

돼지에서 소와 돼지의 심낭을 단엽판막으로 이용한 우심실 유출로 형성술

이화여자대학교 의과대학 흉부외과학교실
안 재 호

= Abstract =

Right Ventricular Outflow Tract Reconstruction with Bovine and Porcine Composite Monocusp Valve in Swine Model

Jae Ho Ahn

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Ewha Womans University

Objective : Rastelli procedure for right ventricular outflow tract(RVOT) obstruction has many disadvantage especially for children. Instead of using the artificial valved conduit, we applied the REV procedure for preventing the valve re-replacement after growing and observed the fate of that patch.

Method : We performed REV procedure for RVOT reconstruction with our own hand-made monocusp patch composed of porcine pericardial cusp and bovine pericardial patch in 7 young piglets(15.3 ± 1.3 kg) and raised till adult pig(about 70 kg). After sacrificed the pig we explored their pulmonary arteries, monocusp patch and hearts.

Results : Without any stenotic residues in the pulmonary artery, we found the deformed monocusp patch with severe calcification, which deprived the adequate valve function, but kept the pig growing normally.

Conclusion : We are sure that this REV procedure with monocusp patch could be extendedly applied to the RVOT obstruction, but we need to develop the anti-calcification method for the heterograft patch.

KEY WORDS : RVOT obstruction · REV operation · Heterograft.

서 론

우심실 유출로 협착의 경우 시행하는 Rastelli operation은 인공판막을 삽입한 인조도관을 사용하게 되는 데¹⁾ 그에 따르는 여러 부작용을 고려하지 않을 수 없다.

현재까지 인공 심장판막의 발전에도 불구하고 아직 완전한 판막의 대체재는 개발되지 못하고 있는 실정이며 특히 소아의 경우 그 제한의 폭이 더욱 커지게 마련이다²⁾

³⁾ 우심실 유출로의 협착의 경우, 기계식 판막으로의 대체는 항응고제의 사용 및 환아의 체성장에 따라 수 차례의 재수술이 필요할 수 있다는 사실에서 문제점이 노출

되고⁸⁾, homograft로의 대체는 여러 유리한 점이 있으나 우리 나라의 경우 이의 확보가 어려워 공급의 문제점 때문에 이용이 어려운 실정이다. 이에 우심실 유출로 형성을 REV기법을 이용하면^{6,9)}, 인공판막이나 homograft의 사용을 배제할 수 있게 되어 그 공급의 문제점이 해결될 수 있다는 점에 착안, 본 실험에서는 성장 속도가 빠른 어린 돼지를 이용, 폐동맥 판막을 적출하고¹⁰⁾, 그 자리에 연구자가 자체 제작한 우심낭과 돈심낭을 이용한 monocusp을 덮어준 후, 성돈이 될 때까지 사육하여 관찰하므로써 인공적인 판막을 사용하지 않더라도 성장과 혈액학적 문제점이 없다는 것을 증명하고자 한다.

실험의 목적 및 방법

1. 실험 동물

본 실험은 소아에서 우심실 유출로를 heterograft monocusp patch로 재건한 후, 성인이 되었을 때 그 monocusp patch의 변형 정도 및 심장 기능을 관찰, 평가하기 위한 것으로, 이에 적합한 대상 실험 동물로는 성장 속도가 매우 빨라 생후 6개월이면 사람 성인의 체중에 해당되는 70kg 정도로까지 자랄 수 있는, 우리 나라 축산농가에 가장 많이 보급되어 그의 공급이 용이하고 값도 비교적 저렴한 Yorkshire-Landrace-Duroc 삼원 교잡종 돼지 7마리를 이용하여 진행하였다.

2. Monocusp patch의 준비

도축장에서 소의 심낭과 돼지의 심낭을 적출하여 Penicillin과 Streptomycin이 첨가된 차가운 생리 식염수에 담아 실험실로 운반한 후, 심낭의 지방 조직 및 주위의 필요 없는 부분을 제거하여 다듬은 다음 생리식염수로 잘 씻어 0.625%(pH 7.4)의 glutaraldehyde 용액에 일주일 정도 보관한다¹¹⁾. 실험 동물의 크기에 맞추어 가로, 세로 2~5cm 정도의 다양한 크기의 장방형 우심낭(두께 약 1mm)을 준비하고, 한편으로는 직경 1~2cm 정도의 다양한 거의 원형으로 오려낸 얇은(두께 0.4mm 이하) 돼지 심낭을 monocusp용으로 준비하여, 상기 준비된 우심낭에 6-0 prolene 연속 봉합으로 monocusp patch를 제작하고, 다시 이를 0.625% glutaraldehyde 용액(pH 7.4)에 담가 멸균, 고정 보관하여 실험에 사용할 수 있게 준비한다(Fig. 1).

3. 수술용 혈액의 준비

도축장에서 도축되기 직전의 돼지에 Halothane을 들



Fig. 1. Our hand-made monocusp patch, composed of thin porcine pericardium as the monocusp mounted on the thick bovine pericardium.

뺀 적신 gauze가 들은 vinyl 주머니를 돼지 코에 씌워 자연 흡입 마취시킨 뒤, 돼지가 완전히 제압되면 바로 목부분을 도살용 칼로 깊이 베어 경정맥을 노출시킨다. 준비해 간 멸균 현혈 백의 바늘을 이용 가능한 한 우심방 쪽으로 깊이 천자하여 혈액을 약 200~300cc 채취한다.

4. 수술 방법 및 술후 관리

생후 2개월 정도(약 15kg 전후)의 Yorkshire-Landrace-Duroc 삼원 교잡종 수컷 돼지를 ketamine(10mg/kg)과 atropine(0.05mg/kg)으로 근주하여 전처치하고 betadine 비누로 목욕을 시킨 후 V-형의 수술 고정대에 양와위로 고정시키고, 귀의 정맥을 통해 수액 및 Fentanyl, Norcurone 혹은 pancuronium을 주며 내경 5mm 정도의 내기도관을 삽관한다. Halothane이나 Enflurane으로 강제 흡입 마취를 시키면서 외경정맥과 경동맥을 노출시켜 동맥압 감시선 및 수액 공급선을 확보한다. 그후 수술 부위를 멸균 소독하고 정중 흉골 절개를 통해 심낭을 열고 심장을 노출시킨 뒤 heparine(300mg/kg)을 정주한다. 체외 순환용 동맥관을 원위부의 상행 대동맥에, 정맥관은 우심방을 통해 상대정맥과 하대정맥에 삽입 후 막형 산화기를 이용 체외순환을 시

작하여 체온을 28~29℃ 정도로 낮춘다. 대동맥과 폐동맥 사이를 완전히 박리해 놓고 동맥관을 결찰 분리한 후, 폐동맥을 종절개하여 폐동맥판막을 확인하며 완전히 제거한다. 준비한 monocusped patch를 제거된 폐동맥판막을 중심으로 폐동맥 위에 덮어 5-0 prolene으로 연속 봉합을 하여 수술을 마치고(Fig. 2) 체온을 38℃까지 올린 후 체의 순환을 점차 줄이면서 보통의 방법으로 제거한다. 체의 순환 삼관의 제거와 동시에 동맥압 등을 관찰하며 protamine sulfate를 주어 heparine을 중화시키고 두개의 흉관을 삼관한다. 수술 창상의 봉합이 끝나면 출혈량을 관찰하며 수혈을 충분히 하고 계속 흡입 마취를 지속하다 현저히 출혈이 줄어들면 바로 흉관을 제

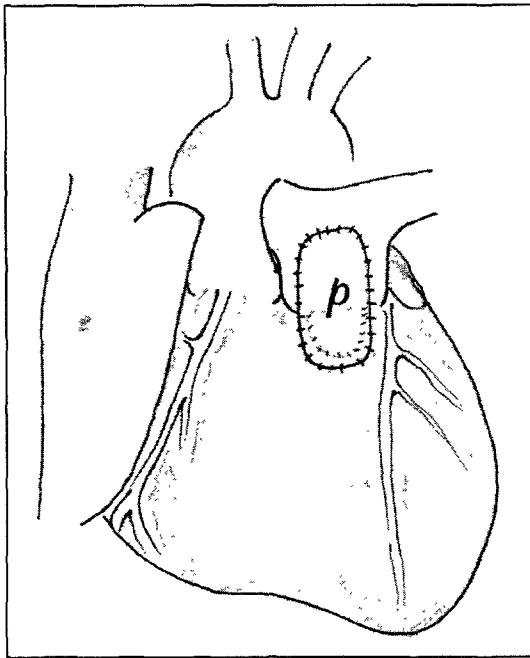


Fig. 2. The roof of the opened pulmonary artery was covered with our hand-made monocusped patch (p) after excision of the pulmonic valve.

거하고, 혈압 등을 관찰하며 심기능이 회복된다고 판단 시 나머지 정맥, 동맥선을 제거한 다음 흡입 마취를 중지하여 스스로의 자발 호흡을 유도한다. 내기도관을 제거하면 바로 관찰 우리에 옮겨 항생제를 이틀간 근주하며 물과 먹이를 준다. 열흘 정도 관찰 우리에서 키우다가 별 문제가 없으면 목장으로 옮겨 전문 사육사에 의해 3~4개월 키워져 70kg 정도가 되면 다시 실험실로 옮겨와 실험 결과를 관찰, 측정한다.

5. 수술 결과의 판정

큰 vinyl 봉지에 Halothane을 잔뜩 적신 헝겊을 넣고 돼지의 코에 덮어씌운 후 의식을 잃고 쓰러지면 곧 ketamine을 근주하고 수술대의 V-형 고정대에 양와위로 눕힌다. 귀의 정맥을 통해 수액과 atropine, ketamine 등을 투여하며 기관 절개술로 기도관을 삼관한 후, Halothane 흡입 마취 하에 심장내과적의 도움으로 심장 초음파검사를 시행하여 심장의 운동, 판막의 움직임, 역류의 유무 등을 관찰하고 곧 이어 흉골 절개로 심장을 노출시킨 후, 심장의 각 방 및 대동맥, 폐동맥압을 직접 측정한다. 모든 측정 끝나면 실혈을 시켜 다음 실험을 위한 혈액을 채취하고, 심장을 적출하여 육안 소견과 판막 부위의 병리 조직학적 소견을 관찰한다.

결 과

시행됐던 7례의 실험 결과를 종합하면, 수술 당시의 실험 돼지의 체중은 13~20kg(15.3±1.3kg)이었고, 폐동맥판막의 직경은 16±0.5mm이었다. 정량의 heparine 투여에도 ACT(activated clotting time)가 1000초 이상으로 나온 경우가 5례에서 관찰되어 필요 용량이 사람과는 차이가 있었다. 술후에 필요했던 수혈량은 500cc 정도로서 흉관을 통한 실혈량을 보면서 보충하였다. 회복기를 지나 사육장에서 65~78kg(71±5kg)으로 정상과 다를 없이

Table 1. Cardiac catheterization data after growing in experimented pigs

(단위 : mmHg)

	1	2	3	4	5	6	7
LV pressure	110/17	91/16	103/25	120/12	95/12	112/15	99/21
RV pressure	50/10	35/20	40/25	55/22	42/23	38/16	45/24
Aorta pressure	100/75	88/56	100/81	115/80	92/60	109/78	95/56
PA pressure	50/36	30/16	36/22	50/20		36/14	38/27
RA pressure	18		23	19			25
SVC pressure		23					

LV : left ventricle, RV : right ventricle, PA : pulmonary artery, RA : right atrium, SVC : superior vena cava

사용한 후 심장검사를 행하였다. 먼저 이들에 대한 심에코 검사를 시행한 결과, 폐동맥에서 monocusp 부위의 석회화 등이 관찰됐고, 폐동맥혈의 심장으로의 역류 등은 관찰되지 않았으나 그 영상이 선명하지 못하여 참고가 되지 못했다. 흉골의 절개 후 이들의 심장 및 동맥압, 정맥압 등을 측정한 결과는 Table 1에서 보이는 바이며, 충분한 혈관의 크기를 유지하고 있었고 폐동맥 모두에서 monocusp patch 부위에 주위 조직과의 유착이 심하게 있었다. 박리한 결과 모두 심한 석회화가 일어나 있었고 monocusp은 변형되어 patch 쪽으로 들쳐럼 굳어져 있어(Fig. 3) 판막으로서의 그 기능을 상실하고 있었음을 관찰할 수 있었다. 현미경 하에서도 돈심낭인 monocusp과 우심낭인 patch 모두 심한 석회화를 보이고 주변에 섬유화 및

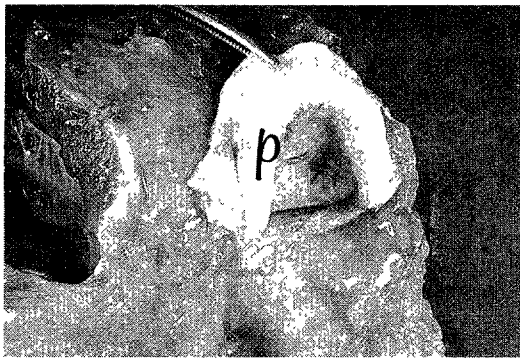


Fig. 3. Severely deformed and calcified monocusp patch (p) which was extracted from the recipient pig 3 months after implantation.



Fig. 4. Microscopic finding of the extracted, calcified monocusp patch. Upper portion is bovine pericardial patch (b) lower is porcine pericardial monocusp (p), which shows severe adhesion and calcification (c) between two structures. Fibrosis and mild inflammatory cell infiltration is noted on both cusp and patch.

미약한 염증 소견이 관찰되었다(Fig. 4).

고 안

우심실 유출로 재건에 이용되는 Rastelli 술식에서는¹⁾ 폐동맥 판막의 대체물로 이중 조직판막, 기계판막의 인공판막과 동종이식 판막 등이 사용되고 있으나 후자는 그 공급에 제한이 있고 특히 우리 나라에서는 전통적 가치관에 따라 사체의 훼손을 금기시하여 거의 구하기 힘든 상황이다. 이러한 Rastelli 술식의 단점을 극복하기 위해 Lecompte가 개발한 REV 술식^{6,7)}의 적용이 많이 보고되고 있으며 이는 완전한 폐동맥 판막의 영구적인 기능 유지를 기대할 수는 없지만 상기에서 지적했던 동종이식 판막의 지속적인 공급이 불가능한 우리에게는 그를 대체할 수 있는 가능성을 충분히 제시하고 있는 것이다. 처음 연구자도 REV 술식에 이용한 monocusp patch가 glutaraldehyde 용액에 보관되면서, 다른 조직 판막들에서의 결과처럼 석회화가 올 것을 예견하였으나^{2,4,5)} 3개월의 짧은 기간 내에 본 실험에서의 결과와 같은 심한 석회화를 보이리라고는 생각하지 못했다. 그러나 심장 기능에 큰 장애를 초래하지는 않고 있으므로 석회화에 의한 판막의 변성은 결정적인 문제점이라고는 볼 수 없었다.

실험동물의 선정은 그 동물이 실험의 목적에 부합하여야 하며 그의 공급에 어려움이 없어야 함은 당연한 명제이다. 돼지는 어디서나 항상 쉽게 구할 수 있고 구입가격도 저렴하므로 그런 점에서 아주 적합한 본 실험의 대상동물이 될 수 있으나 그 해부학적 및 생리적 특이성을 확실히 숙지하여야 한다. 먼저 기관의 구조인데 인체에서는 후두개가 기도의 전방에 위치하지만 돼지에서는 후방에도 후두개양 구조가 독립적으로 존재하고 특히 기관의 전방 막상 부위는 쉽게 파열되는 수가 있어 내기도관 삽관시 주의를 요한다. 폐동맥은 주폐동맥이 매우 길고 동맥관은 굵게 존재하나 혈류는 대개 없다. 그러나 혈관에 탄력성이 떨어지고 다른 동물들과 마찬가지로 쉽게 열상을 입는 등 수기 상으로 매우 섬세히 관리하여야 출혈 등의 문제를 피할 수 있다. 심폐기를 이용하는 개심술의 실험에는 술후의 수혈이 실험의 성패를 좌우하게 되는데 다행히 돼지의 피는 도축장에서 쉽게 구할 수 있으나 채혈에는 몇 가지 주의를 요한다. 먼저 돼지를 제압하는 방법으로 저지는 Halothane을 듬뿍 적신 gauze를

담은 vinyl 봉지를 이용하였다. Ether도 이용해 보았지만 효과가 확실치 않아 여러번 실패했던 경험이 있었다. 채혈 부위로는 경정맥을 이용하는데 목이 몹시 두꺼우므로 도살용 칼로 길고 깊게 자상을 낸 후, 준비한 실험 수술 기구로 나머지 조직을 박리하여 경정맥을 노출시킨다. 동맥으로부터는 지속적으로 많은 양의 채혈이 어렵지만 경정맥을 통해 우심방 근처에서 채혈을 하면 많은 양을 모을 수 있다. Citrate 채혈 백에 200cc 이상은 받지 않는 것이 좋다. 그 이상이면 쉽게 응고되어 못쓰게 되는 경우가 많다. 돼지에도 밝혀진 바로는 14가지 이상의 혈액형이 있지만¹²⁾ 무시하고 사용할 수밖에 없는데 저자들의 돼지를 이용한 다른 실험 중에도 수혈 반응으로 추정되는 원인으로 실패한 경우가 있었음¹³⁾ 참고하기 바란다. 돼지의 심장은 허혈성 자극에 몹시 약하고¹⁴⁾, 마취에서 깨어날 때 삼관된 내기도관에 몹시 저항하고 수술 후 24시간 내에 surfactant의 결핍 등으로 원인된다고 생각되는 신생아 호흡부전증 같은 증상을 보여¹⁵⁾¹⁶⁾ 수술 직후의 호흡 관리에 주의해야 한다. 수술에서 회복된 후에도 돼지는 주위의 stress에 과민하여 발육과 체중 증가에 장애를 보이므로 가능하면 술후 1~2주에 전문 사육 농장으로 이송하여 자극 없이 사육해야 정상적으로 발육한다고 한다.

REV 술식을 우심실 유출로의 재건에 이용하므로서 인공판막이나 homograft의 사용에 대체 효과를 갖는 이로운은 있으나, 장기적으로는 homograft의 적극적인 이용도¹⁵⁾ 고려되어야 할 것이며, 본 실험에서 관찰되듯이 3개월 내에 일어났던 glutaraldehyde로 처리한 monocusp에의 심한 석회화 현상은 해결되어야 할 과제이다. 이에 대해서는 glutaraldehyde 용액에 보관하기 전에 3가의 철 이온 용액에 전처치하는 방법¹⁶⁾, sodium dodecyl sulfate 등의 detergent로 전처치 하는 법¹⁹⁾, glutaraldehyde 보존액에 보관 후 chitosan 용액에 후처치하는 방법²⁰⁾ 등 탈광물 효과를 가진 여러 약제 등에 처리하여 이종 보철편이 석회화되는 것을 방지하거나 약화, 완화시키는 석회화 방지 방법이 연구되어야 하겠다.

결 론

본 실험을 통하여 REV 술식에 이종 보철편을 glutaraldehyde에 처리한 monocusp을 사용하므로서 수

술 직후 발생할 수 있는 우심실 부전을 막아주는데 주효하다는 것을 관찰하였다. 그리고 사용된 monocusp이 돼지를 이용한 본 실험에서는 3개월 이내에 석회화로 변형을 초래해 그 기능이 상실되었으나 돼지의 발육에는 장애를 초래하지 않아 그 임무는 충분히 다했다고 본다. 또한 기존의 glutaraldehyde 처리에 의한 판막의 보존법은 조직의 석회화를 보다 효과적으로 방지할 수 있는 방법을 적극적으로 연구하여 그 문제점을 해결해야 할 것으로 생각된다.

References

- 1) Rastelli GC : A new approach to "anatomic" repair of transposition of the great arteries. *Mayo Clin Proc* 1969 ; 44 : 1-12
- 2) Geha AS, Laks H, Stansel HC Jr, et al : Late failure of porcine valve heterografts in children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1979 ; 78 : 351-364
- 3) Wada J, Yokoyama M, Hashimoto A, et al : Long-term followup of artificial valves in patients under 15 years old. *Ann Thorac Surg* 1980 ; 29 : 519-521
- 4) Williams DB, Danielson GK, McGoan DC, Puga FJ, Mair DD, Edwards WD : Porcine heterograft valve replacement in children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982 ; 84 : 446-450
- 5) Silver MM, Pollock J, Silver MD, Williams WG, Trusler GA : Calcification in porcine xenograft valves in children. *Amer J cardiol* 1980 ; 45 : 685-689
- 6) Lecompte Y, Zannini L, Hazan E, et al : Anatomic correction of transposition of great arteries. New technique without use of a prosthetic conduit. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1981 ; 82 : 629-631
- 7) Lecompte Y, Neveux JY, Leca F, et al : Reconstruction of the pulmonary outflow tract without prosthetic conduit. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982 ; 84 : 727-733
- 8) Lecompte Y : Reparation a l'Etage Ventriculaire-The REV procedure : Technique and clinical results. *Cardiol Young* 1991 ; 1 : 63-70
- 9) 김진국 · 안재호 · 김용진 · 노준량 · 서경필 : 심장외 도관을 사용하지 않고 시행한 우심실 성형술. *대흉외지* 1988 ; 21 : 1124-1136
- 10) Ross DN : Replacement of the aortic and mitral valves with a pulmonary autograft. *Lancet* 1967 ; 2 : 956-958
- 11) 안재호 · 김용진 : 소의 심낭을 이용한 이종이식 보

- 철분의 개발(I)-고정액의 농도와 장력-대흉외지 1989 ; 22 : 373-383
- 12) Moustgaard, Hesselholt : *Swine in biomedical research. p.26-31 Pacific Northwest Laboratory 1966*
 - 13) Ahn JH, Knott-Craig CJ, Elkins RC, et al : *Growth of pulmonary autograft in swine. I. feasibility of the operation. 대흉외지 1995 ; 28 : 885-891*
 - 14) Cullum PA, Baum M, Clarke A, Wemyss-Gorman PB, Howard E, McClelland RMA : *Orthotopic transplantation of the pig heart. Thorax 1970 ; 25 : 744-747*
 - 15) Calne RY, Bitter-Suermann H, Davis DR, et al : *Orthotopic heart transplantation in the pig. Nature 1974 ; 247 : 140-142*
 - 16) Molina JE, Edwards J, Bianco R, Clack R, Rasmussen T, Lang G : *Growth of fresh-frozen pulmonary allograft conduit in growing lambs. Circulation 1989 ; 80(3) : 1183-1190*
 - 17) Gonzalez-Lavin L, Al-Janabi N, Ross DN : *Long-term results after aortic valve replacement with preserved aortic homografts. Ann Thorac Surg 1972 ; 13 : 594-605*
 - 18) Carpentier SM, Carpentier AF, Chen L, Shen M, Quintero LJ, Witzel TH : *Calcium mitigation in bio-prosthetic tissue by iron pretreatment : The challenge of iron leaching. Ann Thorac Surg 1995 ; 60 : S332-338*
 - 19) Carpentier A, Nashef A, Carpentier S, Ahmed A, Goussef N : *Techniques for prevention of calcification of valvular prostheses. Circulation 1984 ; 70 : 165-I 168*
 - 20) Chanda J : *Anticalcification treatment of pericardial prostheses. Biomaterials 1994 ; 15 : 465-469*