

계면활성제 전처리 및 아미노산 후처치의 병행처치가 우심낭 석회화 완화에 미치는 영향

원 태 희* · 장 지 원* · 유 지 영** · 안 재 호*

=Abstract=

Prevention of Calcification in Glutaraldehyde Treated Bovine Pericardium with Combined Treatment of Sodium Dodecyl Sulfate(SDS) and Glutamate

Taehee Won, M.D.*, Ji Won Jang, M.D.*, Ji Young You, M.D.**, Jae Ho Ahn, M.D.*

Background: Bovine pericardium treated with glutaraldehyde(GA) is one of the most popular prosthetic materials. However, its late calcific degeneration after implantation results in early failure of the prosthesis. Therefore, we investigated the effects of combined treatment with sodium dodecyl sulfate(SDS) and glutamate on calcific degeneration of GA treated bovine pericardium. **Material and Method:** Sixty square-shaped pieces of bovine pericardia were fixed in 0.625% GA solution with 4g/L $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ as a control group (group 1). Sixty pieces pretreated with 1% SDS (group 2) and sixty pieces posttreated with 8% glutamate (group 3) were also fixed in the same GA solution. Sixty pieces pretreated with 1% SDS and posttreated with 8% glutamate were also fixed in the same GA solution (group 4). After 1 month of fixation, the pieces were implanted into the belly of sixty Sprague-Dawley rat subdermally and were extracted 1 month, 2 months and 3 months after the implantation. With an atomic absorption spectrophotometry, we measured the calcium amount deposited. **Result:** The calcium deposition in 1 month was 2.01 ± 0.13 mg/g in group 1, 1.45 ± 0.31 mg/g in group 2, 2.49 ± 0.15 mg/g in group 3 and 0.75 ± 0.27 mg/g in group 4. In 2 months, it was 3.57 ± 0.15 mg/g in group 1, 0.98 ± 0.30 mg/g in group 2, 3.46 ± 0.12 mg/g in group 3, and 1.48 ± 0.39 mg/g in group 4, and 5.45 ± 0.42 mg/g in group 1, 2.43 ± 0.53 mg/g in group 2, 4.20 ± 0.55 mg/g in group 3, and 1.02 ± 0.27 mg/g in group 4 in 3 months. The calcium depositions in group 2 and 4 were less than those of group 1 and 3 in 1 month, 2 months, and 3 months($p < 0.01$). The calcium depositions in group 1, 2 and 3

*이화여자대학교 의과대학 부속 목동병원 흉부외과, 이화여자대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Ewha Womans University Mokdong Hospital, Ewha Womans University College of Medicine, Seoul, Korea.

**이화여자대학교 의과대학 부속 목동병원 응급의학과.

Department of Emergency Medicine, Ewha Womans University Mokdong Hospital, Ewha Womans University College of Medicine, Seoul, Korea

논문접수일 : 99년 6월 29일 심사통과일 : 99년 8월 10일

책임저자 : 안재호 (158-710) 서울특별시 양천구 목6동 911-1, 이화여자대학부속 목동병원 이화여자대학교 의과대학 흉부외과학교실.

(Tel) 02-650-5151, (Fax) 02-2649-4930, E-mail jhahn@mm.ewha.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다

increased with time. However, they remained unchanged in group 4, which was statistically significant($p < 0.01$). **Conclusion:** Pretreatment with SDS is effective in reducing calcification of GA treated bovine pericardium, and the combined method of pretreatment with SDS and posttreatment with glutamate was more effective than the other methods.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1999;32:998-1003)

Key word : 1. Calcinosis
2. Glutamate
3 Pericardium

서 론

최근 들어 복잡심기형 수술 및 재수술이 늘어남에 따라 혈관대체물질의 사용이 늘어나고 있으며 현재까지 여러 종류가 사용되고 있으나 아직까지 만족할만한 대체물질이 없는 상태이다. 이중 Glutaraldehyde(이하 GA라 함)로 처리한 우심낭 등의 이종이식편은 자가 조직의 이용이 불가능한 경우 가장 널리 사용되는 대체물질이며 현재까지 널리 사용되고 있다.

그러나 이러한 대체물질은 시간이 경과함에 따라 석회화되는 치명적인 단점을 보여주고 있으며 따라서 석회화를 줄이기 위한 여러가지 시도가 있어왔다.

본 연구자도 이종이식편의 석회화가 이종이식편에 붙어 있는 GA의 aldehyde기(-CHO)가 체내의 칼슘과 결합함으로써 생긴다는 것에 착안하여 그동안 GA용액에 마그네슘을 첨가하거나, Sodium Dodecyl Sulfate(이하 SDS로 함)로 전처리하거나 아미노산으로 후처리하는 등의 여러방법을 사용하여 석회화 완화 결과를 보고한 바 있다^{1~6)}.

따라서 이번 연구의 목적은 현재까지의 연구결과를 토대로 석회화 방지효과가 있다고 알려진 방법을 동시에 사용하여 석회화 방지효과를 각각의 방법과 비교 분석하는데 있다.

대상 및 방법

1) 우심낭의 수집, 처리 및 보관

우심낭을 수의사의 도움 하에 도살장에서 청결하게 채취, 1 L당 1 g의 황산 Streptomycin sulfate(종근당[®], 한국)과 1 g의 Cefamezine(동아제약[®], 한국)을 섞은 생리식염수 용액에 담아 냉장 상태로 실험실로 운반한 후, 우심낭 주위의 조직을 깨끗이 박리한 다음 240조각의 1 × 1 cm 정방형으로 재단하여 24시간 냉장 보관하였다. 60조각의 우심낭편은 대조군으로 삼아 MgCl₂ · 6H₂O(Sigma Co.[®], U.S.A.)를 4 g/L 첨가한 0.625% GA(Sigma Co.[®], U.S.A.)용액에 고정 및 한달간 보관하였고(1군), 60조각은 1% SDS(Sigma Co.[®], U.S.A.)용액에

30분간 전처리 후 생리식염수에 1시간 세척하여 같은 GA 용액에 고정 및 한달간 보관(2군), 60조각은 같은 GA 용액에 고정 및 한달간 보관 후 생리식염수에 30분 세척 후 8% sodium glutamate(Sigma Co.[®], U.S.A.)용액에 24시간 후처리(3군)하였고, 나머지 60조각은 1% SDS(Sigma Co.[®], U.S.A.)용액에 30분 전처리 후 생리식염수에 1시간 세척하여 같은 GA 용액에 고정 및 한달간 보관 후 생리식염수에 30분 세척 후 8% sodium glutamate(Sigma Co.[®], U.S.A.)용액에 24시간 후처리(4군)하였다. 그 후 이들을 보존액에서 꺼내어 각각 생리식염수에 30분 세척한 다음 백서 피하에 이식하였다.

2) 보철편의 백서 피하 이식

150 g 정도의 생후 1개월 미만인 30마리의 숫놈 Sprague-Dawley 백서(이화대 동물실험실)를 준비하여 12~15 mg/kg의 Ketalar(유한양행[®], 한국)을 복강 내로 주사해 마취시킨 후, 양와위로 기온되는 소동물 수술대 위에 고정시키고 복부의 털을 깨끗이 깎았다. Betadine용액으로 수술창이 될 부위를 잘 닦은 후, 피부와 피하 조직을 정중 절개하고 양쪽으로 피하층을 박리하여 좌우 4개씩의 pocket을 만든 다음, 위에서 준비된 1,2,3,4군의 우심낭편을 생리식염수에 30분 정도 잘 세척하여 여분의 GA를 제거한 후 좌우 pocket에 각각 한 조각씩 갈라서 심고 4-0나 5-0 polypropylene 봉합사를 사용하여 연속봉합으로 창상을 닫았다. 수술 직후와 다음날 Cefamezine(동아제약[®], 한국) 0.2 g을 근주하였으며, 실험동물 사육장에서 정상식으로 사육하였다. 이렇게 이식된 우심낭편을 이식 후 1개월, 2개월 및 3개월 후에 각 10마리 단위로 다시 수거하여 침착된 칼슘을 정량하였다.

3) 칼슘의 정량

정추 탈골로 마비시킨 실험 백서를 다시 수술대에 양와위로 고정시키고, 먼저의 수술창을 열어 우심낭편을 수거하였다. 이렇게 수거된 우심낭편을 24시간 이상 Freeze dryer(Labconco[®], U.S.A.)에서 냉동 건조시킨 후 각각 조직의 무게를 재었고, 2 ml Effendorf tube에 담아 6N HCl 용액 1 ml를

첨가 60°C warm incubator(비존과학[®], 한국)에서 가온하며 완전 용해될 때까지 24시간 이상 기다렸다. 이 완전 용해된 이식편 조직 용액에 Lanthanum(Sigma Co.[®], U.S.A.) 용액(5% Lanthanum, 3N HCl)을 첨가하여 모두 2 ml가 되도록 표준화한 후, 표준 칼슘 용액(in 0.5% Lanthanum, 0.6N HCl)을 표준 용액으로 사용, Atomic absorption spectrophotometer(Perkin-Elmer[®], U.S.A.)로 칼슘을 정량함으로써 네 군 간의 석회화 정도를 우심낭편 단위 무게당 칼슘량(mg/g)으로 계량화하였다.

4) 통계처리

모든 수치는 평균±표준오차로 표시하였으며 통계학적 분석은 각군에서 대조군과의 비교는 Wilcoxon Rank Sum test를 사용하였으며 각군마다의 시간에 따른 칼슘량의 변화와 각군간의 비교는 one way ANOVA test를 사용하였고 post hoc test(Dunnctt's test)로 검증하였다. 통계학적 유의수준은 0.05 ($p<0.05$)를 기준으로 하였다.

결 과

30마리의 백서 복부피하에 우심낭편을 이식후, 1개월, 2개월과 3개월이 경과하였을 때 10마리를 단위로 이 이식편을 20개 조직 적출하여 칼슘을 정량하였으며 결과는 표 1과 같았다(Table 1). 즉 이식후 1개월 째에 칼슘농도는 대조군(1군)에서 2.01 ± 0.13 mg/g, 2군에서 1.45 ± 0.31 mg/g, 3군에서 2.49 ± 0.15 mg/g, 4군에서 0.75 ± 0.27 mg/g으로 SDS로 전처리한 2군과 SDS 전처리 및 glutamate로 후처리한 4군에서 대조군에 비해 통계학적으로 유의하게 칼슘의 양이 적었으며($p<0.01$), 4군의 경우에는 2군이나 3군에 비해서 통계학적으로 유의하게 칼슘의 양이 적었다($p<0.01$). 2개월 째와 3개월 째에도 1개월째와 같은 양상을 보여, 대조군에 비해 2군과 4군에서 통계학적으로 유의하게 칼슘의 양이 적었으나($p<0.01$), 3군에 있어서는 대조군에 비해 차이가 없었다($p>0.05$).

또한 1, 2, 3군에서는 시간이 지남에 따라 칼슘의 양이 증가하는 양상을 보였으나($p<0.01$) 4군에 있어서는 1개월, 2개월, 3개월에 있어서는 칼슘의 양의 변화가 없었다($p>0.05$, Fig 1).

고 찰

다양하고 복잡한 심기형 수술 및 재수술 시 심장의 결손 교정에 자기 조직이 아닌 인공 및 이종 보철편의 사용이 필요하게 됨에 따라 다양한 대체체가 연구 개발되고 있다. 면역학적 적합성 관점에서는 자신의 조직을 이용하는 것이 가

장 이상적일 것이라는 데에는 이론의 여지가 없지만 자가 조직의 양적인 공급 제한으로 인해 동물로부터 얻어지는 이종 조직편으로 이를 대신하게 된다. 그러나 이러한 이종 조직편은 석회화라는 치명적인 약점을 갖고 있으며 이를 억제 또는 완화시키기 위하여 보존액의 성분 변화와 전처리 또는 후처리에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 현재까지 이들 조직 보철편의 보존에는 GA를 이용하는 방법이 가장 보편적으로 사용되고 있는데, 이는 우심낭편의 교원섬유들을 GA에 고정함으로써 aldehyde기와 안정된 교차결합(cross-link)을 이루며 GA 복합체를 표면에 형성하는 것을 이용하는 것이다⁷⁾. 본 연구자는 0.625% GA 용액이 가장 안정된 결과를 나타냄을 증명함바 있으며 이후 0.625% 용액을 사용하고 있다²⁾.

이렇게 보존한 이종 보철편의 이식 후 석회화의 기전으로는 조직과 결합한 GA의 자유 aldehyde기가 조직 및 혈중의 Ca^{2+} 과 결합함으로써 석회화가 시작, 진행되어 가는 것이라고 생각되고 있다⁸⁾. 이때 GA의 자유 aldehyde기의 결합 부위를 다른 물질과 반응시켜 칼슘이 붙는 것을 방해하여 석회화를 예방할 수 있을 것이다. 이에 외국의 연구자들은 여기에 3가의 철로 GA고정 전 전처리하여 칼슘의 결합을 방지하고자 하였고⁹⁾, sodium dodecyl sulfate 등의 계면활성제를 이용한 전처리 방법⁸⁾, glutamate 등 아미노산이나 chitosan의 N-말단기와 GA의 aldehyde가 결합하도록 하는 방법들을 연구하고 있다¹⁰⁻¹³⁾. 본 연구에서도 GA의 자유 aldehyde기가 Mg^{2+} 과 결합되도록 유도함으로써 Ca^{2+} 과 결합할 부위를 먼저 차단(blocking)시키려는 목적으로 Mg염을 GA 용액에 첨가하여 석회화 완화 효과를 기대하였다. 이와 함께 인산화 지방의 조직내로의 유입이 또 하나의 석회화 전제 조건이 되는 바 계면활성제의 친수성 부위가 지방 및 인산 지방이 조직으로 이동하는 것을 막아줌으로써 조직 석회화의 첫 번째 단계를 막아준다는 가설 하에 다양한 계면활성제들을 사용하여 석회화 완화 정도를 연구하였다⁷⁾. Stein 등은 중성 계면활성제가 단기의 석회화 방지에 효과가 있었던 것에 반해 음이온성 계면활성제는 효과가 떨어진다고 하였고^{14) 15)}, 이와는 다르게 중성 계면활성제에서는 석회화의 완화가 관찰되지 않았으나, 음이온성 계면활성제에서는 상당한 완화 효과를 관찰할 수 있었다고 한 보고도 있다⁶⁾. 계면활성제의 석회화 완화 효과의 다른 가설로 향원성이 높은 세포표면의 가용성 단백질인 당단백질, 뮤코다당체 등을 이 계면활성제가 제거하여 면역학적으로 석회화 기전을 약화시킨다는 연구도 있다⁷⁾. 본 연구자는 음이온성 계면활성제인 SDS가 석회화 완화 효과가 있음을 보고한 바 있으며 따라서 본 연구에서도 SDS를 이용한 전처리로 석회화 완화 효과를 다시 검증하고자 하였다.

Table 1. Deposited calcium(mg/g) in bovine pericardium after subcutaneous implantation in rat model

| Group | Month | 1 | 2 | 3 |
|-------|-------|-------------|-------------|-------------|
| 1 | | 2.01 ± 0.13 | 3.57 ± 0.15 | 5.45 ± 0.42 |
| 2 | | 1.45 ± 0.31 | 0.98 ± 0.30 | 2.43 ± 0.53 |
| 3 | | 2.49 ± 0.15 | 3.46 ± 0.12 | 4.20 ± 0.55 |
| 4 | | 0.75 ± 0.27 | 1.48 ± 0.39 | 1.02 ± 0.27 |

또한 Mg이 첨가된 0.625% GA용액으로 고정 보관한 우심낭편을 다시 glutamate용액에 처리함으로써 우심낭 표면에 결합해 있는 GA의 자유aldehyde기와 glutamate 분자의 N-말단기가 다시 상호 결합함으로써 칼슘과 결합할 수 있는 팔을 없애거나 줄이는 효과가 있는가를 관찰한 연구⁴⁾에 입각하여 glutamate를 이용하여 후처치로 역시 석회화 완화 효과를 다시 검증하고자 하였다.

즉 우심낭편을 SDS에 전처치한 후 Mg이 첨가된 GA용액에 일정기간 고정 보관한 군, 이 GA용액에 일정기간 고정 보관한 후 glutamate로 후처치한 군 그리고 이 두 방법을 병행한 군으로 나누어 준비한 후 각각 백서의 복부 피하에 이식한 후 일정 시간 간격으로 우심낭편을 수거하여 시간의 경과와 함께 석회화되어 가는 것을 칼슘 정량을 통해 관찰함으로써 이 전처치 및 후처치 효과가 석회화 완화에 미치는 효과를 연구하였다.

Table 1과 Fig. 1에 나타난 바와 같이 대조군인 1군에서는 시간이 지남에 따라 칼슘의 침착이 점점 진행되는 양상을 보였고, 이는 glutamate로 후처치한 제 3군에서도 다소 완화되어 보이나 비슷한 양상을 관찰할 수 있었다. 이는 안재호 등⁴⁾의 연구에서 나타난 바와 같이 glutamate 후처치가 석회화 완화에 효과가 없다는 것을 충족시키는 결과이지만 그들이 지적한 대로 8% glutamate용액은 실온에서는 잘 녹지 않고 가온하여야만 용융되는 과포화 상태인바 초기에는 오히려 석회화가 진행되는 방향으로 영향을 미치나 3개월 이후로는 더 이상의 칼슘 침착이 관찰되지 않고 있어 장기간의 성적이 규명되어야 할 것이라고 하였고 본 연구에서도 연구기간을 3개월로 하였기 때문에 그 이후의 효과는 예측하기 어려우리라 사료된다. 그리고 SDS로 전처치한 2군은 2개월째에 통계학적으로 유의한 정도의 칼슘 완화를 보였으나 3개월째에 다시 약간 증가하는 양상을 보였고 이는 SDS가 우심낭 표면의 세포 구성물(cellular structure)을 녹이고 세포 외 간질층(extracellular matrix)은 보존하여 중양의 탄력소(medial elastin), 콜라겐 네트워크만 유지시켜 석회화 완화 효과를 보인다는 주장으로 해석될 수 있겠다. 본 연구를 기획하면서 석회화 완화효과가 가장 우수하리라고 기대했던 제4

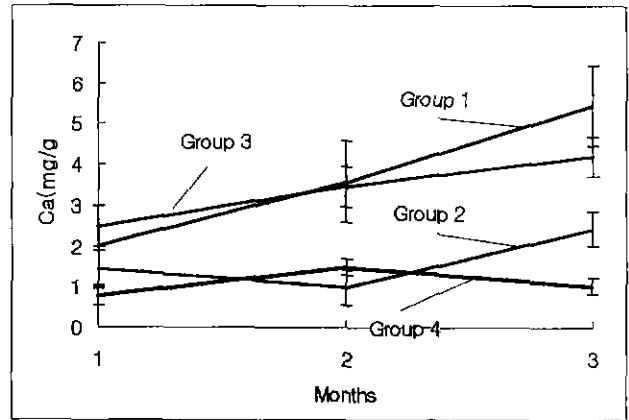


Fig. 1. Deposited calcium(mg/g) in the bovine pericardium after subcutaneous implantation in rat model

군, 즉 상기의 전처치와 후처치를 모두 시행한 군에서 다른 군들에 비해 칼슘 침착정도가 통계학적으로 유의한 정도의 낮은 수치를 보이고 있고 시간에 따라 칼슘 침착정도에 변화가 없어 4개의 군 중에서 가장 좋은 결과를 보여주고 있다. 즉 각각의 군마다 달리한 처치가 상호 보완적인 역할을 수행하여 우심낭 보철편의 석회화 완화에 상승 효과를 주었다고 생각된다. 이는 또한 3개월 정도의 짧은 기간임에도 불구하고 두드러진 효과를 보이므로 중장기 수술 성적에도 좋은 결과가 나오리라 예상되는 바이나 기간을 연장한 실험을 통해 검증이 필요하리라 사료된다.

심장 수술의 증가에 따르는 보철편의 수요 증가가 계속되는 상황에서 인공 보철편들과 타 동물로부터 채취 제작한 보철편들은 정도의 차이는 있지만 심장내 이식 후 석회화의 진행에 따르는 중장기 수술 성적의 미흡함이 계속 문제점으로 남아 있다. 이에 본 연구 등을 통해 기존의 수입 보철편보다 한결 우수한 석회화 방지 혹은 완화 효과를 갖는 보철편을 제작, 상품화할 수 있을 것으로 기대하며, 계속해서 석회화를 방지 혹은 완화시킬 수 있는 여러 가능성 있는 첨가제의 사용이나 세척액의 개발, 임상에서 수술 후의 새로운 약제사용 등의 방법 개발로서 환자의 장기 예후가 호전되도록 할 수 있을 것이다.

결 론

GA용액으로 처리한 우심낭의 석회화 완화정도에 있어 SDS로 전처치한 군에 있어 석회화 정도가 대조군에 비해 완화되었으며 특히 SDS로 전처치한 후 glutamate로 후처치한 군에 있어서, glutamate로 후처치한 한 군에서는 석회화 완화 효과가 없었음에도 불구하고, 가장 석회화 정도가 완화된 것을 관찰할 수 있었다. 또한 SDS로 전처치한 후 glutamate로 후처

치한 군은, 다른군에서는 시간이 경과함에 따라 칼슘의 침착이 증가하는데 비해, 시간에 따른 칼슘침착 증가가 나타나지 않았다. 이는 석회화 완화 효과가 있다고 알려진 각각의 방법들, 즉 마그네슘의 첨가, SDS의 전처리 및 glutamate의 후처리 등의 방법을 같이 사용할 때 상승효과를 나타남을 시사한다 하겠다.

참고 문헌

1. 김기봉, 김용진, 노준량, 서경필 소의 심낭을 이용한 이종이식 보철편의 개발(II) 대흉외지 1990;23:465-73.
2. 안재호, 김용진. 소의 심낭을 이용한 이종이식 보철편의 개발(I). 대흉외지 1989;22:373-83
3. 안재호, 노윤우, 이조한 등 돼지를 이용한 대동맥 판막에서 자가 폐동맥 판막이식 및 우심실 유출로 형성술의 신술식 개발. 대흉외지 1996;29:822-7.
4. 안재호, 박성수. 우심낭 보철편의 석회화 완화 연구 이화의대지 1997;20:411-5.
5. 안재호. 백서 피하에 이식된 우심낭편의 석회화 방지에 관한 연구. 대흉외지 1998;31:449-53.
6. 안재호, 한제진, 박성수. 우심낭편의 석회화 방지에 관한 연구-계면활성제 전처리 효과- 대흉외지 1989;31:560-6.
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. Carpentier A, Nashif A, Carpentier S, Ahmed A, Goussef N. *Technique for prevention of calcification of valvular bioprosthesis.* Circulation 1984;70(Suppl I):I-165-8
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. Chanda J. *Posttreatment with amino compounds effective in prevention of calcification of glutaraldehyde treated pericardium.* Artif Organs 1994;18:408-10.
11. Chanda J. *Anticalcification treatment of pericardial prostheses* Biomaterials 1994;15:465-469.
12. Chanda J, Rao SB, Mohanty M. et al. *Prevention of calcification of tissue valves* Artif Organs 1994;18:752-7.
13. Chanda J. *Prevention of calcification of heart valve bioprosthesis: An experimental study in rat* Ann Thorac Surg 1995;60:S339-42.
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.

=국문초록=

심혈관계 수술 시 이용되는 조직판막 등 glutaraldehyde(GA)에 보존한 이종보철편들은 이식후 석회화에 의한 변성으로 환자의 장기성적에 나쁜 영향을 준다. 이러한 석회화정도를 줄이기 위해 GA용액에 Mg 염을 첨가하여 자유 알데히드와 미리 결합하게 함으로 조직 및 혈중의 칼슘과 반응하는 것을 막아 보철편의 석회화를 완화하고자 시도하였고 계면활성제로 sodium dodecyl sulfate(SDS)를 사용하여 전처치한 군, amino acid인 glutamate로 후처치한 군, 그리고 SDS를 사용하여 전처치한 후 glutamate로 후처치한 군들을 GA에 고정하여 석회화 완화 효과를 관찰하였다. 우심낭을 정방형 조각으로 만들어 60조각은 대조군으로 $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 를 4 g/L 첨가한 0.625% GA 용액에 보존하고(1군), 60조각은 SDS에 전처치 후 이 GA 용액에 보존(2군), 60조각은 이 GA 용액에 보존한 후 8% sodium glutamate에 후처치(3군)하고, 나머지 60조각은 SDS에 전처치 후 이 GA 용액에 보존한 후 8% sodium glutamate에 후처치(4군)하여 이들을 30마리의 백서의 복부 피하에 각각 두 조각씩 이식하여 1개월, 2개월 및 3개월 째에 적출하여 spectrophotometry로 이 우심낭편에 침착한 칼슘을 측정하였다. 이식 후 1개월 째에 칼슘농도는 대조군(1군)에서 2.01 ± 0.13 mg/g, 2군에서 1.45 ± 0.31 mg/g, 3군에서 2.49 ± 0.15 mg/g, 4군에서 0.75 ± 0.27 mg/g으로 SDS로 전처치한 2군과 SDS 전처치 및 glutamate로 후처치한 4군에서 대조군에 비해 통계학적으로 유의하게 칼슘의 양이 적었으며($p < 0.01$), 4군의 경우에는 2군이나 3군에 비해서 통계학적으로 유의하게 칼슘의 양이 적었다($p < 0.01$). 2개월 째와 3개월 째에도 1개월 째와 같은 양상을 보여, 대조군에 비해 2군과 4군에서 통계학적으로 유의하게 칼슘의 양이 적었으나($p < 0.01$), 3군에 있어서는 대조군에 비해 차이가 없었다($p > 0.05$). 또한 1, 2, 3군에서는 시간이 지남에 따라 칼슘의 양이 증가하는 양상을 보였으나($p < 0.01$) 4군에 있어서는 1개월, 2개월, 3개월에 있어서는 칼슘의 양의 변화가 없었다($p > 0.05$, Fig 1.). 즉 SDS로 전처치하고 glutamate로 후처치하는 방법을 병행하여 사용할 때 우심낭의 석회화가 가장 효과적으로 방지된다는 것을 알 수 있었다

중심단어 : 1 glutamate
2. 석회화
3. 우심낭