

이종 조직 보철편의 석회화 완화에 관한 연구

안재호* · 최세용* · 민선경* · 원태희*

Mitigation of Calcification of Heterograft Tissue

Jae Ho Ahn, M.D.*, Se Yong Choi, M.D.*, Sun Kyung Min, M.D.*, Taehee Won, M.D.*

Background: With the development of cardiac surgical technique, we need more prosthetic materials for repairing the intra- and extracardiac defects. Although bovine pericardial bioprosthesis treated with glutaraldehyde (GA) solution is one of the most popular materials, it has a drawback of later calcific degeneration. The purpose of this study is to investigate the effectiveness of several materials and methods in reducing the calcific degeneration of bovine pericardium. **Material and Method:** Forty square-shaped pieces of bovine pericardia were fixed in 0.625% GA solution with 4 g/L $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ as a control group (group 1). Other 40 pieces pre-treated with 1% SDS (group 2) and 40 pieces post-treated with 8% glutamate (group 3) and 2% chitosan (group 4) were also fixed in the same GA solution. Other 40 pieces pre-treated with 1% SDS and post-treated with 8% glutamate and 40 pieces post-treated with 2% chitosan were also fixed in the same GA solution (group 5, 6). The pericardial pieces were implanted into the belly of 40 Fisher 344 rats subdermally and were extracted 1 month, 2 months, 3 months, and 6 months after the implantation. With an atomic absorption spectrophotometry, we measured the calcium amount deposited and examined the tissue with microscope. **Result:** The calcium deposition in 1 month was less in group 2, 5, 6 than that in group 1 ($p < 0.05$). It was most prominent in group 5 ($p < 0.01$). This finding continued in 2 month. In 3 month, the calcium deposition was less in group 3 and 4 as well as group 2, 5, and 6 than in group 1. In 6 month, the calcium deposition in group 2, 3, 4, 5, and 6 was less than that in group 1 and the difference was more than that of 1, 2, and 6 month. The microscopic calcium deposition was also less in group 2 and 5. Calcium deposition developed in the whole layer of pericardium, beginning with the surrounding the collagen fiber and progressing inwardly. **Conclusion:** Pre-treatment with SDS, post-treatment with glutamate or chitosan, and SDS pre-treatment and post-treatment with glutamate or chitosan were effective in reducing the calcium deposition in bovine pericardium. Moreover, the combined method of SDS pre-treatment and glutamate post-treatment was more effective than other methods.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2004;37:307-312)

Key words: 1. Calcification
2. Heterograft
3. Glutaraldehyde
4. Surfactant

*이화여자대학교 의과대학 목동병원 흉부외과

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Mok-dong Hospital, College of Medicine, Ewha Women's University, Seoul, Korea

논문접수일 : 2003년 12월 31일, 심사통과일 : 2004년 2월 7일

책임저자 : 안재호 (158-710) 서울시 양천구 목동 911-1, 이화여자대학교 목동병원 흉부외과

(Tel) 02-2650-5151, (Fax) 02-2649-4930, E-mail: jhahn@ewha.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

서 론

심장 수술의 발전과 함께 다양한 복잡심기형과 재수술을 경험하게 됨에 따라 심장 및 혈관 등의 결손을 교정하기 위해 자기 조직이 아닌 다른 보철편의 필요가 늘어나 그에 따른 다양한 대체제가 연구 개발, 이용되고 있다 [1,2]. 초기에 연구자가 제작한 이종보철편은 [3,4] 동물 실험 및 제한된 임상 적용에서 심한 석회화가 초기에 발생하여 중장기 수술성적이 만족스럽지 못했던 것을 발표한 바 있으며 [5], 따라서 이 석회화의 방지 내지는 완화가 보철편을 이용한 수술의 장기 성적에 중요한 요소가 될 것으로 [6] 판단하여 보완 실험을 거듭하는 중이다. 본 실험에 이용된 우심낭과 결합하는 glutaraldehyde (GA)의 aldehyde 기(-CHO)가 체내의 칼슘과 반응하여 석회화가 일어나는 주 원인이 되고 있다고 판단하여 [7,8], 이 aldehyde기의 결합부위를 미리 다른 물질과 결합시켜 칼슘과 결합하는 것을 막아 줌으로써 석회화를 방지하고자 시도하였다. 많은 연구에서 GA 용액을 만들 때 기본적으로 마그네슘을 첨가하여 사용하고 있으며, 추가로 3가의 철 이온으로 전처리하여 칼슘의 결합을 억제하는 방법 [9], 여러 계면활성제들을 이용한 전처리 방법 등이 소개되었고, 아미노산이나 chitosan의 N-terminal기와 GA의 aldehyde가 결합하도록 하는 방법 [10,11] 등도 발표된 바 있다. 연구자는 계면활성제의 친수성 부위는 지방 및 인산 지방이 조직으로 이동하는 것을 막아 줌으로써 조직 석회화의 첫 번째 단계를 막아 준다는 가설하에 [12,13] 먼저 우심낭편을 음이온성 계면활성제인 sodium dodecyl sulfate (SDS)로 전처리한 후 GA 용액에 일정 기간 고정 보관한 다음, 백서의 복부 피하에 이식, 그 후 한 달 간격으로 이식된 우심낭편을 수거하여 시간의 경과와 함께 석회화되는 것을 칼슘 정량을 통해 관찰하였으며 [9,14,15], 동시에 전자현미경 검정으로 석회화 과정을 알아보았다. 또한 GA 용액에 먼저 보관한 우심낭편을 이식 전에 아미노산인 glutamate, 게로부터 얻어지는 chitosan 등으로 후처리하여 [10,11] 아미노산의 N-terminus가 GA와 cross-link하여 혈중의 칼슘과 결합하는 것을 방지하는 효과를 관찰하였으며, 또한 위의 두 가지 방법으로 병행 처리하여 그 상승효과도 관찰하였다.

대상 및 방법

1) 우심낭의 수집, 처리 및 보관

우심낭을 도축장에서 청결하게 채취하여 Penicillin 1,000

만 unit와 streptomycin 1 g을 섞은 생리식염수 용액(1,000 mL)에 담아 실험실로 운반하여, 우심낭 주위의 조직을 깨끗이 박리한 후 $1 \times 1 \text{ cm}^2$ 의 정방형으로 만들어 24시간 냉장 보관한다. 40조각의 우심낭편은 대조군으로 삼아 $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$ 를 4 g/L 첨가한 0.625% glutaraldehyde (EMS Co., USA) 용액에 보존하고(1군), 40조각은 음이온 계면활성제인 1% Sodium Dodecyl Sulfate (Merk Co., USA) 용액에 30분 담근 후 생리식염수에 1시간 세척하여 같은 용액에 각각 한 달간 보관(2군)한다. 그 후 이들을 각각 생리식염수에 30분 세척한 후 동물 실험에 이용한다. 한편 1군에서와 같은 방법으로 보관한 우심낭편을 40조각은 8% glutamate (Sigma Co., USA) 용액에(3군), 40조각은 2% chitosan (Sigma Co., USA) 용액에(4군) 각각 1시간 보관한 후 생리식염수에 1분간 세척하여 동물실험에 이용한다. 마지막으로 2군 방식으로 SDS 전 처리한 각 40조각의 심낭편을 3, 4군에서 처럼 다시 glutamate 및 chitosan으로 후처리하여(5, 6군) 이식을 준비한다.

2) 백서에서의 피하 이식

주령 3~4주 정도 되는 40마리의 수놈 Fisher 344 백서를 준비하여 12~15 mg/kg의 ketamine을 복강 내 주사로 마취시킨 후 양와위로 고정하고 복부의 털을 깨끗이 깎는다. Betadine으로 수술창이 될 부위를 잘 닦은 후, 피부와 피하 조직을 정중 절개하고 양쪽으로 피하층을 박리하여 좌, 우에 각각 3개씩의 pocket을 만들어 위에서 준비된 1군, 2군, 3군의 우심낭편은 우측에, 4, 5, 6군의 우심낭편은 좌측에 각각 한 조각씩 갈라서 심고 4-0나 5-0 prolene으로 연속 봉합한다. 수술 직후와 다음날 항생제 cefalosporin 100 mg을 근주하여 감염을 예방하며 사육장에서 정상적으로 사육한다. 이렇게 이식된 우심낭편을 이식 후 1개월, 2개월, 3개월 및 6개월에 각 10마리 단위로 다시 수거한다.

3) 현미경 검사

이 수거된 우심낭편에서 각각 1/4 조각을 잘라 이를 다시 반으로 나누어 광학 현미경 관찰을 위해서는 10% Neutral Buffered Formalin에 상온에서 밤새 고정시키고 다음날 수세 및 탈수과정을 거친 뒤 파라핀에 조직의 횡단면을 관찰할 수 있도록 포매한 후 6 um 두께의 절편을 얻어 슬라이드에 얹고 탈파라핀 과정을 거친 뒤 Hematoxylin & Eosin 염색을 시행하고 Xylene 투명화 과정을 거친 뒤 cover slip을 Permount (Polyscience Co., USA)를 이용

려여 봉입 후 광학 현미경으로 관찰한다. 전자현미경 관찰을 위해 4% Paraformaldehyde-2.5% Glutaraldehyde (EMS Co., USA) in 0.1 M Phosphate buffer (이하 PBS라 함)에 상온에서 밤새 고정된 뒤 PBS로 10분씩 3회 수세한 후 1% Osmium tetroxide (Sigma Co., USA) in 0.1 M PBS에 상온에서 90분간 후고정한다. 고정이 끝난 조직은 PBS로 5분간 3회 수세한 뒤 50, 60, 70, 80, 90, 100% 에탄올에 각각 5분씩 탈수시키고 Propylene oxide (Merk Co., USA)로 세척한 뒤 Epoxy resin (Polyscience Co., USA)과 Propylene oxide를 1:3과 1:1로 섞어 침투시키고 2:1 용액에서 Epon을 밤새 침투시킨다. 다음날 순수 Epon에 상온에서 4시간 동안 침투시킨 뒤 우심낭 조직의 횡단면을 관찰할 수 있도록 방향을 잡아 포매하고 45, 50, 60°C 항온기에서 각각 하루씩 중합 반응을 유도한다. 반응이 끝난 조직은 200 nm 두께의 semithin section을 얻어 관찰 부위를 결정하고 60 nm 두께의 ultrathin section을 얻어 grid에 얹어 uranyl acetate와 lead citrate의 이중 염색을 시행한 뒤 Hitachi 600 전자현미경을 이용하여[12,15] 조직의 상태와 칼슘이 우심낭에서 침착되는 과정을 시간 경과에 따라 관찰하고 석회화 정도를 전자 밀도와 분포 정도의 크기에 따라 분류한다.

4) 칼슘의 정량

수거한 나머지 우심낭편을 24시간 이상 freeze drier (Labconco, USA)에서 냉동 건조 후 각각 무게를 재고, Eppendorf tube나 cornical tube에 담아 6 N HCl 용액을 1.5 mL 넣은 후 warm incubator (비존과학, 한국)에서 가온하여 24시간 이상 용해시킨 다음, 3N HCl이 섞인 5% Lanthanum 용액으로 모두 2 mL가 되도록 한 후, 표준 칼슘 용액(in 0.5% Lanthanum, 0.6 N HCl)을 이용 atomic absorption spectrophotometer (Perkin-Elmer, USA)로 칼슘을 정량하여[11,12] 각 군 및 시간 경과에 따른 석회화 정도를 mg/g 단위로 측정한다.

5) 통계처리

석회화의 정도는 칼슘이 우심낭의 단위 무게당 침착된 정도를 mg/g으로 평균±표준편차로 표시하고, 각 군에서 내조군과의 비교는 비모수적 통계방법인 Mann-Whitney 검사를 사용하였고 여러 군의 비교는 Kruskal-Wallis 검사를, 그리고 시간에 따른 각 군의 검사는 Wilcoxon signed rank 검사를 사용하였다. 통계 프로그램으로는 SPSS for windows release 11.0.1 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사

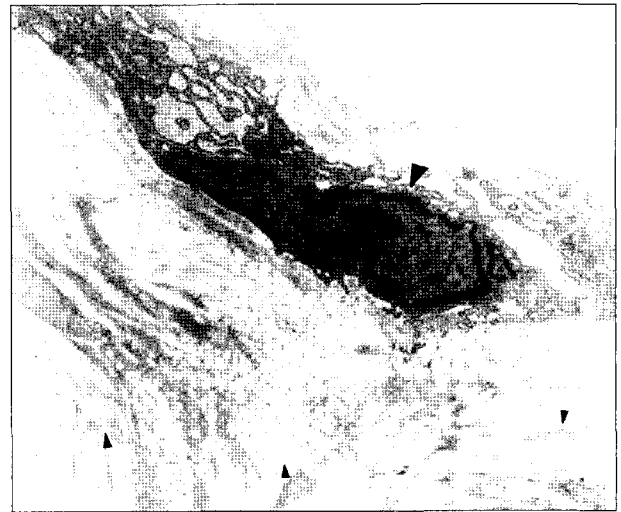


Fig. 1. Electromicroscopic finding ($\times 10,200$) of normal bovine pericardium. Fibroblast shows intact cellular organelles (large arrow head) and longitudinal and cross sectioned collagen bundles are also observed (small arrow head).

용하였으며 유의수준은 $p=0.05$ 를 기준으로 하였다.

결 과

1) 현미경 검경

광학 현미경 검경상 시간의 경과에 따라 모든 수거 심낭편에서 교원섬유 사이에 칼슘의 침착이 증가되어 가는 양상을 관찰할 수 있었으나, 심낭의 표면 부위나 중층부위 간에 칼슘 침착 정도의 차이는 확연한 차이를 찾을 수 없어 칼슘의 침착이 어느 특정 부위에 집중된다고 볼 수 없었다.

전자현미경 $\times 8500$, $\times 13600$ 확대상에서 교원섬유 다발을 이루는 섬유 사이사이에서 신선 심낭 조직에서는(Fig. 1) 보이지 않던 고전자 밀도를 보이는 칼슘의 침착을 관찰할 수 있었으며, 이러한 칼슘의 침착 정도는 특정 부위에 몰려 있지 않고 고루 퍼져 분포하고 있었고, 곳곳의 교원섬유를 고전자 밀도의 칼슘이 둘러싸서 마치 하나의 독립된 섬 모양을 이루는 것으로 관찰되었다(Fig. 2). 이러한 섬들의 수는 시간이 경과할수록, 즉 석회화가 진행될수록 많은 수가 관찰되었으나, 2, 5, 6군에서 상대적으로 그 넓이도 적고 개수도 적게 관찰되고 있어 석회화 완화 효과에 대한 시사로 볼 수 있었다(Fig. 3).



Fig. 2. Calcium depositions in control group after 1 month. Several calcium deposits (arrow head) around the collagen bundles are observed ($\times 10,200$).



Fig. 3. Calcium deposition in group 1 after 6 months. Heavily deposited calcium islets (arrow head) are scattered in whole electromicroscopic field evenly ($\times 10,200$).

2) 칼슘의 정량

백서 복부 피하에서 적출한 이식편을 냉동 건조하여 완전히 탈수시킨 무게는 10~50 mg 사이에 분포하였다. 1개월에 측정된 칼슘의 양은 SDS로 전처리한 2군(1.49 ± 0.74 mg/g)과 SDS로 전처리 후 glutamate로 후처리한 5군(0.82 ± 0.49 mg/g), 그리고 SDS 전처리 후 chitosan으로 후처리

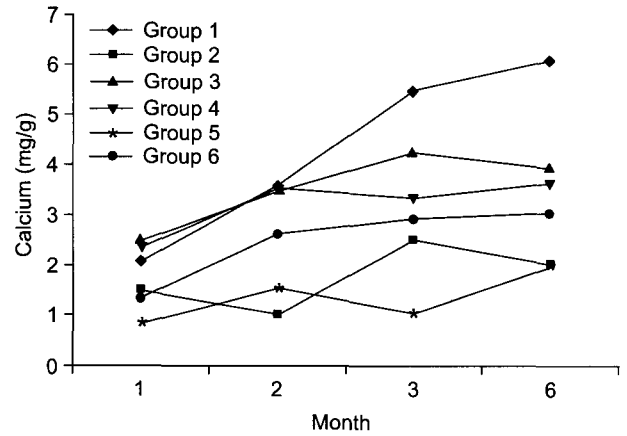


Fig. 4. Measured calcium amount in bovine pericardium. Calcium deposition is increased with elapsing time in control group (group 1). On the contrary pretreated (group 2) and posttreated (group 3, 4) groups show ameliorated calcification with elapsing time, and combined treatment groups (group 5, 6) show much mitigating calcification tendency.

Table 1. Measured calcium amount (mg/g) in bovine pericardium

Groups	Months			
	1	2	3	6
1	2.07 ± 0.17	3.58 ± 0.46	5.48 ± 0.78	6.08 ± 0.95
2	1.49 ± 0.74	0.99 ± 0.79	2.49 ± 0.99	2.00 ± 1.33
3	2.47 ± 0.44	3.47 ± 0.41	4.26 ± 0.69	3.95 ± 1.34
4	2.35 ± 0.71	3.50 ± 0.60	3.34 ± 1.04	3.66 ± 1.17
5	0.82 ± 0.49	1.52 ± 0.65	1.02 ± 0.36	1.95 ± 0.97
6	1.33 ± 0.95	2.60 ± 0.99	2.92 ± 1.28	3.05 ± 1.13

한 6군(1.33 ± 0.95 mg/g)에서 대조군에 비해 적었다($p < 0.05$, Table 1, Fig. 4). 또한 5군에서의 칼슘의 양이 다른 군에 비해 통계학적으로 유의하게 적었고($p < 0.01$) 이러한 양상은 2개월에서도 지속되었다($p < 0.05$). 3개월에는 2군(2.49 ± 0.99 mg/g)과 5군(1.02 ± 0.36 mg/g), 6군(2.92 ± 1.28 mg/g)뿐만 아니라 3군(4.26 ± 0.69 mg/g)과 4군(3.34 ± 1.04 mg/g)에서도 대조군(5.48 ± 0.78 mg/g)에 비해 칼슘의 양이 적었으며($p < 0.01$) 6개월에도 같은 양상이면서 칼슘 양의 차이가 더 커짐을 보였다. 또한 3개월에는 5군이 다른 군에 비해 칼슘의 양이 제일 적었으며($p < 0.01$) 6개월에는 2군(2.00 ± 1.33 mg/g)과 5군(1.95 ± 1.13 mg/g)에서 칼슘의 양이 제일 적었다($p < 0.01$).

고 찰

현재 국내에서 심장 수술 등에 이용하는 조직보철편은 모두 수입 완제품으로 경제적으로 환자에게 부담이 되고 있는 실정이나, 그 제작에 특별한 어려움이 있는 것도 아니므로 표준화된 방법으로 국내에서 자체 생산하는 것이 여러 이로우미 있을 것으로 생각된다. 지금까지 사용되고 있는 모든 보철편들은 정도의 차이는 있지만 인체 내에 이식 후 석회화의 진행에 따르는 증장기 성적의 문제점들이 계속 남아 있는바 이에 중점을 두고 연구 보완하면 기존의 수입 보철편보다 한결 우수한 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다. 이러한 조직 보철편, 대표적으로 우심낭 보철편은 GA에 고정 보존하는 방법이 일반적으로 이용되고 있는데, 이는 조직의 교원섬유들이 GA와 안정된 cross-link를 이루며 GA polymer를 표면에 형성하는 것을 이용한 것이지만, 이 GA의 자유 aldehyde기가 칼슘과 결합하는 것이 석회화의 주 원인으로 생각되고 있어[7,8,16] 이 aldehyde기의 결합부위를 다른 물질과 반응시켜 칼슘이 붙는 것을 방해하면 석회화를 예방할 수 있을 것이다. 본 실험에서도 GA에 마그네슘을 첨가하여 이러한 가설을 수용하였으며, 다른 연구자들은 GA에 고정하기 전 3가의 철로 전처치하는 방법[9], 계면활성제를 이용한 전처치법[9,14,15] 등을 발표한 바 있다. 본 연구에서는 인산화 지방의 심낭 조직 내로의 유입이 또 다른 석회화의 조건이 되느냐 계면활성제의 전처치로 계면활성제 SDS의 친수성 부위가 지방 및 인산 지방이 조직으로 이동하는 것을 막아주는 기전을 또한 이용하였다[12,13]. 이 계면활성제의 석회화 완화 효과의 다른 가설로는 항원성 높은 세포 표면의 가용성 단백질인 mucopolysaccharide, glycoprotein 등을 이 계면활성제가 제거하여 면역학적으로 석회화를 완화한다고도 하는데, 이의 효과는 앞서 발표한 결과[17]에서도 보여주고 있으며, 본 실험에서는 앞선 실험 결과에 따라 음이온 계면활성제인 SDS만을 이용하였다. 즉 SDS가 우심낭 편 표면의 세포 구성물을 용해하고 세포 외 간질층은 보존하여 중층의 elastin과 collagen network 등을 잘 유지하게 함으로서 석회화 완화 효과를 나타내는 것으로 해석할 수 있다.

조직의 석회화 완화에 대한 또 다른 시도로 glutamate 등의 아미노산이나 chitosan의 N-terminal기와 우심낭 표면에 결합하여 있는 GA의 자유 aldehyde가 결합하도록 하여 칼슘과 반응할 수 있는 팔을 줄여주는 시도로 GA에 고정 보관한 우심낭편을 이들 용액에 다시 한번 후처치하는 것

이다[10,11]. 이들의 효과는 연구자의 선행 실험에서 만족할 만한 결과를 보이지 못하였기에, 이들이 과포화 상태의 용액으로서 잉여의 미세한 고형 입자들이 표면에 이물질로 붙어 이에 의한 석회화 촉진 가능성 등을 고려하여 chitosan의 농도를 2%로 낮추어 보았으며 이를 다시 여과지에 걸러 사용함으로써 약간의 완화효과를 보였던 것으로 생각된다.

상기의 전처치 및 후처치가 어느 정도의 석회화 완화 효과를 보이고 있음에 이 두 가지 방법을 병행하면 상승 효과를 보일 것이라는 가정하에 시행한 결과는 glutamate의 경우 효과적인 것으로 보이고 있으나 chitosan의 경우는 효과를 판정하기 곤란하였다.

현미경 관찰 소견에서 칼슘의 침착은 이식 1개월째인 초기부터 관찰되고 있으며, 조직 접착면부터 시작될 것으로 기대하였으나, 침착 양상은 표층과 심층에 관계없이 전반적으로 발생하며 교원섬유를 둘러싸는 형태로 시작하여 점차 안으로 조여들며 침착이 확산되는 것을 알 수 있었다. 또한 이들의 수적 및 양적인 크기의 정도가 칼슘이 침착되는 양과 대략 비례하는 것으로 관찰되었으며 이것은 칼슘 침착의 양상을 규명하는 기본적 자료로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

SDS로 전처치하거나 glutamate 또는 chitosan으로 후처치하는 경우 모두 우심낭 석회화 방지에 도움이 되며 특히 SDS로 전처치 후 glutamate로 후처치하는 병행처치가 가장 효과적인 방법임을 알 수 있었다. 또한 석회화는 전층에 걸쳐 발생되며, 교원 섬유를 둘러싸는 형태에서 점차 안으로 조여들며 침착이 확산되는 것도 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Opie JC, Larrieu AJ, Cornell IS. *Pericardial substitutes: Delayed exploration 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 bioprostheses.* Circulation 1984;70(Suppl I):I-165-8.
3. Ahn JH, Kim YJ. *Investigation of bovine pericardial heterograft (I) -concentration of fixatives and tensile strength.* Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1989;22:373-83.
4. Kim KB, Kim YJ, Rho JR, Suh KP. *Investigation of bovine pericardial heterograft (II).* Korean J Thorac Cardiovasc

- Surg 1990;23:465-73.
5. Ahn JH, Noh YW, Rhee JH. *Pulmonary autograft with right ventricular outflow tract reconstruction in swine model.* Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1996;29:822-7.
 6. Liao K, Frater RWM, LaPietra A, et al. *Time-dependent effect of Glutaraldehyde on the tendency to calcify of both autografts and xenografts.* Ann Thorac Surg 1995;60:S343-7.
 7. Nimni ME. *The cross-linking and structure modification of the collagen matrix in the design of cardiovascular prosthesis.* J Cardiac Surg 1988;3:523-33.
 8. 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.
 9. Carpentier SM, Carpentier AF, Chen L, et al. *Calcium mitigation in bioprosthetic tissues by iron pretreatment: The challenge of iron leaching.* Ann Thorac Surg 1995;60:S332-8.
 10. Chandra J. *Prevention of calcification of heart valve bioprostheses: An experimental study in rat.* Ann Thorac Surg 1995;60:S339-42.
 11. Chandra J, Rao SB, Mohanty M, et al. *Prevention of calcification of tissue valves.* Artif Organs 1994;18:752-7.
 12. 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.
 13. 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.
 14. Allaire E, Guettier C, Bruneval P, Plissonnier D, Michel JB. *Cell-free arterial grafts: Morphologic characteristics of aortic isografts, allografts and xenografts in rats.* J Vasc Surg 1994;19:446-56.
 15. Lio K, Seifter E, Hoffman D, Yellin EL, Frater RWM. *Bovine pericardium versus porcine aortic valve: Comparison of tissue biological properties as prosthetic valves.* Artif Organs 1992;16:361-5.
 16. Carpentier SM, Monier MH, Shen M, Carpentier AF. *Do donor or recipient species influence calcification of bioprosthetic tissues?* Ann Thorac Surg 1995;60:S328-31.
 17. Ahn JH, Han JJ, Park SS. *Prevention of calcification in bovine pericardial bioprosthesis.* Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1998;31:560-6.

=국문 초록=

배경: 심장수술 등에 사용되고 있는 우심낭 보철편의 석회화 변성에 대한 문제점을 보완하기 위해 계면활성제의 전처리 및 아미노산 후처리 등의 방법을 이용, 석회화를 완화함으로써 보다 나은 보철편을 개발하여 임상에 적용하고자 한다. 대상 및 방법: 우심낭편을 glutaraldehyde (GA) 용액에 고정하여 보관한 대조군(1군), sodium dodecyl sulfate (SDS)로 전처리한 군(2군), 8% glutamate로 후처리한 군(3군), 4% chitosan 후처리 군(4군)으로 나누고, 다시 SDS 전처리한 후 glutamate로 후처리 군(5군) 및 chitosan으로 후처리 군(6군)으로 나누어 40 조각씩 백서의 복부 피하에 이식하여 한 달 간격으로 그 우심낭편을 수거, 시간에 따른 석회화 과정을 전자현미경을 통해 관찰하고 spectrophotometry로 칼슘을 정량하여 이러한 방법들이 석회화 완화에 미치는 효과를 연구한다. 결과: 1개월에 측정된 칼슘의 양은 2군과 5군 그리고 6군에서 대조군에 비해 통계학적으로 유의하게 적었다($p < 0.05$). 이러한 양상은 2개월에도 지속되었다($p < 0.05$). 3개월에는 2, 5, 6군뿐만 아니라 3, 4군에서도 칼슘의 양이 대조군보다 적었으며($p < 0.01$) 6개월에도 같은 양상이었고 그 차이가 더 많아졌다. 특히 5군은 1, 3개월에 다른 군들에 비해 칼슘의 양이 적었고($p < 0.01$), 2, 6개월에는 2군과 5군이 다른 군에 비해 칼슘의 양이 적었다($p < 0.01$). 전자 현미경 검사에서도 2군과 5군에서 칼슘의 양이 다른 군에 비해 적었다. 전자현미경 검경상 칼슘의 침착은 표층, 심층에 관계없이 전반적으로 발생하며 교원섬유를 둘러싸는 형태로 시작하여 점차 안으로 확산되는 양상을 관찰할 수 있었다. 결론: SDS로 전처리하거나 glutamate 또는 chitosan으로 후처리하는 경우 모두 우심낭 석회화 방지에 도움이 되며 특히 SDS로 전처리 후 glutamate로 후처리하는 병행처치가 가장 효과적인 방법이었다.

중심 단어 : 1. 석회화
2. 이중 조직
3. Glutaraldehyde
4. 계면활성제