arrest : Historical perspective. In Longmore D : Morden Cardiac Surgery. Baltimore MD, University Park Press, 271-275, 1978*
12. Katz, AM : *Physiology of the Heart. New York, Raven Press, 1977*
13. Vercillo AP, Squier RC, Chawla S, et al : *Procaine versus magnesium in cardioplegia solution. Conn. Med., 51 : 74, 1987*
14. Harlan BJ, Ross D, Macmanus Q, Knight R, Luber J, Starr A. *Cardioplegic solutions for myocardial protection : analysis of hypothermic arrest, potassium arrest and procaine arrest. Circulation* 58 : Suppl 1 : 114, 1978
15. Rosenfeldt FL : *The relationship between myocardial temperature and recovery after experimental cardioplegic arrest. J Thorac Cardiovasc Surg* 84 : 656, 1982
16. Metzdorff MT, Grunkemeier GL, Starr A : *Effect of initial reperfusion temperature on myocardial preservation. J Thorac Cardiovasc Surg* 91 : 545, 1986
17. Kugelberg J, Hagerdal M, Carlsson C. *Myocardial protection during heart surgery : an experimental evaluation of normothermic and hypothermic cardioplegia. Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 13 : 47 1979
18. 최중범, 송인기, 이재성, 최순호, 문영희 : 흰 쥐의 적출된 작업성 심장에서 허혈성 심정지시 국소 냉각법이 심근 보호에 미치는 영향. 대한흉부외과 학회지 Vol. 21. No. 2. 1988