돼지 우심실 조직편에서 cryoinjury가 심실빈맥에 미치는 효과 - 광학적 지도 분석 시스템을 이용한 분석 -

연세대학교 대학원 의 학 과 정 보 영

돼지 우심실 조직편에서 cryoinjury가 심실빈맥에 미치는 효과

- 광학적 지도 분석 시스템을 이용한 분석 -

지도교수 조 승 연

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함.

2005년 6월 29일

연세대학교 대학원

의학과

정 보 영

| 심사위원 | <u>୧</u>] |
|------|-------------|
| 심사위원 | <u>્</u> રી |
| 심사위원 | ગ |
| 심사위원 | ୍ରା |
| 심사위원 | <u>୧</u>] |

연세대학교 대학원

2005년 6월 일

감사의 글

본 논문의 시작부터 완성까지 체계적인 지도와 조언을 해주신 조 승연 교수님께 깊은 감사를 드리며, 본 연구에 대해 조언을 아끼지 않으신 김성순 교수님, 조상호 교수님, 백광세 교수님, 그리고 이문 형 교수님께도 고개 숙여 감사드립니다.

아울러 본 연구의 계획과 수행과정에서 지원과 노고를 아끼지 않으신 연세대 심장내과 교수님들과 바쁜 중에도 실험을 함께 해준 서정철, 김일권 선생님과 여러 가지 충고를 주신 서울대 구본권 교수님, 카톨릭대 오용석 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

성실과 사랑의 소중함을 가르쳐 주셨고, 언제나 기다려 주시며, 인생의 등불이 되어 주시며, 오늘의 제 모습을 만들어 주신 양가 부모님들, 힘이 되어 주는 가족들, 그리고 늘 곁에서 지켜주고 따뜻 한 지지를 아끼지 않으며 같이 기뻐하고 아파해 주었던 사랑하는 아내 김성진과 항상 새로운 미래를 만들어 가는 다은, 우인에게 이 논문을 바칩니다.

저 자 씀

차 례

| 국문요약1 |
|--|
| I. 서론 |
| II. 재료 및 방법 |
| 1. 연구 대상 |
| 2. 광학적 지도 분석 시스템 5 |
| 3. 장애물 형성 및 광학적 지도의 분석 |
| 4. 통계적 분석7 |
| III. 결과 ······ 8 |
| 1. Baseline 광학적 지도의 분석8 |
| 2. Cryoinjury를 이용한 비균일한 장애물 모델 구축13 |
| 3. Cryoinjury 장애물에 의한 광학 활성 전위파 주기의 변화17 |
| 4. Cryoinjury에 의한 리듬의 변화 20 |
| IV. 고찰 ··································· |
| V. 결론 27 |
| 참고문헌 |
| 영문요약 |

- 1 -

그림 차례

| Figure 1. Ventricular fibrillation |
|---|
| Figure 2. A ventricular contraction |
| Figure 3. The clockwise rotation of a wave front 10 |
| Figure 4. The end of clockwise rotation of three reentrant waves 11 |
| Figure 5. A wave front propagating bilaterally 12 |
| Figure 6. The figure 8 reentry |
| Figure 7. Block and the change of ventricular fibrillation to ventricular tachycardia |
| after cryoinjury |
| Figure 8. Intermittent conduction block and attachment after cryoinjury 15 |
| Figure 9. The clockwise rotation of a wave front after cryoinjury 16 |
| Figure 10. Changes of cycle length according to the time after cryoinjury 19 |
| Figure 11. Continuation of ventricular fibrillation after cryoinjury 20 |
| Figure 12. Coexistence of idioventricular rhythm and ventricular fibrillation |
| Figure 13. Termination of ventricular fibrillation by cryoinjury |

표 차례

Table 1. Changes of cycle length and tachycardia by cryoinjury 18

- 11 -

국문요약

돼지 우심실 조직편에서 cryoinjury가 심실빈맥에 미치는 효과

장애물에 의한 심실빈맥의 파면 변화에 대하여는 일부 연구가 이루어졌다. 하지만 기존의 연구들은 모두 균일한 장애물을 이용하여서 임상에서 주로 관찰되는 심근경 색 후 경색부와 경색 주변부를 가지는 비균일한 장애물에 의한 파면의 변화를 설명하 는데 한계성이 있다. 따라서 본 연구에서는 심실세동을 유발시킨 돼지의 우심실 관류 조직에 동결손상(croinjury)을 이용하여 만든 인공적인 장애물이 첫째, 전기 전도의 완전 장애를 보이는 손상부와 부분적인 장애을 보이는 주변부를 가진 비균일 한 장애물로서 작용할 수 있는지, 둘째, 심실빈맥의 파면에 미치는 영향을 알아보고, 세째, 파면을 안정화 시켜서 심실세동을 종료 혹은 심실빈맥으로 변화시킬 수 있는지 를 광학적 지도 분석 시스템을 이용하여 알아보고자 하였다.

전체 6마리 돼지의 심실세동을 유발시킨 우심실 관류 조직의 심외막면 (epicardial side)에 12mm 크기의 동결손상를 30초 동안 준 후 1분, 3분, 5분, 10 분, 그리고 특이한 파면이 관찰될 때 광학적 지도를 기록하여 이를 분석하였다.

총 35회의 동결손상 중 32회를 분석하였다. 모든 동결손상에서 1분째 손상부 와 주변부에 모두 전기적 현상이 없었으며, 3분과 5분째는 손상부에 전기적 현 상은 없으나 주변부의 전기적 현상이 부분적으로 회복되는 비균일한 장애물이 만들어짐을 확인하였다. 광학 형광 전위파 주기는 기저치 135.9±23.6 msec, 1분 째 176.2±79.3 msec, 3분째 187.6±97.9 msec, 5분째 185.5±19.2 msec, 그리고 10분 째는 152.1±64.1 msec 로 1분째, 3분째와 5분째에 기처치 보다 의미있게 증가하 였다 (p=0.001, p=0.006, p=0.016). 동결손상 후 리듬은 9회 (28.0%)에서는 심실빈 맥으로 전환되었고, 2회 (6.3%)에서는 세동이 종료되었다. 이러한 현상은 1회를 제외하고 10회 모두 5분 이내에서 관찰되었다.

결론적으로, 심실세동이 유발된 조직에서 동결손상에 의한 비균일한 인공적 장애물은 심실세동을 안정화시키는 효과를 보였으며 일부에서는 빈맥을 종료시 켰다. 하지만 이러한 효과에서 파면들의 장애물 주위로의 부착 현상이나 회전현

상이 관여하지는 않았으며 오히려 동결손상에 의한 전기현상이 감소되는 면적 의 정도와 연관이 있었다.

핵심 되는 말: 심실세동, 광학적 지도 분석 시스템, 우심실, 파면, 장애물

돼지 우심실 조직편에서 cryoinjury가 심실빈맥에 미치는 효과

<지도교수 조 승 연>

연세대학교 대학원 의학과

정 보 영

L서 론

심근 경색이 발생하면 심근에 전기적 현상이 없는 경색부(infarct region)와 감소된 주변부(border zone)가 발생하여 인공적인 장애물로 작용하여 심실빈맥을 유발하거 나 양상을 변화시킬 수 있다.^{1,2} 관동맥질환의 빈도가 높은 서구에서는 이러한 심근 경 색과 관련된 심실 부정맥이 많으며 임상적으로 중요하다.

부정맥의 기전에 대한 연구는 전기적 지도 분석 시스템(electrical mapping system), 최근에 개발된 광학적 지도 분석 시스템(optical mapping system), 그리고 컴퓨터의 발 달로 활발하게 이루어지고 있다. 인공적 장애물이 심실세동 파면(wave front)에 미치 는 영향에 대하여도 몇 가지 연구가 이루어져 왔다. Ikeda 등³은 돼지의 분리된 심방에 Valderrábano 등⁴은 돼지의 관류 우심실 모델에 다양한 크기의 구멍(hole)을 만들어 파 면에 미치는 영향을 관찰하였는데 특정한 크기의 장애물 주위로 회귀 파면이 발생하 며 세동에서 빈맥의 형태로 변화된다는 것을 전기적 지도 분석 시스템을 이용하여 관 찰하였다. 국내에는 정 등⁵이 돼지의 관류 우심실 모델에 구멍을 내어 심실세동에 미 치는 영향을 광학적지도분석시스템을 이용하여 비슷한 결과를 확인하였다. 하지만 기존의 연구들은 모두 심근에 구멍을 만드는 균일한 장애물을 이용하여서 임상에서 주로 관찰되는 심근경색 후 경색부와 경색 주변부를 가지는 비균일한 장애물에 의한 파면의 변화를 설명하는데 정확하지 않다. 따라서 실제 임상에서 발생하는 심근경색 병변에 의한 심실 빈맥/세동의 파면 변화를 좀 더 자세히 알 기위해서는 비균일한 인

공적 장애물의 동물모델이 필요하며, 이는 향후 심실세동의 연구와 약물개발에 중요 한 역할을 할 수 있을 것이다.

본 연구는 심실세동이 유발된 돼지의 우심실 관류 조직에서 첫째, 동결손상 (cryoinjury)이 심장의 전기적 현상이 완전히 손상된 "손상부"과 부분적으로 감소된 "주변부"를 형성하여 비균일한 장애물로서 작용할 수 있고, 둘째, 이러한 유형의 장 애물이 심실세동/빈맥의 파면에 영향을 미치고, 셋째, 파면을 안정화 시켜서 심실빈 맥으로 변화시키거나 심실세동을 종료시킬 수 있다는 가설을 확인하고자 하였다. 또 한 이를 통하여 새로운 심실세동의 동물모델을 확립하고 이해를 깊게 하려고 하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 연구 대상

실험동물은 성별에 무관하게 30~35 kg의 돼지를 사용하였고, 실험은 연세대학교 의과대학 임상의학 연구소 윤리위원회의 허가를 받아 시행하였다. 주사마취제인 Thiopental sodium을 30 mg/kg의 용량으로 투여한 후 흡인 마취제인 Isoflurane 과 100% 산소를 이용하여 전신 마취를 한 후 좌측 5번째 늑골간(intercostal space)을 통 하여 흉골 절개를 시행하여 신속하게 심장을 적출하였다.

적출된 심장은 Tyrode 용액(NaCl, 125.0; KCl, 4.5; MgCl₂, 0.5; CaCl₂ 0.54; NaH₂PO₄, 1.2; NaHCO₃ 24.0; glucose, 5.5; albumin 50 mg/L)에 담근 상태에서 우관 동맥(right coronary artery)에 5 French 폴리에틸렌 도자를 삽입하고, 이를 통하여 지속적으로 95% 산소가 용해된 Tyrode 용액을 30mL/분의 속도로 주입하였다. 이 때 Tyrode 용액의 온도는 4°C, pH는 7.4를 유지하였다. 동시에 우심실만을 심 장으로부터 분리하였고, 이때 분리된 우심실의 크기와 두께가 약 5x10 cm와 6 mm정도가 되게 하였다. 전체 심근에 Tyrode 용액이 적절하게 관류되도록 하기 위하여 우심실에 분포하고 있는 관동맥의 노출된 말단부를 3-0 실크로 결찰하였 다.

2. 광학적 지도 분석 시스템

광학적 지도 분석 시스템에 대하여는 기존의 다른 보고에서 자세히 설명이 되어있다.⁵⁻⁷ 간단하게 설명하면 조직욕조(tissue bath) 바닥에 우심실 조직을 핀으 로 고정한 후 우관동맥에 위치시킨 도자와 조직욕조를 통해 지속적으로 Tyrode 용액이 관류되게 하였다. 관류시스템에 순환되는 Tyrode 용액은 95% 산소가 혼 합되도록 하였고, 온도를 37℃로 유지시켰다. 형광 반응을 유발시키기 위해 di-4-ANEPPS(Molecular Probes, Inc,. Eugene, USA)를 1~2 µmol/L로 약 20분간 투 여하여 심근 조직 내에 축적시켰고, 형광 필터 안경을 이용하여 조직의 형광 발 산 정도 및 분포가 적절한지를 확인하였다.

조직이 준비가 되면 두 대의 500±30 nm 필터가 장착된 250 watts 텅스텐 할로 겐램프(model 66196, Oriel Stratford, CT)로 빛을 비춘 후 조직에서 발산되는 형광을 600 nm long-pass 필터(R60, Nikon Tokyo, Japan)와 25 mm/f 0.85 비디오 렌즈

(Fujinon CF 25L, Fuji Photo Optical Co)가 장착된 12비트 디지털 CCD 카메라 (Dalsa Inc., Waterloo, Canada)로 얻었다. 형광 활성도는 35x35-mm²의 면적의 96x96 위치 에서 pixel 당 0.27 mm의 공간 해상도로 한 번 기록 때마다 435 frames/초의 속도로 2.3초간 총 1000 frame을 기록하였다. 이렇게 얻은 자료는 LabVIEW 프로그램 (version 6.0, National Instrument, Austin, Texas, USA)을 이용하여 컴퓨터에서 분석하였다. 진동에 의한 간섭을 막기 위해 광학적 지도 분석 시스템은 항진동 테이블 (Shinhan, Inc., Siheung, Korea) 위에 설치되었다.

3. 장애물 형성 및 광학적 지도의 분석

돼지 우심실 조직은 대부분 체외 관류를 시작하면 자발적으로 심실세동이 발생 하였고, 일부 심실세동이 발생하지 않는 경우 급속조율을 이용하여 심실세동을 유 발시켰다. 심장의 움직임은 심실세동 동안 경미하여서 electromechanical uncoupling agents는 사용하지 않았다. 하지만 움직임에 따른 간섭 현상이 심한 경우 핀을 추가로 고정하여 심장의 움직임을 억제하였다. 우심실 심외막(epicardial) 조직의 실시간 형 광활성도를 확인하여 기본 영상을 기록한 후 주요 관동맥 분지를 피해서 12mm 크 기의 동결손상을 30초 동안 만들었다. 조직의 형광활성도는 심 외막 쪽에서 1분, 3 분, 5분, 10분, 그리고 특이한 상황이 관찰될 때 광학적 지도 분석 시스템을 이 용하여 기록하였다. 우심실 심외막의 전기적 현상이 완전히 회복되면 추가 동결 손상을 동일한 부분에 주었으며, 이러한 방법을 반복하여 시행하였다.

광학적 지도에서 탈분극된 조직은 붉은 색, 재분극된 조직은 푸른색으로 표시되 었다. 광학적 지도의 4지점에서 각각의 광학 활성 전위(optical action potential in fluorescence units)를 측정하였고 각 지점에서의 광학 활성 전위파의 평균 주기(cycle length)를 먼저 구한 후 이들의 평균값을 비교 분석에 이용하였다. 심실세동은 광학 적 지도에서 여러 부위에서 파면이 발생하며, 광학 활성 전위파의 형태가 비정형적 으로 지속되는 경우로 정의하였으며, 심실빈맥은 광학적 지도상 일정한 부위에서 파면이 발생하며, 광학 활성 전위파의 모양도 일정하며 이러한 현상이 영상이 기록 되는 전체 2.3초 동안 지속되는 경우로 정의하였다.

4. 통계적 분석

광학 활성 전위파의 주기는 평균±표준편차로 표시하였고 기저치와 동결손상 후

시간에 따른 차이는 Bonferroni 교정을 이용한 paired t-test를 이용하여 분석하였다. P값이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 유의하다고 정의하였고, 모든 통계학적 분 석은 SPSS 11.0을 이용하였다.

Ⅲ.결 과

1. Baseline 광학적 지도의 분석

총 6마리의 돼지를 이용하여 동물실험을 실행하였고, 6마리 모두에서 적절한 영상을 얻을 수 있었다. 모든 관류 우심실 조직편에서 자발적으로 심실세동이 발생하였다 (Figure 1).



Fig. 1. Ventricular fibrillation. A. Consecutive optical map snapshot of Pig No. 2. Multiple wave fronts appeared and disappeared at right lower and upper parts. Red represents depolarization and blue, repolarization. B. Local voltage signals (in fluorescence) at selected locations (circular numbers) were irregular with average cycle length of 133 msec. Shaded area represents the period of the simultaneous optical mapping.

일부 우심실 조직편에서는 Tyrode 용액 관류 초기에 심실세동이 바로 나타나 지 않고 다양한 형태의 파면이 관찰되었다. 3번째 돼지의 우심실 조직편의 경우 초기 Tyrode 용액 관류 5분 동안 간헐적인 심실박동이 관찰되었으며 (Figure 2), Tyrode 용액의 관류을 계속한 후 심실세동으로 전환되었다.



Fig. 2. A ventricular contraction. **A.** Consecutive optical map snapshot of Pig No. 3. Single large wavefront initiated from the right lower part (④) and propagated to left upper part (①). A red arrow represents the direction of propagation of the wave front. **B.** Local voltage signals (in fluorescence) at selected locations (circular numbers) shows upstroke of optical action potential initiated from right lower part and propagated to left upper part (white arrow).

5번째 돼지의 우심실 조직편의 경우 Tyrode 용액 관류 중 시계 방향의 회귀 파면이 관찰되었다. 이 회귀 파면은 우심실조직의 상부에서 발생하여 3 박동 동 안 약 480 ms 정도 지속되였다. 이때 파면의 중앙부에서 기록된 광학 활성 전 위파는 다른 부분에 비하여 현저하게 감소된 소견을 보였다 (Figure 3). 이후 파 면은 시작되었던 부분에서 종료되었으며 이어서 우측 하부에서 파면이 발생하 여 좌상부로 파면이 전달되었고 이전의 회귀파면의 중앙부의 광학 활성 전위파 신호는 다른 부분과 마찬가지로 회복되었다 (Figure 4).



Fig. 3. The clockwise rotation of a wave front. A. Consecutive optical map snapshot of Pig No. 5 after the perfusion of Tyrode solution for 5 minutes (830~1053ms). A large wave front initiated from upper part and clockwise rotated for 3 beats. B. Local voltage signals (in fluorescence) at selected locations (circular numbers). The center of a reentry (①) showed decreased signals compared with the other part (②). Shaded area represents the period of the simultaneous optical mapping.





Fig. 4. The end of clockwise rotation of three reentrant waves. A. Consecutive optical map snapshot of Pig No. 5 after the perfusion of Tyrode solution for 5 minutes (1097~1316 ms). The last reentrant wave front terminated at upper part, and a new wave front initiated from the right lower part and propagated to left upper part. B. Local voltage signals (in fluorescence) at selected locations (circular numbers). Signal at the center of the reentry (①) was recovered. Shaded area represents the period of the optical mapping images.

5번째 돼지의 우심실 조직편은 또한 3 박동 동안 파면이 중앙에서 시작되어 양측으로 진행되는 것이 관찰되었는데 이러한 현상은 실제 광학적 지도의 영상 뿐만 아니라 광학 활성 전위파를 조사하여도 알 수 있었다 (Figure 5).



Fig. 5. A wave front propagating bilaterally. A. Consecutive optical map snapshot of Pig No. 5 after the perfusion of Tyrode solution for 7 minutes (920~1072 ms). A large wave front initiated from the center and propagated bilaterally. **B.** Local voltage signals (in fluorescence) at selected locations (circular numbers). Signal initiated from the center (1) and propagated laterally ($2 \rightarrow 3 \rightarrow 4$). Shaded area represents the period of the simultaneous optical mapping.

5번째 돼지의 우심실 조직편은 관류 10분째 양측 상부에서 시작되어 중앙으 로 파면이 모이며 다시 양측으로 퍼지는 8자 회귀 현상(figure 8 reentry)이 관찰 되었다. 하지만 이러한 회귀 현상의 파면의 크기가 커서 양측의 어느 부위에서 파면이 종결되는지는 알기가 어려웠다. 8자 회귀가 이루어진 중앙부위에서 측정 한 광학활성신호는 다른 부위보다 감소되어 있었다 (Figure 6).



Fig. 6. The figure 8 reentry. **A.** Consecutive optical map snapshot of Pig No. 5 after the perfusion of Tyrode solution for 10 minutes (522~828 ms). Two large wave fronts initiated from both upper parts, converged, and propagated bilaterally. **B.** Local voltage signals (in fluorescence) at selected locations (circular numbers). Signals were decreased in the center (1) compared with other parts (2, 3, 4). Shaded area represents the period of the simultaneous optical mapping.

2. 동결손상을 이용한 비균일한 장애물 모델 구축

심실세동이 유발된 6개의 관류 우심실 조직편에 각각 3회에서 11회까지 총 35회의 동결손상을 만들었다 (Table 1). 모든 조직편에서 동결손상 후 1분째에는 손상부와 주변부에 광학 활성 전위 신호가 완전히 없어졌으며, 3분과 5분째는 조직편마다 약간의 차이는 있었으나 중앙부에서는 광학 활성 전위 신호가 관찰 되지 않고, 주변부는 부분적으로 회복되었고, 10분째에는 손상부와 주변부 모두 회복됨을 관찰할 수 있었다 (Figure 7). 또한 전기의 전도는 동결손상 장애물에

의하여 차단(block) 되었으며 광범위한 광학 활성 전위 신호가 없어진 경우 기존 에 존재하던 심실세동이 심실빈맥으로 전환됨이 관찰되었다 (Table 1, Figure 7).



Fig. 7. Block and the change of ventricular fibrillation to ventricular tachycardia after the cryoinjury. A. Consecutive optical map snapshot of pig No. 5 after 3 minutes of the cryoinjury (circle). A wave front was initiated from left lower part, propagated to right upper part, and blocked by cryoinjury. The rhythm changed to ventricular tachycardia. B. Local voltage signals (in fluorescence) at selected locations (circular numbers) arranged by time sequences after cryoinjury. The signal of border zone (③) and cryoinjury (④) recovered after 5minutes and 10 minutes of cryoinjury, respectively. Shaded area represents the period of the simultaneous optical mapping.

동결손상 장애물은 관류가 진행됨에 따라서 점점 회복되어서 손상의 정도에 따라서 다양한 전도장애 소견과 attachment현상을 보였다 (Figure 8).



Fig. 8. Intermittent conduction block and attachment. A. Consecutive optical map snapshot of of Pig No. 2 after 3 minutes of the cryoinjury (circle). Wave fronts initiated from right upper part (1) and propagated to left lower part (4). Some waves were blocked. Conducted wave fronts showed attachement at the cryoinjury site. B. Local voltage signals (in fluorescence) at selected locations (circular numbers). Some signals were blocked. Conducted signals were delayed at peri-injury (2) or injury site (3). Shaded area represents the period of the simultaneous optical mapping.

일부에서는 동결손상 장애물에 의한 파면의 회귀 현상이 관찰되었고, 기록된 것 중 가장 긴 것은 10 박동 동안 지속되었다. 마찬가지로 파면 회귀 현상의 중 앙 부분은 광학 활성 전위 신호가 감소되어 있었다 (Figure 9).



Fig. 9. The clockwise rotation of a wave front after cryoinjury. **A.** Consecutive optical map snapshot of pig No. 5 after 5 minutes of the cryoinjury (circle). A wave front initated from left upper, clockwise rotated for 10 beats. **B.** Local voltage signals (in fluorescence) at selected locations (circular numbers). Signals were decreased at the cyoinjury site (2) compared with reentry site (1). Shaded area represents the period of the simultaneous optical mapping.

3. 동결손상 장애물에 의한 광학 활성 전위파 주기의 변화

광학 형광 전위파 주기는 기저치 135.9±23.6 msec, 1분째 176.2±79.3 msec, 3분 째 187.6±97.9 msec, 5분째 185.5±19.2 msec, 그리고 10분째는 152.1±64.1 msec 였 다. 기저치와 동결손상 후 각 시간대의 광학 활성 전위파 주기의 변화를 Bonferroni 교정을 이용한 paired t-test를 이용하여 분석한 결과 1분째, 3분째와 5분 째에 각각 기처치 보다 의미있게 증가하였다 (p=0.001, p=0.006, p=0.016) (Table 1, Figure 12).

| No. of Pig | Cycle Length (msec) | | | | | |
|--------------|---------------------|--------------|--------------|--------------|------------------|--|
| (Cryoinjury) | Baseline | 1 min | 3 min | 5 min | 10 min | |
| 1 (1) | 150 | - | - | - | - | |
| 1 (2) | 161 | 274* | 262* | 248* | 189 | |
| 1 (3) | 170 | 251* | 251* | 271* | - | |
| 2 (1) | 133 | 138 | 166 | 161 | 152 | |
| 2 (2) | 115 | 147 | 136 | 122 | 147 | |
| 2 (3) | 115 | 129 | 216* | 170 | 145 | |
| 2 (4) | 124 | 156 | 136 | 136 | - | |
| 2 (5) | 136 | 170* | 127 | 124 | 110 | |
| 2 (6) | 113 | 110 | 140 | 124 | - | |
| 2 (7) | 124 | 99 | 106 | 94 | 117 | |
| 2 (8) | 101 | 143 | 182* | 167 | - | |
| 2 (9) | 167 | 170 | 177 | - | - | |
| 2 (10) | 177 | 140 | 138 | - | - | |
| 2 (11) | 138 | 179* | 185* | 168 | - | |
| 3 (1) | 124 | 166 | 193 | 179 | 136 | |
| 3 (2) | 140 | 138 | 117 | 124 | 108 | |
| 3 (3) | 101 | 129 | 124 | 120 | 99 | |
| 4 (1) | 129 | 177 | 182 | 216* | 200 | |
| 4 (2) | 160 | 166 | 124 | 136 | - | |
| 4 (3) | 122 | 212* | 375* | 370* | 367* | |
| 5 (1) | 170 | 361* | 260* | 251 | 242 | |
| 5 (2) | - | - | - | - | - | |
| 5 (3) | - | - | - | - | - | |
| 5 (4) | - | - | - | - | 610/124 † | |
| 5 (5) | 610/124* | 488 ‡ | 566 ‡ | 741 ‡ | 702/120* | |
| 5 (6) | 702/120* | 375/78* | 380 ‡ | - | - | |
| 6 (1) | 182 | 219 | 189 | 133 | - | |
| 6 (2) | 133 | 147 | 136 | 124 | 113 | |
| 6 (3) | 112 | 136 | 147 | 127 | 136 | |
| 6 (4) | 124 | 113 | 131 | 110 | - | |
| 6 (5) | 110 | 147 | 140 | 136 | - | |
| 6 (6) | 136 | 147 | 140 | 117 | - | |
| 6 (7) | 117 | 138 | 124 | - | - | |
| 6 (8) | 124 | 154 | 129 | 154 | 170 | |
| 6 (9) | 170 | 143 | 136 | - | - | |
| Total (35) | 135.9±23.6 | 176.2±79.3 | 187.6±97.9 | 185.5±129.2 | 152.1±64.1 | |

Table 1. Changes of cycle length and tachycardia by cryoinjury.

- * ventricular tachycardia
- * Coexistence of idoventricular rhythm and ventricular fibrillation
- **‡** Idioventricular rhythm



Fig. 10. Changes of cycle length according to the time after cryoinjury (paired t-test with Bonferroni correction).

* p = 0.001 : change of cycle length between baseline and 1 minutes after cryoinjury † p = 0.006 : change of cycle length between baseline and 3 minutes after cryoinjury ‡ p = 0.016 : change of cycle length between baseline and 5 minutes after cryoinjury

4. 동결손상에 의한 리듬의 변화

35회의 동결손상 후 얻어진 광학적 지도 영상 자료 중 5번째 돼지의 2, 3 번째 자료는 컴퓨터의 영상 저장시스템의 문제로 1번째 돼지의 1번째 자료는 영상의 질이 나빠서 판독이 불가능하였다. 판독이 가능한 32회의 자료 중 21회 (65.6%)는 심실세동이 동결손상 후 에도 지속되었다 (Table 1). 하지만 이 경우에도 동결손상 부위에 광학 활성 신호는 관찰되지 않았으며, 발생한 파면이 동결손상 장애물에 의하여 차단되었다. (Figure 11).



Fig. 11. Continuation of ventricular fibrillation after cryoinjury. A. Consecutive optical map snapshot of pig No. 6 after 5 minutes of the creation of the 4th cryoinjury (circle). Ventricular fibrillation persisted after cryoinjury. Multiple wave fronts were blocked by the cryoinjury. B. Local voltage signals (in fluorescence) at selected locations (circular numbers). Signals was not observed at the cryoinjury site (③). Shaded area represents the period of the simultaneous optical mapping.

동결손상 후 리듬은 9회(28.0%)에서는 심실빈맥으로 전환되었고(Figure 7), 2회 (6.3%)에서는 세동이 종료되었다. 이러한 현상은 1회를 제외하고 10회 모두 동 결손상 5분 이내에서 관찰되었다.

세동이 종료된 2회(12.5%)의 동결손상은 5번째 돼지에서 관찰되었다. 심실세 동이 종료되기 전 우심실 조직에서는 idioventricular rhythm과 심실세동이 공존함 이 관찰되었고(Figure 11), 심실세동은 추가적인 동결손상에 의해서 소실되었다 (Figure 12). 또한 동결손상이 회복됨에 따라서 심실세동이 다시 발생하였으며 추가적인 동결손상은 다시 심실세동을 종료시켰다.



Fig. 12. Coexistence of idioventricular rhythm and ventricular fibrillation. A. Consecutive optical map snapshot of Pig No. 5 after 15 minutes of the 4th cryoinjury (circle). Wave fronts of idioventricular rhythm were initiated from left upper part and propagated to left lower part (black arrow). Several wave fronts of ventricular fibrillation were initiated from left lateral part and disappeared at the cryoinjury site (red arrow). B. Local voltage signals (in fluorescence) at selected

locations (circular numbers). Signals of idioventricular rhythm (1), ventricular fibrillation (2), and cryoinjury site (3) were presented. Shaded area represents the period of the simultaneous optical mapping.



Fig. 13. Termination of ventricular fibrillation by cryoinjury. **A.** Consecutive optical map snapshot of pig No. 5 after 5 minutes of the 5th cryoinjury (circle). Idioventricular rhythm persisted. However, ventricular fibrillation was terminated. **B.** Local voltage signals (in fluorescence) at selected locations (circular numbers). Signals of idioventricular rhythm (①), previous fibrillation site (②) and the cryoinjury site were presented (③). Shaded area represents the period of the simultaneous optical mapping.

IV. 고 찰

본 연구에서 밝혀진 주요 결과들은 다음과 같다. 첫째, 심실세동이 있는 돼지 우심실 관류 조직편에서 동결손상은 비균일한 장애물로 작용할 수 있으며, 둘 째, 비균일한 장애물은 파면의 차단, attachment, 회귀를 일으킬 수 있었으며. 셋 째, 조직 내 장애물의 존재는 광학 활성 전위파의 주기를 길어지게 하였으며, 넷째, 조직 내 장애물은 심실세동을 심실빈맥으로의 전환하였으며 종료시키는 경우도 있었다.

지금까지 밝혀진 심실세동의 기전에 대한 중요한 가설은 Moe 등⁸이 제시한 새로운 wavebreak들 자체가 심실세동 유지의 원인이라는 "multiple wavelet 가설"과 Gray 등⁹ 이 제시한 빠르게 흥분하는 focal source에서 형성된 파면이 심장 전체에 1:1 전도가 안 되어 발생한다는 "focal source 가설"이다. 최근에 Wu 등¹⁰은 빠른 심실세동과 느린 심실세동 두 가지가 동일한 심장에서 상태에 따라서 공존할 수 있음을 토끼 심장에서 보고하였다. Chen 등¹¹은 빠른 심실세동은 "multiple wavelet 가설"과 연관이 되어있으 며 느린 심실세동는 "focal source 가설"과 연관되어 있을 것으로 설명하였다. 하지만 심실세동의 발생과 유지 기전에 관한 동력학(dynamics) 등에 대하여 지금까지 알려진 가설로 모두 설명할 수 없으며 추가 연구가 필요한 실정이다.

본 연구에서는 동결손상을 이용하여 만들어진 심실내의 비균일한 장애물과 심 실세동의 동역학과의 관계를 광학적 지도 분석 시스템을 이용하여 조사하였다. 동결손상은 전기적 현상이 없는 손상부와 부분적으로 관찰되는 주변부를 가진 비균일한 장애물을 형상하였다. 또한 손상의 회복 정도에 따라 손상 전에는 관 찰되지 않았던 다양한 형태의 전도 차단, 지연, attachment 현상을 보였다. 따라 서 이러한 비균일한 장애물은 실제 임상에서 심근 경색 후 발생하는 비균일한 장애물과 유사한 성상을 가지므로 이에 따른 심실세동의 변화에 이해하는데 도 움을 줄 것으로 기대된다.

심근내 장애물에 의하여 심실세동이 빈맥으로의 전환됨은 기존의 연구에서도 보고되었다.³⁵ 이러한 현상은 장애물에 의한 파면의 회귀 현상과 심근 질량의 감 소가 원인이 될 수 있다. 심실세동이 빈맥으로 전환되는 기전이 파면의 장애물 주위 회귀 현상임을 증명하기 위해서는 장애물 주위의 안정적인 회귀 현상을 관 찰하여야 한다. 파면의 회귀 현상은 장애물이 클수록 자주 관찰되었으나 안정적 인 회귀 현상은 관찰할 수 없었다.³⁵ 이러한 원인으로는 심근 조직에 비하여 상

대적으로 장애물의 크기가 작은 것이 문제가 될 수 있으며 크기가 더 큰 장애물 을 만들면 지속적인 회귀 현상이 관찰될 가능성이 있다. 하지만 기존의 연구에서 와 같이 심장의 전층에 구멍을 만들어 장애물을 만드는 경우 장애물의 크기가 너무 크거나 수가 많아지는 경우 관류 장애로 조직의 생존 시간이 짧아지는 제 한점이 있었다.⁵ 이러한 문제는 본 연구에서처럼 심근의 관류에는 직접적으로 영 향을 주지 않으면서 전기 현상은 억제하여 장애물로 작용하는 동결손상을 이용 하면 해결할 수 있을 것으로 기대된다.

본 연구에서 이용된 동결손상의 크기는 12mm였으며, 실제로 손상부 주변에 전기적 현상의 감소까지 고려하면 장애물의 크기는 더욱 크다고 할 수 있다. 하 지만 장애물 주위로 회귀 현상은 동결손상 전에 최고 3 박동까지 관찰되었던 것에 비하여 동결손상 후 최고 10 박동으로 늘어났으나 안정적인 회귀현상이 관찰되는 경우는 없었다. 또한 심실빈맥으로 전환된 9회의 동결손상을 분석하였 으나 인공적인 비균일한 장애물 주변에 안정적인 회귀현상으로 인해서 심실빈 맥으로 전환되는 것을 관찰 할 수는 없었다. 흥미로운 점은 심실빈맥은 10분 이 후의 영상에서는 1회에서만 관찰되었으며 그 외 모두 동결손상 후 5분이내의 영상에서 관찰되었으며 광학 활성 전위파의 주기도 이 시기에 의미 있게 상승 하였다는 사실이다. 이러한 점은 5분이내의 동결손상에 의한 광학 활성 전위파 의 감소 부위가 크다는 점을 고려할 때 심근의 질량의 감소 효과가 심실세동의 빈맥으로 전환의 기전으로 작용하였음을 의미한다고 할 수 있다. 또한 5번째 돼 지의 우심실 조직편의 경우 동결손상 후 조직의 절반은 idioventricular rhythm을 보이며 나머지 절반은 심실세동을 보였으며 추가적인 동결손상으로 세동이 종 료됨을 관찰할 수 있었다 (Figure 11, 12). 또한 손상이 회복됨에 따라서 세동은 다시 발생하였으며, 추가 동결손상으로 세동은 종료되었다. 이러한 현상은 세동 의 종료와 심근 질량(mass) 혹은 전기적으로 흥분될 수 있는 면적과의 연관성을 분명하게 보여 준다고 할 수 있다.

Kim 등¹²은 돼지 우심실 관류 모델에서 질량의 감소 후 유두근(papillary muscle)에 파면의 회귀가 형성되고, Pak 등¹³은 토끼 모델에서 마찬가지로 베타 차단제의 투여 후 유두근에 파면의 회귀가 형성되며 이 부위에 동결손상을 주 어서 심실빈맥을 종료시킬 수 있음을 보고하였다. 하지만 본 연구에서는 심내막 (endocardial)의 지도 분석을 하지 않아서 유두근과 파면의 연관 관계를 정확한 언급하기는 어렵다.

일반적으로 심실세동의 경우 약물치료에 대한 반응이 나쁘고, 즉시 치료하지

않는 경우 사망에 이르는 치명적인 질환이므로 최근에는 체내 삽입형 제세동기 가 확실한 치료로 제시되고 있다.^{14,15} 이 경우 심실세동의 발생을 예방한다기 보 다는 심실세동 지속을 예방하여 사망을 막는다고 할 수 있다. 따라서 장애물에 의한 심실세동의 심실빈맥으로의 전환은 심실세동의 치료에 대한 새로운 가능 성을 제시한다. 본 연구 및 이전의 연구 결과들을 고려할 때 심실 내에 수술적 또는 고주파 에너지를 이용한 장애물을 만들어 심근의 질량을 감소시킬 수 있 다면 심실세동의 발생을 막을 수 있거나 약물치료에 대한 반응을 변화시킬 수 도 있을 것으로 생각된다. 그러나 모의실험에서 조직의 전 층이 아닌 일부 층에 만 국한된 장애물을 만드는 경우 장애물에 대한 회귀파면의 접촉이 불안정하다 는 연구 결과도 있으며¹⁶ 장애물의 형성에 따른 새로운 부정맥 발생의 문제점이 있으므로 치료법의 실제 적용 여부에 대해서는 더 많은 연구들을 필요로 할 것 으로 생각된다.

V. 결 론

 1) 심실세동이 유도된 돼지 우심실 관류 조직편에서 동결손상은 비균일한 장 애물로 작용할 수 있었다.

2) 동결손상에 의한 비균일한 장애물은 파면의 차단, attachment, 회귀를 일으
킬 수 있었다. 그러나 장애물을 만든 상태에서도 지속적이고 안정적인 회귀파면
을 유도할 수는 없었다.

 조직편 내 동결손상 장애물의 존재는 광학 활성 전위파의 주기를 길어지게 하였다.

4) 조직편 내 동결손상 장애물은 일부 조직에서 심실세동을 심실빈맥으로의 전환하였으며, 심실빈맥을 종료시키는 경우도 있었다.

종합해보면 심실세동이 유도된 돼지 우심실 관류 조직편에서 동결손상은 비 균일한 장애물로 작용할 수 있었으며, 파면의 차단, attchment, 회귀를 일으킬 수 있었다. 동결손상은 세동 주기를 증가시켜 항 세동 효과를 나타낸다는 것을 확인할 수 있었으나 이러한 현상은 장애물 주위로의 지속적인 회귀 파면의 유 도보다는 동결손상에 의한 전기현상이 감소되는 부분의 정도와 연관이 있었다.

참 고 문 헌

- de Bakker JM, Janse MJ. Pathophysiological correlates of ventricular tachycardia in hearts with a healed infarct. In Zipes DP, Jalife J (eds): Cardiac Electrophysilogy: From Cell to Bedside, 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders, 2000, p415-421.
- Peters Z-J, Croft JB, Giles WH, Mensah GA. Sudden cardiac death in the United States, 1989 to 1998. Circulation 1998; 104: 2158-2163.
- Ikeda T, Yashima M, Uchida T, Hough D, Fishbein MC, Mandel WJ, et al. Attachment of meandering reentrant wave fronts to anatomic obstacles in the atrium: Role of the obstacle size. Circ Res 1997; 81: 753-764
- 4. Valderrabano M, Kim YH, Yashima M, Wu TJ, Karagueuzian HS, Chen PS. Obstacle-induced transition from ventricular fibrillation to tachycardia in isolated swine right ventricles: insights into the transition dynamics and implications for the critical mass. J Am Coll Cardiol 2000; 36: 2000-2008.
- 5. 정보영, 구본권, 서정철, 김일권, 이문형, 김성순. 심실 내 장애물에 의한 심실세 동의 동역학적 변화. 순환기 2005; 35: 183-191
- Lee MH, Qu Z, Fishbein GA, Lamp S, Lamp ST, Chang EH, et al. Patterns of wave break during ventricular fibrillation in isolated swine right ventricle. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001; 281: H253-265.
- Lee MH, Lin S-F, Ohara T, Omichi C, Okuyama Y, Chudin E, et al. Effects of diacetyl monoxime and cytochalasin D on ventricular fibrillation in swine right ventricles. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001; 280: H2689-2696.
- 8. Moe GK. On the multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. Arch Int Pharmacodyn Ther 1962;140:183-188.
- 9. Gray RA, Jalife J, Panfilov AV, Baxter WT, Cabo C, Davidenko JM, et al. Mechanisms of cardiac fibrillation. Science 1995;270:1222-1223.
- Wu TJ, Lin SF, Weiss JN, Ting CT, Chen PS. Two types of ventricular fibrillation in isolated rabbit hearts: importance of excitability and action potential duration restitution. Circulation 2002; 106: 1859-1866.
- Chen PS, Wu TJ, Ting CT, Karagueuzian HS, Garfinkel A, Lin SF, et al. A tale of two fibrillations. Circulation 2003; 108: 2298-2303.
 - 27

- Kim YH, Xie F, Yashima M, Valderrabano M, Lee MH, Ohara T, et al. Role of papillary muscle in the generation and maintenance of reentry during ventricular tachycardia and fibrillation in isolated swine right ventricle. Circulation 1999; 100: 1450-1459.
- Pak HN, Oh YS, Liu YB, Wu TJ, Karagueuzian HS, Lin SF, et al. Catheter ablation of ventricular fibrillation in rabbit ventricles treated with beta-blockers. Circulation 2003; 108: 3149-3156.
- Connolly SJ, Hallstrom AP, Cappato R, Schron EB, Kuck KH, Zipes DP, et al. Meta-analysis of the implantable cardioverter defibrillator secondary prevention trials. Eur Heart J 2000; 21: 2071-2078.
- Oseroff O, Retyk E, Bochoeyer A. Subanalyses of secondary prevention implantable cardioverter-defibrillator trials: Antiarrhythmics versus implantable defibrillators(AVID), Canadian Implantable Defibrillator Study(CIDS), and Cardiac Arrest Study Hamburg(CASH). Curr Opin Cardiol 2004;19:26-30.
- Vinson M, Pertsov A, Jalife J. Anchoring of vortex filaments in 3D excitable media. Physica D 1993;72:119-134.

Abstract

The effect of cryoinjury on ventricular tachycardia in pig right ventricle

Boyoung Joung

Department of Medicine The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Seung-Yun Cho)

The effects of artificial homogenous obstacles on the dynamics of ventricular fibrillation have been extensively investigated. This study was performed to assess the influence of the heterogenous obstacles on the dynamics of wavefronts and to determine whether obstacles can convert ventricular fibrillation to ventricular tachycardia by stabilizing wavefronts in fibrillating right ventricular tissues of pigs using an optical mapping system.

A cryoinjury with diameter of 12 mm was created on epicardium of perfused right ventricles (RV) of pigs (n=6) and optical mapping images were taken at baseline, 1, 3, 5, and 10 minutes after the cryoinjury. After the whole RV tissue resumed electrical activity, repeated cryoinjury was created at the previous injury sites until the tissue is viable.

In total 35 cryoinjuries, images of 32 cryoinjuries were analyzed. The optical action potential was not recovered in both cryoinjury and peri-injury sites at 1 minute, partially recovered in peri-injury sites at 3 and 5 minutes. Cycle length of tachycardia was 135.9 ± 23.6 msec at baseline, 176.2 ± 79.3 msec at 1 minute, 187.6 ± 97.9 msec at 3 minutes, 185.5 ± 19.2 msec at 5 minutes, and 152.1 ± 64.1 msec at 10 minutes. The cycle length of 1, 3, and 5 minutes after cryoinjury was significantly prolonged than that of baseline (p=0.001, p=0.006, p=0.016). After cryoinjury, ventricular fibrillation changed to tachycardia in 9 (28.0%), and terminated in 2 (6.3%). These changes were observed mainly

within 5 minutes after cryoinjury.

The cryoinjury had an anti-fibrillatory effect in tissues with ventricular fibrillation. However, this effect was related with decreasing electrically excitable area rather than stabilizing wavefronts.

Key Words: ventricular fibrillation, optical mapping system, right ventricle, wavefront, obstacle