

Hyaluronic Acid와 Sodium Carboxymethyl Cellulose 혼합용액(Guardix-sol[®])의 심장막유착 방지 효과에 관한 연구

이승암* · 김진식* · 김준석* · 황재준* · 이우성** · 김요한** · 최양규*** · 지현근*

A Study of the Effect of a Mixture of Hyaluronic Acid and Sodium Carboxymethyl Cellulose (Guardix-sol[®]) on the Prevention of Pericardial Adhesion

Song Am Lee, M.D.*, Jin Sik Kim, M.D.*, Jun Seok Kim, M.D.*, Jae Joon Hwang, M.D.*, Woo Sunng Lee, M.D.**, Yo Han Kim, M.D.**, Yang Kyu Choi, Ph.D.***, Hyun Keun Chee, M.D.*

Background: This study was designed to evaluate the efficacy of a mixture of hyaluronic acid and sodium carboxymethyl cellulose (Guardix-sol[®]) on experimental pericardial adhesion. **Material and Method:** Thirty rats were divided into 2 groups of 15 rats each and pericardial mesothelial injury was induced during surgery by abrasion. In the control group, blood and normal saline were administered into pericardium; in the test group, blood and HA-CMC solution were administered. Pericardial adhesions were evaluated at 2 weeks (n=5), 4 weeks (n=5), and 6 weeks (n=5) after surgery. The severity of adhesions was graded by macroscopic examination, and the adhesion tissue thickness was analyzed microscopically with Masson trichrome stain and an image processing program. **Result:** The test group had significantly lower macroscopic adhesion scores ($2.9 \pm 0.6 : 3.9 \pm 0.4$, $p < 0.000$) compared with the control group. For microscopic adhesion tissue thickness, the test group had lower scores compared with the control group, but this difference was not statistically significant ($91.73 \pm 49.91 : 117.67 \pm 46.4$, $p = 0.106$). **Conclusion:** We conclude that an HA-CMC solution (Guardix-sol[®]) reduces the formation of pericardial adhesions in this animal model.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2010;43:596-601)

Key words: 1. Pericardium
2. Adhesion
3. Animal model

*건국대학교 의학전문대학원 건국대학교병원 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Konkuk University Hospital, School of Medicine, Konkuk University

**건국대학교 의학전문대학원 충주병원 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Konkuk University Chungju Hospital, School of Medicine, Konkuk University

***건국대학교 수의학과

College of Veterinary Medicine, Konkuk University

†본 논문은 2009년 제41차 대한흉부외과학회 추계학술대회 및 아시아 흉부심장혈관학회 학술대회에서 포스터로 발표되었음.

‡본 논문은 2007년도 건국대학교 학술진흥연구비 지원에 의한 논문임.

논문접수일 : 2010년 6월 28일, 논문수정일 : 2010년 7월 27일, 심사통과일 : 2010년 8월 17일

책임저자 : 지현근 (143-729) 서울시 광진구 화양동 4-12번지, 건국대학교병원 흉부외과

(Tel) 02-2030-7591, (Fax) 02-2030-7749, E-mail: cheehk@hanmail.net

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

개심술 후에 발생하는 심장막유착은 재수술시 심장 환부로의 접근을 어렵게 하고, 수술 시간을 지연시키며, 유착박리로 인해 심장, 대혈관 및 관상동맥 또는 관상동맥 이식편 등에 손상을 줄 수 있어 유착 자체가 환자들에게 위험을 초래할 수 있다[1]. 또한, 재수술이 아니라도 심장 과 주위조직, 특히 심장막과의 심한 유착은 심장기능을 저해시킬 수 있으며[2], 관상동맥 이식편의 개통율을 감소시킬 수도 있다[3].

개심술의 보편화와 수술 후 사망률의 감소 등으로 장기 생존한 환자가 누적됨에 따라 갈수록 심장에 대한 재수술 빈도가 증가하며 이에 따라 개심술 후에 형성되는 심장막 유착을 예방하기 위한 노력이 여러 방면에서 지속되어 왔다[4-6]. 심장막 유착을 예방하기 위해 손상된 심막을 대체하거나[7-9], 심장막 유착의 발병기전에서 중요한 섬유소형성을 차단하는 물질을 투여하거나[10-13], 손상된 심장막의 섬유소용해능이 회복될 때까지 주변 조직과 차단하는 방법[14,15]이 제안되어 왔다.

본 연구는, 동물실험에서 복강내 유착방지 효과가 있는 것으로 알려진 hyaluronic acid (HA)와 sodium carboxymethyl cellulose (CMC)의 혼합용액(HA-CMC, Guardix-sol[®])을 사용하여 심장막에 대한 유착방지 효과를 관찰하였다.

대상 및 방법

1) 실험방법

실험동물은 실험동물전문업체(Japan SLC, Inc)에서 제공하는 흰쥐(Sprague-Dawley rats, Specific Pathogen Free Rats)를 사용하였다. 건국대학교실험동물연구센터(Konkuk Laboratory Animal Research Center)에서 1~2주간의 순응기를 거쳐 실험에 사용되었으며, 실험동물관리사가 실험 전후 사육 및 관리를 전담하였다.

Hyaluronic acid와 sodium carboxymethyl cellulose 혼합용액(HA-CMC)은 상품화되어 있는 Gardix-sol[®] (Biorane, Korea)을 사용하였으며, 마리당 0.2~0.3 g을 사용하였다.

250~400 gm 정도의 수컷 흰쥐를 대조군과 실험군으로 각각 15마리씩 구분하였다. Zoletil[®] (tiletamine/zolazepam) 20 mg/kg과 Rompun[®] (Xylazine hydrochloride) 7 mg/kg을 근주하여 마취를 유도한 후에 16-Gauge 정맥 도관(3S-CATH, Dukwoo medical co. Korea)을 사용하여 기관삽관을 시행하고 나서 Harvard 인공호흡기(Harvard roden ventilator, model

Table 1. Adhesion scoring system

Adhesion grade	Score	Definition
Grade I	0	No adhesion
Grade II	1	Filmy adhesions with easily identifiable plane
Grade III	2	Mild adhesions with freely identifiable plane
Grade IV	3	Moderate adhesions with difficult plane of dissection
Grade V	4	Dense adhesions with no plane of dissection

55-7059, Harvard Apparatus Company, S Natick, Mass, USA)를 이용하여 호기말 이산화탄소 분압이 35~40 mmHg로 유지될 수 있게 일회호기량(3~3.5 mL)과 분당호흡수(70~90회)를 조절하였다. 마취유지는 Isoflurane (Vaporizer 100 series, Surgivet, USA)으로 하였다.

앙와위 자세에서 사지를 결박하고 흰쥐의 검상돌기로부터 상방으로 정중흉골절개를 실시한 후에 노출된 심장막의 중앙을 세로로 절개하였다. 심장막 절개선을 기준으로 우측 심장막 쪽에는 아무런 처치를 하지 않으며, 좌측 심장표면과 심장막 안쪽 면을 면봉으로 10회 기계적 마찰을 가하고 나서 분당 5 liter의 산소를 1분간 주입하여 심장 표면을 건조시킨 후, 흉강에 고인 혈액 0.1~0.2 mL를 채취하여 심장막공간에 주입하였다. 대조군은 혈액을 주입할 때에 생리식염수액 0.3 mL를 추가로 주입하며, 실험군은 생리식염수액 대신에 HA-CMC용액 0.2~0.3 g을 주입하였다. 절개된 심장막은 6-0 prolene으로 봉합하였으며 흉골과 피부는 4-0 nylon으로 봉합하였다. 수술 후 동물의 자발 호흡이 돌아오면 기도삽관을 제거하고 체온을 유지시킬 수 있는 따뜻한 곳에서 회복시켰다. 수술 후 통증 증상(웅크림, 기면 등)이 관찰되면 carprofen (5~10 mg/kg)을 경구로 투여하였다.

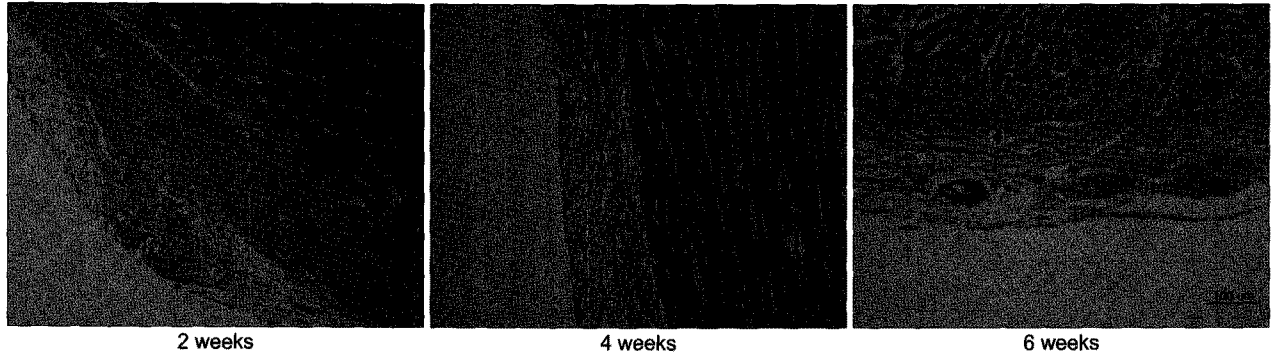
대조군과 실험군 각각 5마리씩은 실험 2주 후, 4주 후 및 6주 후에 이산화탄소를 이용하여 안락사 시킨 후 심장 과 심장낭을 절제해 내었다. 절제 과정에서 심낭에 손상이 가지 않도록 복강을 열고 횡격막을 절제한 다음 U-shape으로 늑골과 흉골을 함께 절제하였다. 절제하면서 육안으로 유착의 정도를 관찰하며, 절제된 조직은 10% 포르말린 용액에 고정하고 파라핀에 포매한 후에 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색과 Masson trichrome 염색을 하여 조직소견을 비교 분석하였다.

Table 2. Preoperative and postoperative details

	Control group (n=15)	Test group (n=15)	p-value
Preoperative body weight (gm)	302.4±48.4 (241 ~ 400)	318.9±28.8 (285 ~ 367)	0.267
Body weight at autopsy (gm)	402.0±55.3 (316.4 ~ 467.1)	417.0±28.0 (375.3 ~ 481.4)	0.780
Operative time (minute)	12.0±4.1 (9 ~ 20)	14.5±2.8 (10 ~ 20)	0.055

Statistical significance test was done by Mann-Whitney U-test.

Control groups



Test groups

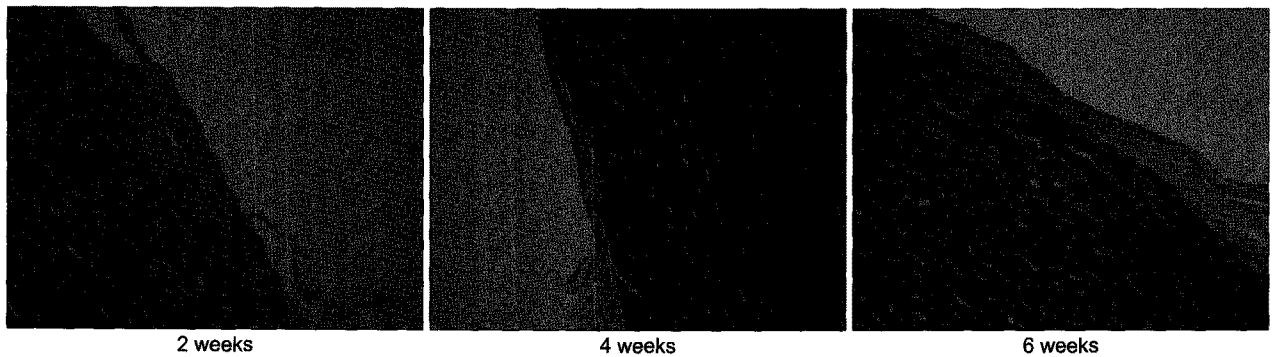


Fig. 1. Histologic finding. In the control group, the surface on the epicardial side was covered with a thicker layer of dense and extensive fibrosis (neotissue fibrils) than those of the test groups (Masson trichrome stain, magnification ×100).

2) 유착의 평가

육안소견과 광학현미경을 통해 대조군과 실험군의 심막유착의 정도를 평가하였다. 육안평가는 유착의 정도에 따라 0에서부터 4까지의 점수로 환산하여 비교 평가하였다(Table 1). 조직소견은 Hematoxylin-eosin 염색으로 관찰하고 Masson trichrome 염색을 통해 심막과 심근 사이의 유착조직(신생 콜라겐섬유)을 염색시켜 200배율에서 영상프로그램(DP manager, version 3.1.1.208, Olympus corporation, Japan)을 이용하여 두께를 측정하였다.

모든 측정값은 산술평균±표준편차로 표시하였다. 통계

처리는 Window용 SPSS 16.0프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였다. 군간의 비교는 비모수통계인 Mann-Whitney test를 이용하여 분석하며, 군내 비교는 Kruskal-Wallis test를 이용하였고 p-value는 0.05 이하를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

연구기간 동안에 사망한 동물은 없었다. 술전 체중 및 부검시 체중에서 두 군간의 차이는 없었으나 수술시간은 실험군에서 통계학적으로 유의하게 길었다(Table 2). 유착

Table 3. Result of adhesion score and adhesion tissue thickness

	Control group (n=15)	Test group (n=15)	p-value
Macroscopic adhesion score	3.9±0.4	2.9±0.6	0.000
Microscopic adhesion tissue thickness (micrometer)	117.67±46.4	91.73±49.91	0.106

Statistical significance test was done by Mann-Whitney U-test.

에 대한 육안평가에서 실험군에서 유착의 정도가 통계학적으로 의미있게 낮았다(2.9±0.6 vs 3.9±0.4, p-value 0.000). 조직검사상 대조군에서 광범위한 심막 섬유화와 함께 심막 자체에 심한 부종이 있고 두꺼워진 양상을 나타내었다. 또한 실험군에 비해 대조군에서 섬유아세포, 임파구 침착 및 신생 혈관의 수가 증가되어 있었다. 실험군의 경우 심막중피의 증식과 함께 경증의 섬유화 양상을 나타내었다(Fig. 1). 유착조직의 두께는 실험군에서 대조군보다 얇았으나 통계학적으로는 유의하지 않았다(Table 3). 대조군과 실험군에서 시간 경과에 따라(2주, 4주, 6주) 각각 육안평가에서 실험군에서 통계적으로 유의하게 유착의 정도가 낮았으나 유착조직의 두께는 유의하지 않았으며, 시간 경과에 따른 대조군내 및 실험군내 육안적 및 현미경적 차이는 없었다.

고 찰

재수술시에 수술의 어려움을 증가시키고 환자에게는 치명적인 손상을 초래할 수 있는 심장막유착은 수술시 발생하는 중피의 손상 및 혈액의 저류로 발생한다고 알려져 있다. Leak 등[15,16]은 실험을 통해 (1) 체액, 염증세포 및 섬유소의 여출 단계, (2) 손상된 중피세포의 박리와 중피 표면으로 염증세포의 응집 및 섬유소 침착 단계, (3) 섬유소용해와 신생결합조직으로 신생 혈관 및 림프관의 성장을 동반한 아교침착 단계, (4) 국소 유착 단계의 4단계로 심장막유착이 발생한다고 설명하였다.

이러한 심장막유착을 예방하기 위한 방법으로 polytetrafluoroethylene membrane[17], 실리콘[7], 소의 심장막[8] 및 흡수성 중합체[9] 등으로 손상된 심장막을 대체하는 방법이 연구되었으나 임상적으로 적용되지 못했다. 심장막 유착의 발병기전에서 중요한 섬유소형성을 차단하는 물질을 투여하는 방법으로 Urokinase와 Dextran[10], 헤파린용액[11], Taurin[12] 및 섬유소용해제[13] 등이 제시되었으나 임상적으로 효과가 적어 적용되지 못했으며, 손상된

심장막의 섬유소용해능력이 회복될 때까지 주변 조직과 차단하는 방법으로 Hyaluronic acid[18,19], Sodium carboxymethyl cellulose[20-25], 및 collagen[26] 등이 제안되어 활발하게 연구되고 있다.

Hyaluronic acid (HA)와 sodium carboxymethyl cellulose (CMC)는 눈의 유리체 및 관절 활액에 존재하는 생체적합적인 물질로 주위 조직의 유착을 방지하는 물질로 알려져 있다. Hyaluronic acid (HA)는 1,3-linked N-acetyl-D-glucosamine과 1,4-linked D-glucuronic acid의 반복단위로 구성된 음이온계 다당류로 고분자, 친수성, 점탄성을 나타내며, 이러한 특성으로 인해 점막표면을 코팅하여 윤활작용을 나타낼 수 있다. Sodium carboxymethyl cellulose (CMC)는 음이온계 다당류로서 친수화된 셀룰로오스의 유도체이다. 실제 사용은 주로 HA나 CMC 단독으로 사용되어 왔으며[18-24], 최근에 혼합용액을 복강내에 사용하여 좋은 결과를 나타내고 있고, 심장주위의 유착방지도 사용되기 시작하는 추세이다. Naito 등[15]은 동물실험에서 Hyaluronic acid 생체흡수성 막을 polytetrafluoroethylene membrane 및 자가 심장막과 함께 사용한 군에서 심장막유착이 적었다고 보고하였으며, 이석열 등[20]은 동물실험에서 sodium carboxymethyl cellulose 용액을 사용하여 유착방지에 효과가 있다고 보고하였다. Bristow 등[25]은 14명의 근치적 난소절제술을 시행받은 환자에서 복막 손상부위를 HA-CMC 막을 사용한 부분에서 사용하지 않은 부분보다 유착이 통계적으로 적었다고 보고하였다.

개심술 후 유착방지에 대한 많은 동물실험 및 임상연구가 보고 되고 있으나 현재 사용하기 쉽고 유용한 방법으로 실용화된 방법은 없는 상태이다. 최근에는 심장막유착 예방법으로 심장막을 대체하는 방법은 심각한 합병증을 야기할 수 있어 거의 사용되지 않으며[8], 손상된 심장막의 섬유소용해능력이 회복될 때까지 주변 조직과 차단하는 방법이 선호되고 있다. 심장과 심장막 사이에 막(barrier)을 형성하는 방법으로 용액형(solution type), 젤형(gel type), 막형(membranous type) 등으로 적용되어 왔다. 용액형은 중력에 따라 분포가 고르지 않으며, 수술후 배농시 모두 소실될 수 있어 효과가 적으며, 막형은 고른 장벽을 형성할 수 있다는 장점이 있으나 고정시 쉽게 찢어지고 좌심실쪽 등 굴곡이 심한 부위에 적용하기가 쉽지 않다는 단점이 있다. 복강과 다르게 심장막공간은 공간이 좁고 원형의 구조로 막형 차단제를 사용하는 데 제한이 있는 것이 현실이다. 젤형은 사용하기 쉽고, 추가 시간이 소요되지 않으며, 막형을 적용하기 힘든 부위까지 사용

가능하다는 장점이 있다.

본 연구는 사용하기 쉬운 젤형의 HA-CMC 혼합용액을 심장막유착 방지의 목적을 가지고 인체에 사용하는 것에 대한 기초 자료를 동물 실험을 통해 제공할 것이라고 사료된다.

결론

본 실험의 결과로 개심술 후에 발생할 수 있는 심장막 유착을 예방하기 위하여 심장막공간에 HA-CMC혼합용액의 투여는 유착의 빈도를 감소시키거나 예방할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 임상 적용을 위해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 판단되었다.

참고 문헌

1. Loop FD. *Catastrophic hemorrhage during sternal reentry.* Ann Thorac Surg 1984;37:271-2.
2. Bailey LL, Zejian L, Schulz E, Roost H, Yahiku P. *A cause of right ventricular dysfunction on after cardiac operations.* J Thorac Cardiovasc Surg 1984;87:539-42.
3. Urschel HC, Jr Razzuk MA, Gardner M. *Coronary artery bypass occlusion second to postcardiotomy syndrome.* Ann Thorac Surg 1976;22:528-31.
4. Ellis H. *The cause and prevention of postoperative intrapericardial adhesions.* Surg Gynecol Obstet 1980;133:497-511.
5. Cliff WJ, Grobety J, Ryon GB. *Postoperative pericardial adhesions.* J Thorac Cardiovasc Surg 1973;65:744-55.
6. Kayoglu HA, Ozkan N, Hazinedaroglu SM, Ersoy OF, Erkek AB, Korseoglu RD. *Comparison of adhesive properties of five different prosthetic materials used in hernioplasty.* J Invest Surg 2005;18:89-95.
7. Laks H, Hammond G, Geha AS. *Use of silicone rubber as a pericardial substitute to facilitate reoperation in cardiac surgery.* J Thorac Cardiovasc Surg 1981;82:88-92.
8. Mills SA. *Complications associated with the use of heterologous bovine pericardium for pericardial closure.* J Thorac Cardiovasc Surg 1986;92:446-9.
9. Malm T, Bowald S, Bylock A, Busch C. *Prevention of postoperative pericardial adhesions by closure of the pericardium with absorbable polymer patches. An experimental study.* J Thorac Cardiovasc Surg 1992;104:600-7.
10. Kim BJ, Kim SW, Lee HK. *Experimental studies for the prevention of pericardial adhesion with unrokinase and dextran 40.* Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1986;19:225-31.
11. Song IS, Lee HK. *The effect of heparin on prevention of pericardial adhesion.* Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1986;19:12-7.
12. Ahn SK, Kim DW, Cho KS. *Experimental study for the alleviation of pericardial adhesions by instillation of Taurolin.* Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1995;28:967-72.
13. Wiseman DM, Kamp L, Linsky CB, Jochen RF, Pang RH, Scholz PM. *Fibrinolytic drugs prevent pericardial adhesions in the rabbit.* J Surg Res 1992;53:362-8.
14. Seeger JM, Kaelin LD, Staples EM, et al. *Prevention of postoperative pericardial adhesions using tissue-protective solutions.* J Surg Res 1997;68:63-6.
15. Naito Y, Shin'oka T, Hibino N, Matsumura G, Kurosawa H. *A novel method to reduce pericardial adhesion: a combination technique with hyaluronic acid biocompatible membrane.* J Thorac Cardiovasc Surg 2008;135:850-6.
16. Leak LV, Ferrans VJ, Cohen SR, Eidbo EE, Jones M. *Animal model of acute pericarditis and its progression to pericardial fibrosis and adhesions: ultrastructural studies.* Am J Anat 1987;180:373-90.
17. Loebe M, Alexi-Meskhiishvili V, Weng Y, Hausdorf G, Hetzer R. *Use of polytetrafluoroethylene surgical membrane as a pericardial substitute in the correction of congenital heart defects.* Tex Heart Inst J 1993;20:213-7.
18. Yeo Y, Highley CB, Bellas E, et al. *In situ cross-linkable hyaluronic acid hydrogels prevent post-operative abdominal adhesions in a rabbit model.* Biomaterials 2006;27:4678-705.
19. Mitchell JD, Lee R, Neya K, Vlahakes GJ. *Reduction in experimental pericardial adhesions using a hyaluronic acid bioabsorbable membrane.* Eur J Cardiothorac Surg 1994;8:149-52.
20. Lee SY, Jeon CW, Lee MB, Lee KR, Koh ES, Uhm YI. *A experimental study for the effect of sodium carboxymethyl cellulose on prevention of pericardial adhesion.* Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2000;33:541-6.
21. Elkins TE, Bury RJ, Ritter JL, et al. *Adhesion prevention by solutions of sodium carboxymethyl cellulose in the rat. I.* Fertil Steril 1984;41:926-8.
22. Elkins TE, Ling FW, Ahokas RA, Abdella TN, Hornsey CA, Malinak LR. *Adhesion prevention by solutions of sodium carboxymethyl cellulose in the rat. II.* Fertil Steril 1984;41:929-32.
23. Fredericks CM, Korty I, Holtz G, Askalani AH, Serour GI. *Adhesion prevention in the rabbit with sodium carboxymethyl cellulose solutions.* Am J Obstet Gynecol 1986;155:667-70.
24. Heidrick GW, Pippitt CH Jr, Morgan MA, Thurnau GR. *Efficacy of intraperitoneal sodium carboxymethyl cellulose in preventing postoperative adhesion formation.* J Reprod Med 1994;39:575-8.
25. Bristow RE, Montz FJ. *Prevention of adhesion formation after radical hysterectomy using a sodium hyaluronate-carboxymethylcellulose (HA-CMC) barrier.* Gynecol Oncol 2005;99:301-8.
26. Bel A, Kachatryan L, Bruneval P, et al. *A new absorbable collagen membrane to reduce adhesions in cardiac surgery.* Interact Cardiovasc Thorac Surg 2010;10:213-6.

=국문 초록=

배경: 심장막유착에 hyaluronic acid와 sodium carboxymethyl cellulose 혼합용액(HA-CMC solution, Guardix-sol[®])의 유착방지 효과를 평가하기 위해 본 연구를 시행하였다. 대상 및 방법: 30마리의 흰쥐를 각각 15마리씩 2그룹으로 나누었으며 기계적 마찰을 통해 심장막 중피 손상을 유발시켰다. 대조군은 혈액과 생리식염수를, 실험군은 혈액과 HA-CMC 혼합용액을 심장막공간에 주입하였다. 수술 후 2주, 4주, 6주에 5마리씩 심장막유착의 정도를 평가하였다. 유착의 정도를 육안으로 평가하였으며, 유착조직의 두께는 Masson trichrome염색과 영상처리프로그램을 통해 현미경적 분석을 시행하였다. 결과: 육안적검사상 실험군에서 유착점수가 대조군에 비해 유의하게 낮았다(2.9 ± 0.6 : 3.9 ± 0.4 , $p < 0.000$). 실험군에서 유착조직두께는 대조군에 비해 낮았으나 통계적으로 유의하지는 않았다(91.73 ± 49.91 : 117.67 ± 46.4 , $p = 0.106$). 결론: 실험동물 모델에서 HA-CMC용액(Guardix-sol[®])의 유착형성을 감소시키는 것을 관찰하였다.

중심 단어 : 1. 심장막
2. 유착
3. 동물모델