



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년05월30일  
(11) 등록번호 10-1741187  
(24) 등록일자 2017년05월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61N 1/05 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0156309

(22) 출원일자 2014년11월11일

심사청구일자 2015년11월25일

(65) 공개번호 10-2016-0056198

(43) 공개일자 2016년05월19일

(56) 선행기술조사문헌

US20120065703 A1\*

US20120157804 A1\*

JP2008522769 A

JP2008525120 A

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

서울대학교산학협력단

서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)

기초과학연구원

대전광역시 유성구 유성대로1689번길 70 (전민동, KT대덕2연구센터)

(72) 발명자

김대형

서울특별시 강남구 역삼로 11길 13(역삼동)

현택환

서울특별시 강남구 남부순환로 2803 (도곡동, 삼성래미안아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

강문호

전체 청구항 수 : 총 13 항

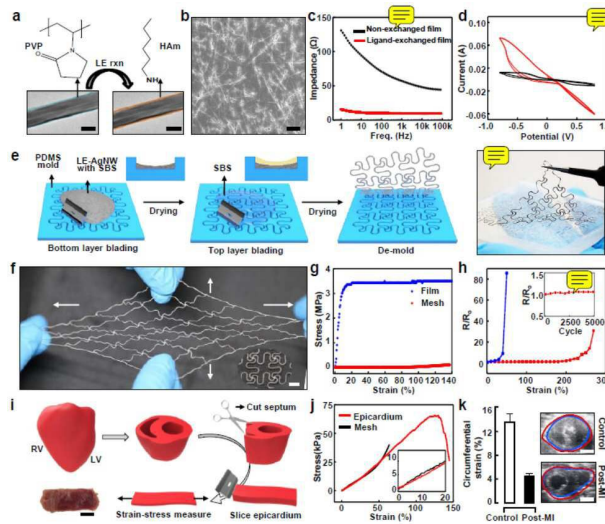
심사관 : 윤지영

(54) 발명의 명칭 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극 및 이의 제조 방법

(57) 요약

본 발명은 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극 및 이의 제조 방법에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 본 발명은 은 나노와이어가 분산되어 있는 제1 생체적합성 고무층, 및 상기 제1 생체적합성 고무층에 인접하여 형성된 제2 생체적합성 고무층으로 이루어진 와이어로 형성된, 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극, 그리고 이의 제조 방법에 대한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

**황혜진**

서울특별시 마포구 합정동 성지5길 7  
효성센스빌502호

**박진경**

서울특별시 관악구 관악로 140-10 203호

**최수지**

서울특별시 관악구 관악로 1 서울대학교 관악사  
918동 737호

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

은 나노와이어가 분산되어 있는 그물망 모양의 제1 생체적합성 고무층; 및  
 상기 제1 생체적합성 고무층 위에 배치되는 그물망 모양의 제2 생체적합성 고무층을 포함하는 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 상기 은 나노와이어의 길이는 5  $\mu\text{m}$  내지 50  $\mu\text{m}$ 이고, 직경은 50 nm 내지 150 nm인 것임을 특징으로 하는 그물망 전극.

**청구항 3**

제1항에 있어서, 상기 은 나노와이어가 리간드 교환된 은 나노와이어인 것임을 특징으로 하는 그물망 전극.

**청구항 4**

제1항에 있어서, 상기 제1 생체적합성 고무가 SBS 고무, TPU, NBR, 하이드로겔, PDMS, PUA, PVA, 에코플렉스 (Ecoflex<sup>®</sup>), PI, PMMA 및 PVDF로 이루어진 군으로부터 선택되는 것임을 특징으로 하는 그물망 전극.

**청구항 5**

제1항에 있어서, 상기 제1 생체적합성 고무층의 두께가 1  $\mu\text{m}$  내지 500  $\mu\text{m}$ 인 것임을 특징으로 하는 그물망 전극.

**청구항 6**

제1항에 있어서, 상기 제2 생체적합성 고무가 SBS 고무, TPU, NBR, 하이드로겔, PDMS, PUA, PVA, 에코플렉스 (Ecoflex<sup>®</sup>), PI, PMMA 및 PVDF로 이루어진 군으로부터 선택되는 것임을 특징으로 하는 그물망 전극.

**청구항 7**

제1항에 있어서, 상기 제2 생체적합성 고무층의 두께가 1  $\mu\text{m}$  내지 500  $\mu\text{m}$ 인 것임을 특징으로 하는 그물망 전극.

**청구항 8**

- (i) 은 나노와이어가 분산된 제1 생체적합성 고무 용액을 몰드에 주입하고 건조하여 그물망 모양의 제1 생체적합성 고무층을 형성하는 단계; 및
- (ii) 상기 제1 생체적합성 고무층 위에 그물망 모양의 제2 생체적합성 고무층을 형성하는 단계를 포함하는, 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극 제조 방법.

**청구항 9**

제8항에 있어서, 상기 은 나노와이어가 리간드 교환된 은 나노와이어인 것임을 특징으로 하는 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극 제조 방법.

**청구항 10**

삭제

**청구항 11**

제8항에 있어서, 상기 제1 생체적합성 고무가 SBS 고무, TPU, NBR, 하이드로겔, PDMS, PUA, PVA, 에코플렉스 (Ecoflex<sup>®</sup>), PI, PMMA 및 PVDF로 이루어진 군으로부터 선택되는 것임을 특징으로 하는 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극 제조 방법.

**청구항 12**

제8항에 있어서, 상기 제1 생체적합성 고무층의 두께가 1 μm 내지 500 μm인 것임을 특징으로 하는 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극 제조 방법.

**청구항 13**

제8항에 있어서, 상기 제2 생체적합성 고무가 SBS 고무, TPU, NBR, 하이드로겔, PDMS, PUA, PVA, 에코플렉스 (Ecoflex<sup>®</sup>), PI, PMMA 및 PVDF 것임을 특징으로 하는 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극 제조 방법.

**청구항 14**

제8항에 있어서, 상기 제2 생체적합성 고무층의 두께가 1 μm 내지 500 μm인 것임을 특징으로 하는 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극 제조 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극 및 이의 제조 방법에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 본 발명은 은 나노와이어가 분산되어 있는 제1 생체적합성 고무층, 및 상기 제1 생체적합성 고무층에 인접하여 형성된 제2 생체적합성 고무층으로 이루어진 와이어로 형성된, 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극, 그리고 이의 제조 방법에 대한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 심부전(heart failure)은 미국에서 대부분의 암에 비해 더 높은 5년 내 사망률과 함께(Askoxyllakis, V. et al. Long-term survival of cancer patients compared to heart failure and stroke: A systematic review. BMC Cancer 10, 105-105 (2010), Stewart, S. et al. Population impact of heart failure and the most common forms of cancer: A study of 1 162 309 hospital cases in sweden (1988 to 2004). Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes 3, 573-580 (2010)), 이환률 및 사망률의 주요 원인이다(Murphy, S.L., Xu, J. & Kochanek, K.D. Deaths: Final data for 2010. Natl. Vital Stat. Rep. 61, 1-117 (2013)). 수많은 기초 및 임상 연구는 심장 기능 향상, 부정맥 감소 및 생존률을 증가시키는 시도를 하였다. 새로운 약학적 및 재생 치료(regenerative therapy)에 대해 임상 시험을 실시하고 있지만, 심부전의 자연 경과(natural course)를 지연시키는 약물은 눈에 띄게 드물다(Yancy, C.W. et al. 2013 accf/aha guideline for the management of heart failure: A report of the american college of cardiology foundation/american heart association task force on practice guidelines. Circulation 128, e240-327 (2013)). 줄기 세포 또는 조직 공학 기술을 이용한 재생 치료가 큰 관심을 얻고, 수십년간 개발되었지만, 질병에 걸린 심근을 건강한 심장근육세포로 내구성 있게 교체하는 것이 과제로 남아있다.

[0003] 약학 물질 및 재생 치료와 대조적으로, 임상 시험은 심장 기능 및 증상뿐만 아니라 장기간의 생존을 빠르게 향상시키는 양심실 조율(bi-ventricular pacing)만이 심부전의 치료법이라는 것을 입증하였다(Moss, A.J. et al. Cardiac-resynchronization therapy for the prevention of heart-failure events. N. Engl. J. Med. 361, 1329-1338 (2009), Tang, A.S.L. et al. Cardiac-resynchronization therapy for mild-to-moderate heart failure. N. Engl. J. Med. 363, 2385-2395 (2010), Goldenberg, I. et al. Survival with cardiac-resynchronization therapy in mild heart failure. N. Engl. J. Med. 370, 1694-1701 (2014)). 유익한 효과는 근육미세섬유(myofilament)의 Ca<sup>2+</sup> 민감도 향상, 스트레스 키나제(stress kinase)의 균일 활성화(homogeneous activation) 및 세포사멸 신호(apoptotic signal)의 감소를 포함한, 국소적 및 전반적인 분자 재형성(remodeling)에 의해 이뤄지는 것으로 생각된다(Neubauer, S. & Redwood, C. New mechanisms and concepts for cardiac-resynchronization therapy. N. Engl. J. Med. 370, 1164-1166 (2014), Chakir, K. et al. Reversal of global apoptosis and regional stress kinase activation by cardiac resynchronization.

Circulation 117, 1369-1377 (2008)).

- [0004] 이러한 긍정적인 데이터에도 불구하고, 확장된 심실(dilated ventricle)에 위치한 두 개의 전극에서만 생성되는 전기적 전류원(electrical current source)은 흔히 너무 작아서 심장 송출기능(pumping)을 극대화시키는 동기 수축(synchronous contraction)을 완전히 복원할 수 없다. 표면 전기기록도(surface electrogram) 상의 QRS 지속시간이 양심실 조율(Lecoq, G. et al. Clinical and electrocardiographic predictors of a positive response to cardiac resynchronization therapy in advanced heart failure. Eur. Heart J. 26, 1094-1100 (2005))에 의해 불완전하게 수정된 것에 대한 임상적 고찰은, 완전히 동기화된 전기 탈분극 및 이어지는 완전히 동기화된 기계적 수축에 대한 필요성을 상기시킨다.
- [0005] 심부전에서의 심근질환(Myocardial disease)은 종종 전문화된 전도 시스템의 벌크(bulk) 및 심근에 대한 손상 또는 상처를 수반하고, 이는 송출기능 부전(pump failure)을 악화시키며 유해한 신경내분비성 반응(neurohormonal response) 및 유해한 세포 신호 연쇄반응(cellular signaling cascade)을 활성화시킨다 (Josephson Mark, E. Intraventricular conduction disturbances. in Clinical cardiac electrophysiology: Techniques and interpretations (Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2008)). 따라서, 손상된 심근에 대한 부분적인 보상 및 질병에 걸린 히스-퍼킨지 시스템(His-Purkinje system)의 기능을 대체하는 치료적 접근법이 유망한 치료방법일 수 있다.
- [0006] 본 명세서에서, 본 발명자들은 전기 전도성, 탄성 소재를 두 가지 전략적 접근방식으로 설계하여 제조한 심장 그물망을 사용한 전반적 재동기화 치료법(global resynchronization therapy)을 소개한다. 첫째로, 본 발명자들은 심장과 통합하고, 부하(load)를 분담하여 내부 심근벽 스트레스를 감소시키는 심외막 유사(epicardium-like) 기관을 제조하였다. 둘째로, 본 발명자들은 심외막 유사 장치에 전반적 조율을 통하여 심장 히스-퍼킨지 섬유 네트워크 기능을 주입하였다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0007] 본 발명의 기본적인 목적은 은 나노와이어가 분산되어 있는 제1 생체적합성 고무층, 및 상기 제1 생체적합성 고무층에 인접하여 형성된 제2 생체적합성 고무층으로 이루어진 와이어로 형성된, 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극을 제공하는 것이다.
- [0008] 본 발명의 또 다른 목적은 (i) 은 나노와이어가 분산된 제1 생체적합성 고무 용액을 몰드에 주입하고 건조하여 제1 생체적합성 고무층을 형성하는 단계; 및 (ii) 제1 생체적합성 고무층 위에 제2 생체적합성 고무층을 형성하는 단계를 포함하는, 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극 제조 방법을 제공하는 것이다.

**과제의 해결 수단**

- [0009] 본 발명의 기본적인 목적은 은 나노와이어가 분산되어 있는 제1 생체적합성 고무층, 및 상기 제1 생체적합성 고무층에 인접하여 형성된 제2 생체적합성 고무층으로 이루어진 와이어로 형성된, 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극을 제공함으로써 달성될 수 있다.
- [0010] 본 발명의 하나의 실시 태양에서, 상기 그물망 전극은 구불구불한(serpentine) 구조를 가지고 있어 심장 박동에 따라 늘어날 수 있고, 구불구불한 모양과 곡률반지름을 변화시켜 그물망 전극 전체의 모듈러스(modulus)를 조절할 수 있다.
- [0011] 본 발명에 따른 그물망 전극에서 상기 은 나노와이어의 길이는 5 μm 내지 50 μm이고, 직경은 50 nm 내지 150 nm일 수 있다. 또한, 상기 은 나노와이어는 리간드 교환된 은 나노와이어일 수 있다. 상기 리간드는 알킬 아민, 알킬 카르복시산, 알킬 티올기로 치환될 수 있으며, 상기 알킬 구조를 가지고 있는 리간드는 은 나노와이어와 SBS(styrene-butadiene-styrene), PDMS(polydimethylsiloxane) 등과 같은 유기 분산 탄성중합체가 균일하게 분산될 수 있도록 한다.
- [0012] 본 발명에 따른 그물망 전극에서 상기 제1 생체적합성 고무는 SBS 고무, TPU(thermoplastic polyurethane), NBR(nitrile butadiene rubber), 하이드로겔(hydrogel), PDMS, PUA(polyurethane acrylate), PVA(polyvinyl alcohol), 에코플렉스(Ecoflex<sup>®</sup>), PI(polyimide), PMMA(polymethyl methacrylate) 또는 PVDF(poly(vinylidenedifluoride))일 수 있다. 또한, 상기 제1 생체적합성 고무층의 두께는 1 μm 내지 500 μ

m일 수 있다.

- [0013] 본 발명에 따른 그물망 전극에서 상기 제2 생체적합성 고무는 SBS 고무, TPU, NBR, 하이드로겔, PDMS, PUA, PVA, 에코플렉스(Ecoflex<sup>®</sup>), PI, PMMA 또는 PVDF일 수 있다. 또한, 상기 제2 생체적합성 고무층의 두께는 1 μm 내지 500 μm일 수 있다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 목적은 (i) 은 나노와이어가 분산된 제1 생체적합성 고무 용액을 몰드에 주입하고 건조하여 제1 생체적합성 고무층을 형성하는 단계; 및 (ii) 제1 생체적합성 고무층 위에 제2 생체적합성 고무층을 형성하는 단계를 포함하는, 심장의 재동기화 치료를 위한 그물망 전극 제조 방법을 제공함으로써 달성될 수 있다.
- [0015] 본 발명의 하나의 실시 태양에서, 상기 그물망 전극을 제조하기 위해 그물망 모양이 음각으로 새겨진 PDMS 몰드를 사용할 수 있다. PDMS 몰드 위에 은 나노와이어와 생체적합성 고무 혼합용액을 도포하고 굽어서 음각구조 안을 채운 후 건조하여 은나노와이어와 생체적합성 고무 나노 컴포지트(nanocomposite)를 형성할 수 있다. 은 나노와이어와 생체적합성 고무 혼합용액의 비율에 따라 그물망 전극의 저항과 모듈러스를 조절할 수 있다. 은 나노와이어의 비율이 증가할수록 저항은 감소하고, 모듈러스는 증가한다. 이 전극 위에 제 2 생체 적합성 고무용액을 도포하고 굽은 후 건조하면 나머지 음각구조를 채우게 되는데, 이 과정의 횟수가 증가할수록 고무층이 두꺼워진다.
- [0016] 본 발명에 따른 그물망 전극 제조 방법에서 상기 은 나노와이어의 길이는 1 μm 내지 100 μm이고, 직경은 10 nm 내지 200 nm일 수 있다. 또한, 상기 은 나노와이어는 리간드 교환된 은 나노와이어일 수 있다.
- [0017] 본 발명에 따른 그물망 전극 제조 방법에서 상기 제1 생체적합성 고무는 SBS 고무, TPU, NBR, 하이드로겔, PDMS, PUA, PVA, 에코플렉스(Ecoflex<sup>®</sup>), PI, PMMA 또는 PVDF일 수 있다. 또한, 상기 제1 생체적합성 고무층의 두께는 1 μm 내지 500 μm일 수 있다.
- [0018] 본 발명에 따른 그물망 전극 제조 방법에서 상기 제2 생체적합성 고무는 SBS 고무, TPU, NBR, 하이드로겔, PDMS, PUA, PVA, 에코플렉스(Ecoflex<sup>®</sup>), PI, PMMA 또는 PVDF일 수 있다. 또한, 상기 제2 생체적합성 고무층의 두께는 1 μm 내지 500 μm일 수 있다.

**발명의 효과**

- [0019] 종래의 심장의 재동기화 치료는 카테터를 정맥을 통하여 심장 내부에 연결하는 치료가 대부분이다. 작은 전극을 가진 카테터는 심장조직을 부분적으로 자극하면서, 고정하기 어렵기 때문에 신호를 읽을 때나 자극을 줄 때 손실되는 양이 많고 혈관을 통해 심장 안쪽 영역에 위치함으로써 혈액의 유동에 영향을 줄 수 있다. 반면 본 발명의 그물망 전극은 탄성계수가 낮아 전극은 심장 표면에 삼차원적으로 부드럽게 둘러싸서 고정시킬 수 있어 움직임에도 방해받지 않고 신호를 얻거나 자극을 줄 수 있다. 또한 넓은 전극 면적으로 심장과의 접촉면적을 늘림으로써 전극과 심장사이의 임피던스를 낮추어 심장에서 나오는 전기신호를 깔끔하게 읽을 수 있고 자극을 줄 때도 낮은 임피던스 덕분에 낮은 역치 값으로 자극을 줄 수 있다. 그물망 전극은 심장의벽에 위치하기 때문에 심장박동에 따른 부하(load)를 분담하여 내부 심근벽 스트레스를 감소시킨다.

**도면의 간단한 설명**

- [0020] 도 1a는 나노와이어(AgNW)의 리간드에 대한 교환 반응의 개략도이고(스케일 바: 50 nm), 도 1b는 리간드-교환된 AgNW/스티렌-부타디엔-스티렌(SBS)으로 이루어진 필름의 주사 전자현미경 사진이며(스케일 바: 50 μm), 도 1c는 교류 전류 주파수의 함수로서 초기 및 리간드 교환된 필름의 임피던스이고, 도 1d는 초기 및 리간드 교환된 필름의 순환 전위(Cyclic voltammetry analysis)분석결과이며, 도 1e는 폴리디메틸실록산을 이용한 신축성 있는 전극의 주형 공정이고, 도 1f는 수평 및 수직으로 150% 및 10% 신장된 정방형의 구불구불한 그물망 각각의 사진이며(삽입된 사진은 신장되기 전의 구불구불한 그물망을 나타냄)(스케일 바: 50 mm), 도 1g는 정방형의 구불구불한 필름 전극의 스트레인-스트레스 곡선이고, 도 1h는 증가하는 스트레인에서, 필름 및 정방형의 구불구불한 그물망의 상대 저항 변화이며, 도 1i는 심외막 조직 시트의 탄성률 측정 실험 절차의 개략도이고(스케일 바: 50 mm), 도 1j는 심외막 시트 및 구불구불한 그물망의 스트레인-스트레스 곡선(RV, 우심실; LV, 좌심실)이며, 도 1k는 대조군 심장(n=2) 및 8 주 후-심근 경색(MI) 심장(n=2)에서, 심장 외부 층의 원주 스트레인(좌측 패널)과 이차원 초음파 검사의 중간-좌심실(mid-ventricular) 관점의 심외막 층의 움직임(우측 패널)이다(적색 원, 확장 말기; 청색 원, 수축 말기)(스케일 바: 1 cm).



도 2는 은 나노와이어(AgNW) 및 리간드-교환된 AgNW(LE-AgNW)에 대한 푸리에 변환 적외선 스펙트럼이다(적색 선 및 흑색 선은 각각 AgNW 및 LE-AgNW의 피크 흡수 스펙트럼을 나타낸다).

도 3a는 컴퓨터 단층 촬영 사진(좌측 패널), 횡단면(transaxial) CT 사진(중간 패널), 및 3D 심장 재구성 사진(우측 패널)의 스택(stack)이고, 도 3b는 3D 심장 시뮬레이션 모델을 이용한 심장 그물망 전극의 크기 및 위치 조정(RV, 우심실; LV, 좌심실)을 보여 주며, 도 3c는 음극과 양극을 연결하는 절연부(I) 및 지지부(S)로 이루어진 심장그물망의 평면도(전극 부분의 단면은 전도 및 절연 층을 나타낸다(우측 패널))이고(스케일 바: 5 mm(좌), 10 μm(우)), 도 4d는 3D 인쇄된 심장 모델을 둘러싸는 그물망 전극의 실사진이다(스케일 바: 1 mm).

도 4a는 양심실 유한 요소(FE) 그물망 모델(좌측 패널)(회색 층은 랩핑된 장치를 나타낸다(우측 패널))이고, 도 4b는 좌심실 확장 말기 압력-부피(EDPVR)에 대한 그물망 랩 및 필름 랩의 효과이며, 도 4c는 랩이 없는 경우, 그물망 랩의 경우, 및 연속 필름 랩의 경우에서의 대수 최대 주 변형 분포(Logarithmic maximum principal strain distribution)이다.

도 5a는 대조군 심장의 메이슨 트리카뎀 염색 결과이고, 도 5b는 대조군 심장에 이식된 심장 그물망의 사진이며, 도 5c는 주기 길이 280 ms에서, 심장 그물망에 의한 전반적 재동기화 조율하는 동안의 심장 그물망으로부터 기록된 심외막 전기기록도(상단 트레이스, 표면 리드 1(surface lead I) 전기기록도; 중단 트레이스, 우심실(RV) 정점 전기기록도; 하단 트레이스, 심외막 전기기록도)이고, 도 5d는 대조군 심장에서, 심장 그물망(meshP)을 이용한 동박절(SR) 및 전반적 재동기화 조율하는 동안의 표면 전기기록도(ECG) 기록(리드 1)이며, 도 5e는 심장 그물망(우측 패널) 및 RV 정점의 심외막 표면에 위치한 이극성 전극(bipolar electrode)(좌측 패널)으로부터 기록된 전기기록도 상(phase)의 일관성 3D 상 어트랙터(3D phase attractor)(t는 시간, d는 지연시간(1.28 ms)이다. 우측 패널 그래프의 하단 패턴은 좌측 패널에 비해 더 안정적이다. EGM, 전기기록도)이고, 도 5f는 후-경색 심장의 좌전 하행 동맥 결찰 8주 후의 실사진(화살표는 경색 병변을 나타낸다)이며, 도 5g는 메이슨 트리카뎀 염색은 전층적 흉터(transmural scar)이고, 도 5h는 심장 그물망이 이식된 후-경색 심장의 사진이며, 도 5i는 심장 그물망 기록(하단 트레이스)으로부터 비지속적 심실 부정빈맥으로 나타나는 넓은 QRS 빈맥의 빈번한 발생을 보여주는 표면 ECG(상단 트레이스)이고, 도 5j는 심실 세동 3초 후 변성(Degeneration) 및 심장 그물망을 통하여 전달된 2 J의 이상성 전기 충격의 성공적 종결을 보여 주며, 도 5k는 8 주 후-경색 라트에서, 동박절(SR) 및 심장 그물망 조율(MeshP)로부터의 표면 ECG 기록(리드 1)이고, 도 5l은 대조군(n=9) 및 후-경색(후-MI) 라트(n=12)에서, QRS 지속시간에 대한 전반적 재동기화 치료의 효과(심장 그물망 조율 및 우심실 조율(RVP)이 9 마리의 대조군 중 8 및 7 마리에서 각각 수행되었다. 심장 그물망 조율을 12 마리의 후-경색 라트 중 10 마리에서 완수하였다. 통계적 평가가 독립적 t-검정(unpaired t-test)을 이용하여 수행되었다. \*P<0.05, \*\*P<0.01를 보여 주며, 도 5m은 8마리의 대조군 및 10 마리의 후-MI 라트에서, 기저선 및 심장 그물망 조율 사이의 쌍체 비교(Paired comparison)(통계적 평가가 대응표본 t-검정(paired t-test)을 이용하여 수행되었다. \*\*\*P<0.005)이다.

도 6a는 대조군(n=5) 및 후-경색 라트(후-MI, n=6)에서, 좌심실 확장 말기 크기(LVEDD, 좌측 패널) 및 LV 수축 말기 크기(LVESD, 중간 패널)의 비교(심장 그물망 조율(MeshP)는 5 마리의 대조군 및 5 마리의 후-MI 라트에서 완수하였다. 구획단축률의 쌍체 비교(우측 패널). 통계적 평가가 대응표본 t-검정(paired t-test)을 이용하여 수행되었다. \*P<0.05, \*\*P<0.005)이고, 도 6b는 대조군(n=5) 및 후-경색 심장(n=6)에서, 스트레인 데이터의 스펙클 추적(\*P<0.05)이며, 도 6c는 전반적 재동기화 조율의 혈류역학적 효과(대조군(n=5) 및 후-경색 라트(후-MI, n=5)에서, 동리듬(SR), 우심방 조율(RAP) 또는 그물망 조율(meshP)하는 동안의 dP/dt<sub>max</sub>. 막대는 전체 주기 길이(CLs)에서 존재하는, 그물망 조율이 있거나 없을 때의 dP/dt<sub>max</sub> 값 사이에서 통계적으로 중요한 차이를 나타낸다(선형 혼합 모델을 이용하여 결정된 P<0.05). 280 ms의 조율 CL에서, RAP 및 그물망 조율 사이 \*\*P<0.01)이고, 도 6d는 하나의 심장 주기 동안의 좌심실(LV) 벽 스트레스-압력 루프(LV 벽 스트레스는 후-경색 라트의 420 ms 및 대조군의 280 ms의 동일한 CLs에서, RAP 및 그물망 조율하는 동안의 LV 압력 및 심근 스트레인의 동시 기록으로부터 유래되었다)이며, 도 6e는 확장 기능에 대한 효과. 대조군(n=5)에서 280 ms의 조율 CL에서의 타우를 제외한 모든 조건에서, 심장 그물망 이식이나 그물망 조율 어느 것도 확장 지수, 즉, 좌심실 확장 말기 압력(LVEDP) 및 타우를 증가시키지 않았다. 후-경색 라트(n=5)에서, 심장 그물망 조율은 LVEDP 및 타우를 약간 감소시켰으나, 이러한 차이는 통계적으로 중요하지 않았다.\*P<0.01)이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

이하, 다음의 실시예 또는 도면을 들어 본 발명을 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 그러나 다음의 실시예 또

[0021]

는 도면에 대한 설명은 본 발명의 구체적인 실시 태양을 특정하여 설명하고자 하는 것일 뿐이며, 본 발명의 권리 범위를 이들에 기재된 내용으로 한정하거나 제한해석하고자 의도하는 것은 아니다.

**[0022] 실시예 1. 은 나노와이어(AgNW)의 대규모 합성 및 리간드 교환(LE) 반응**

**[0023]** AgNW를 합성하기 위하여, 수정된 CuCl<sub>2</sub>-매개 폴리올(polyol) 공정을 사용하였다(Korte, K., Skrabalak, S. & Xia, Y. Rapid synthesis of silver nanowires through a CuCl<sub>2</sub>-or CuCl<sub>2</sub>-mediated polyol process. *J. Mater. Chem.* **18**, 437-441 (2008)). 오일 배스(oil bath (153°C))에서, 800 μL의 4 mM 염화구리 용액(CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 99%, Strem Chemicals, Inc., USA)을 130 mL의 0.034 M 폴리비닐피롤리돈(평균 분자량, 55,000; Aldrich, USA) 용액에 첨가한 후에, 에틸렌 글리콜 용액 내의 30 mL의 0.094 M 질산은(AgNO<sub>3</sub>, >99% 순도, Strem Chemicals, Inc., USA)을 상기 반응 혼합물에 주입하였다. 상기 합성 반응은 1 시간 동안 지속되었다. 다음으로, 0.3 g의 합성한 AgNW를 6 mL의 디메틸포름아민에 분산시켰고, 6 mL의 0.1 M NOBF<sub>4</sub>를 AgNW 용액에 첨가하였다. 5 분간 부드럽게 교반한 후, 헥산 내의 헥실아민을 반응 용액에 첨가하였다. 에탄올을 첨가함으로써 상기 합성된 LE-AgNW 용액을 정제하였고, 원심분리하였으며, 톨루엔으로 재분산시켰다.

**[0024] 실시예 2. 그물망 전극의 제조**

**[0025]** LE-AgNW/스티렌-부타디엔-스티렌(SBS, Kumho KTR-101, KUMHO PETROCHEMICAL, Republic of Korea) 잉크 용액을 구불구불한 폴리디메틸실록산(PDMS) 몰드에 붓고, 45°C에서 천천히 건조시켰다(도 1e). LE-AgNW/SBS의 전도성 탄성중합체를 상기 PDMS 몰드의 바닥에서 형성한 후, LE-AgNW/SBS를 캡슐화하기 위하여 추가적인 SBS 용액을 부었고, 절단하였으며, 동일한 온도에서 건조하였다. 심장에 적용할 심장 그물망 전극을 제조하기 위하여, 상기 LE-AgNW/SBS 잉크를 전도성 전극 부분에 선택적으로 도포하였다.

**[0026] 실시예 3. 실험 동물 모델**

**[0027]** 모든 동물 실험은 연세대학교 의과대학, 실험실 동물의 관리 및 사용 위원회에 의해 승인되었고, 동물 관리 가이드라인 및 규정에 따라 수행되었다. 영구적 좌전 하행 동맥(LAD)을 결찰하여 수컷 스프라그-돌리 라트(Sprague-Dawley rat)(320 내지 430 g)에 심근 경색을 일으켰다. 간단히, 케타민(10 mg/kg) 및 자일라진(5 mg/kg)으로 마취한 후, 흉골 절개로 흉부를 열어 심장을 꺼냈다. 시술 도중 사망한 라트는 사망률 계산에서 제외하였다. 영구 LAD 결찰 8 주 후, 라트에 삽관하였고 졸레틸(20 mg/kg) 및 자일라진(5 mg/kg) 마취 하에, 설치류 호흡기(Hugo Sachs Elektronik-Harvard Apparatus, March-Hugstetten, Germany)에 위치시켰다. 이어서, 중간 흉골 절개를 수행하여 심장을 노출시키고, 심장 그물망을 이식하였다.

**[0028] 실시예 4. 스트레인-스트레스 측정**

**[0029]** SBS로 캡슐화된 LE-Ag/SBS 필름(약 10 mm 너비 및 30 내지 35 mm 길이), 편자형 그물망, 및 심장 그물망의 스트레인-스트레스 곡선을 인장 기계 시험 시스템(tensile mechanical testing system, ESM301, Mark-10, USA)을 이용하여 기록하였다. 심외막 조직 시편의 스트레인-스트레스 곡선을 블루힐 소프트웨어(Bluehill software, Ver. 3)로 제어하는 인스트론-5543 전기기계 시스템(Instron-5543 electromechanical system (Instron, USA))을 이용하여 측정하였다. 스프라그-돌리 라트(320 g)를 동물 관리에 관련한 가이드라인 및 규정에 따라 희생시켰고, 심장을 노출시켜 차가운 헝크 평형 염 용액(Hanks' balanced salt solution, HBSS)에 보관하였다. 좌심실(LV) 벽의 심외막 시트(epicardial sheet)를 해부하였고, 이를 손질하여 원주 방향으로 배향된(circumferentially oriented) 직사각형 시편으로 만들었다(약 7 mm 너비, 10 mm 길이, 및 2 mm 두께). 상기 시편이 파괴될 때까지 10 mm/분의 속도로 변형시켰다.

**[0030]** 심외막 조직은 탄성 및 전도성이 있다. 전도성 소재 중에서도, 은 나노와이어(AgNW) 네트워크는 높은 전도도 및 이들의 기계적 유연성 때문에 움직이는 심장을 둘러싸는 동안의 반복된 스트레인(strain) 조건에서도 전도도를 유지할 수 있는 가능성을 보인다. 생체 적합성 열가소성 중합체인, 스티렌-부타디엔-스티렌(SBS)은 이의 물리적



가교 구조 때문에, 높은 탄성 및 재형성 능력(reshape-ability)의 특성을 가지고 있다. 탄성 및 안정적인 전기 전도도를 부여하기 위하여, 본 발명자들은 SBS 고무 내 AgNW의 균일한 혼합을 시도하였다. 이를 달성하기 위하여, AgNW의 리간드 교환(LE-AgNW)은 유기상의 SBS 용액 내 균일한 분산을 위하여 필수적이다. AgNW의 폴리비닐 피롤리돈(PVP) 리간드를 NOBF<sub>4</sub>(도 1a, 1b)를 사용하여 헥실아민(HAm)으로 부분적 교환하여, 수용성 AgNW를 유기상으로 상 변환(phase conversion)시켰다. FTIR 스펙트럼에서 N-H 결합 스트레칭의 증가된 피크 세기로 리간드 교환 반응의 성공을 확인하였다(도 2). 리간드 교환이 없는 AgNW/SBS 필름과 비교하여, LE-AgNW/SBS 필름은 다른 입력 주파수에 대해 지속적으로 더 낮은 임피던스를 나타내었고(도 1c), 다른 입력 전압에 대해 더 큰 전하 주입(charge injection)을 보였다(도 1d). 이는 탄성중합체의 안정적인 전기 전도도를 보여준다. 또한, 상기 LE-AgNW/SBS 필름의 전도도는 SBS에 대한 LE-AgNW의 혼합 비율에 따라 달라진다. LE-AgNW의 비율이 증가할수록, 전기 전도도는 향상되지만, 기계적 탄성은 감소한다. LE-AgNW/SBS가 65/35인 비율의 필름은, 심장이 그물망을 통한 빠른 전도에 의해 동기적으로 활동할 수 있는, 25,000 S/cm의 최적의 전도도를 부여한다. 그러나, 탄성과 같은 상기 그물망의 기계적 특성은 심외막 조직에 비해 열등한 채로 남아있다.

[0031] 강성(stiff) 필름으로 심장을 둘러싸는 것은 확장기 순응도(diastolic compliance)를 감소시키고, 좌심실 확장기말 압력(ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)을 증가시키며, 따라서, 심부전 증상을 악화시킨다. 따라서, 본 발명자들은, 심외막 표면에 부합하고 통합될, 심근과 유사한 기계적 특성을 가진 장치들을 제조하는 것을 목표로 하였다. 기계적 탄성을 향상시키기 위하여, 폴리디메틸실록산(PDMS)금형을 사용하여, LE-AgNW/SBS로 구불구불한(serpentine) 그물망을 제조하였다(도 1e 및 도 3a). 본 발명자들은 구불구불한 LE-AgNW/SBS 그물망이 기계적 및 전기적 특성의 측면에서 필름 전극에 대해 매우 우수한 것을 확인하였다. 도 1f는 상기 구불구불한 그물망이 사선 방향으로 원래 크기의 150%로 신장될 수 있음을 보여준다(도 3b 참조). 일축(uni-axial) 스트레인이 0 내지 140%로 적용되었을 때, 상기 구불구불한 그물망( $E = \text{스트레스}/\text{스트레인} = 213 \text{ kPa}$ )은 필름 유형의 전극( $E = 47 \text{ MPa}$ )에 비해 낮은 영률을 나타내었다(도 1g). 또한, 스트레인 적용 하에 필름 전극이 큰 저항 변화를 보인 반면, 상기 구불구불한 그물망의 저항 변화는 최소였다(도 1h). 이러한 기계-전기적 특성은 반복적인 스트레칭의 반복 주기(도 1h 삽입도)에서도 유지되었고, 이로써 임상 응용에 더 적합한 구불구불한 그물망을 제조하였다.

[0032] 상기 구불구불한 그물망의 기계적 특성이 심외막과 유사한지 확인하기 위하여, 도 1i 및 1j에 나타난 바와 같이, 본 발명자들은 라트(rat)( $n=2$ )의 심장에서부터 절제된 2mm 두께의 심외막 조직 시트의 영률을 측정하였다. 초음파 검사에 의해 측정된 상기 심장 바깥 층의 평균 스트레인은 대조군 라트( $n=4$ )에서 14.1%이었고, 8 주된 후 심근 경색증(post-myocardial infarction, MI) 라트( $n=3$ )에서 4.6%이었다(도 1k). 중요한 것은, 심장의 바깥 층에서 관찰된 주위 스트레인(circumferential strain)의 범위 내에서, 상기 구불구불한 그물망( $E = 44.3 \text{ kPa}$ )의 탄성 계수가 심외막 조직( $E = 40 \text{ kPa}$ )과 거의 동일하였다(도 1j 삽입도).

[0033] **실시예 5. 심장 컴퓨터 단층 촬영(CT)**

[0034] 3D 인체에 대한 CT 스캔을 2-세대 듀얼-소스 CT(SOMATOM Definition Flash, Siemens Medical Solutions, Forchheim, Germany)를 이용하여 수행하였다. 먼저, 비강화된(non-enhanced) CT 영상을 얻어 스캔 범위 및 볼루스 트래킹(bolus tracking)을 위한 대동맥활(aortic arch)의 위치를 확인하였다. 스캔 범위는 폐 정점에서 횡격막까지였다. 다음으로, 2 mL/kg의 조영제(Iopamiro 370, Bracco, Italy)를 꼬리 정맥에 주사하여 조영 CT를 수행하였다. 대동맥활에서, 볼루스 트래킹에 의해 초기 지연(initial delay)을 정의하였고, 400 HU의 임계치 도달한 지 2초 후에 자동으로 개시되었다. 다음의 매개변수를 사용하여 스캔을 수행하였다: 높은 피치 나선형 획득(high pitch spiral acquisition), 80 kVp, 50 mAs, 64 x 0.6 mm 슬라이스 콜리메이션(collimation), 및 330 ms 갠트리(gantry) 회전 시간. 평균 스캔 시간은 0.90초이었다. CT 이미지를 슬라이스 두께 0.75 mm, 0.5 mm의 간격 증가, 및 미디움-스무쓰 컨볼루션 커널(medium-smooth convolution kernel) B36f를 사용하여 재구성하였다. 화각(field of view)을 흉곽 크기에 따라 조정하였다.

[0035] **실시예 6. 컴퓨터 시뮬레이션**

[0036] 고해상도 마이크로 CT 영상을 분할하였고, 밸브 아래 평면의 양심실 기하학에 대한 3차원 유한 요소 그물망을 얻었다(Young, P. G. *et al.* An efficient approach to converting three-dimensional image data into highly accurate computational models. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.* **366**, 3155-73 (2008)). 상

기 유한 요소 그물망은 심근에 대하여 48,832개의 이차 사면체(quadratic tetrahedrons) 및 소크(sock)에 대하여 16,296개의 이차 삼각형 셸 요소(quadratic triangular shell elements)로 구성되었다. 상기 심근이 비압축성 초탄성(hyperelastic) 재료로 이루어져 있기 때문에, 큰 변형, 큰 스트레인, 하이브리드 제형을 시행하였다. 네오-후크(neo-Hookean) 모델을 심근 거동(behavior)의 근사치를 내기 위하여 사용하였다(Dokos, S., LeGrice, I. J., Smaill, B. H., Kar, J. & Young, A. A. A Triaxial-Measurement Shear-Test Device for Soft Biological Tissues. *J. Biomech. Eng.* **122**, 471-478 (2000)). 각각의 경우에 대한 다른 선형 탄성 특성을 사용하여, 상기 랩 재료 거동(wrap material behavior)을 설명하였다(그물망 랩에 대하여 500 Pa, 필름 랩에 대하여 4,000 MPa). 상단 표면상의 노드(node)의 비평면 동작(out-of-plane motion)을 제한하였다. 100 mmHg의 압력을 상기 LV에 적용하였다. 두꺼운 LV 벽 및 작은 RV 압력 때문에, LV 압력-부피 관계에 거의 영향을 미치지 않으므로, 우심실(RV) 압력을 무시하였다. 상기 소크와 심근 아래 사이의 슬라이딩 동작(sliding motion)은 관련이 없었다. 상기 셸의 전체 두께를 주사 전자현미경에 의한 심장 그물망 샘플의 측정값에 기반하여 88  $\mu\text{m}$ 로 설정하였다. 심실에 대한 상기 심장 그물망의 효과를 평가하기 위하여, 종단-확장 압력 부피 관계(end-diastolic pressure volume relation (EDPVR))를 계산하였다.

[0037] 전반적인 전기적 재동기화를 달성하기 위하여, 도 3에 나타난 바와 같이, 상기 심장 그물망을 재설계하였다. 상기 장치는 배선 패드(wiring pad)(+ 및 -)와 함께 두 개의 구불구불한 그물망 전극, 양극과 음극 사이의 절연부 및 심장을 감싸는데 도움을 주는 지지부(supporting parts)로 구성되었다(도 3c). 의도하지 않은 전기적 자극을 방지하기 위하여, 상기 심장 그물망의 바깥 부분을 SBS의 절연층으로 코팅하였다(도 3c의 오른쪽 패널). 라트의 심장에 대한 심장 컴퓨터 단층촬영을 상기 심장 그물망 전극을 해부학적으로 맞춤 설계하는데 사용하였다(도 3a). 3 차원적으로 재구성된 이미지에 대한 상기 심장 그물망의 크기 및 전극의 위치를 조정시킨 후(도 3b), 3D 인쇄 모델 심장에 대한 상기 제조된 그물망의 최종 설계 및 크기를 개선하였다(도 3d).

[0038] 본 발명자들은 먼저 확장기 기능에 대한 상기 심장 그물망의 기계적 효과를 시뮬레이션하는 것을 시도하였다. 라트 심장의 생체 밖(ex vivo)의 고해상도 CT 이미지에 기반한 특정한 경우의 양 심실 유한 요소(finite element, FE) 모델(도 4a)을 이용하여, 본 발명자들은 세 가지 시나리오에 대한 확장기 팽창을 비교하였다: i) 심장 상에 어떠한 랩(wrap) 없이; ii) 상기 그물망 랩( $E = 50 \text{ kPa}$ ); 및 iii) 심장 상의 연속적인 박막(LE-Ag/SBS 필름 내  $E = 47 \text{ MPa}$ )과 함께. 도 4b는 확장기말 압력-부피 관계(EDPVR)에 대한 상기 그물망 또는 필름 랩의 효과를 보여준다. 대조군과 비교하여, 상기 연속적인 필름 랩은 상기 EDPVR 곡선을 왼쪽으로 이동시킨 반면(적은 순응), 동일한 소재로 제조된 상기 심장 그물망 랩은 주목할만한 효과를 가지지 아니하였다. 도 4c는 로그 최대 주 스트레인(logarithmic maximum principal strain)의 비교를 보여준다. 특히, 심장에 대한 상기 필름의 적용은 혈류역학적 불안정(hemodynamic instability)의 상당한 위험을 생성하는, 우심실(RV) 확장기 붕괴(도 4c)를 발생시켰다. 대조적으로, 상기 그물망 랩은 심장 주기 동안, 형태 또는 심실의 곡률에 영향을 미치지 아니하였다. 종합하여 보면, 상기 컴퓨터 시뮬레이션의 결과는 상기 그물망이 혈류역학적 안정성의 측면에서 필름에 대해 우수하다는 것을 나타낸다.

[0039] **실시예 7. 표면 심전도 검사 및 전기생리학 검사**

[0040] 표면 6-리드(lead) 심전도(ECG)(리드 I은 도면에 나타나있다)를 모든 심장 내 전기기록도(intracardiac electrogram)와 더불어 지속적으로 기록하였고 증폭기/녹음기 시스템(amplifier/recorder system, PruKa CardioLab IT System, GE Healthcare, Milwaukee, WI)에 저장하였다. 샘플링 속도는 4kHz 이었다. R-R 간격, QRS 지속시간, 및 QT 간격을 전술한 바와 같이 측정하였다(Berul, C. I., Aronovitz, M. J., Wang, P. J. & Mendelsohn, M. E. In vivo cardiac electrophysiology studies in the mouse. *Circulation* **94**, 2641-2648 (1996), Mitchell, G. F., Jeron, A. & Koren, G. Measurement of heart rate and Q-T interval in the conscious mouse. *Am. J. Physiol.* **274**, H747-H751 (1998)). 상기 QTc 간격 측정에 대하여 바제트 식(Bazett formula)을 사용하였다(Bazett, H. C. An analysis of the time-relations of electrocardiograms. *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* **2**, 177-194 (1997)). 모든 매개변수를 심장병 전문의 및 맹검 연구자(blinded investigator)에 의해 두 번 측정하였다. 심장병 전문의 및 전기생리학자에 대한 내부 관측자 변동성(intra-observer variability)은 10% 미만이었다. 심장 내 전기기록도를 심장 그물망 전극 및 4F 양극성 전극 카테터(bipolar electrode catheter)로부터 얻었다(2 mm 간격; St. Jude Medical, St. Paul, MN). 2 ms 지속시간의 사각형 자극 펄스의 조율 임계치(pacing threshold)에서, 프로그램가능한 디지털 자극기(Bloom DTU 215,

Fisher Medical Technologies, Denver, CO)로 시뮬레이션을 두 번 수행하였다. 심실 부정빈맥을 적어도 네 번 이상의 심실 박동으로 정의하였고, 심장 내 전기기록도 상의 방실 해리(atrioventricular dissociation)에 기반하여 동정하였다.

[0041] **실시예 8. LV 카테터 삽입(catheterization)**

[0042] 침습적 혈류역학에 위하여 LV 카테터 삽입을 수행하였다. 밀라 마이크로-팁 2 F 압력 변환기(Millar Mikro-tip 2 F pressure transducer)(model SPR-838, Millar Instruments, Houston, TX)를 정점(apex)을 통하여 LV에 도입하였다. 실시간 압력 루프를 기록하고, 모든 데이터를 독립된 연구자가 PVAN 3.5 소프트웨어(PVAN 3.5 software)(Millar)로 오프라인 분석하였다.

[0043] **실시예 9. 심장 초음파 검사**

[0044] 심장 초음파 검사기(Vivid i, GE Healthcare)를 11 MHz M12L-RS 선형 배열 변환기(linear array transducer)와 함께 사용하였다. 중간-LV(mid-LV)의 흉골 연단축(parasternal short axis)을 연구에 사용하였다. 영상 깊이(image depth)는 2차 조화파 이미징을 사용하는 234 내지 340 프레임/초 획득의, 2 내지 2.5 cm이었다. ECG 게이팅(gating)을 사용하였다.

[0045] **실시예 10. 스펙클 추적 반경 스트레인(speckle tracking radial strain)**

[0046] 비-도플러 스트레인(non-Dopler strain)을, 전술한 바와 같은 전용 소프트웨어 패키지(EchoPac PC; GE Healthcare)를 사용하여 측정하였다(Migrino, R. Q. *et al.* Assessment of segmental myocardial viability using regional 2-dimensional strain echocardiography. *J. Am. Soc. Echocardiogr.* **20**, 342-351 (2007)). (다음의 R 파에 대한 R 파의 피크로부터 정의된) 각 심장 주기의 경우, 수축 말기에 심내막 경계(endocardial border)를 수동으로 추적하였다. 실시간으로 적절한 추적을 확인하였고, 관심 영역을 조정하거나 최적의 추적을 보장하기 위하여 수동으로 윤곽을 보정함으로써 상기 추적을 보정하였다. 외측 경계를 심외막과 유사하도록 조정하였다. 심장 주기에 걸친 중간-LV의 6 세그먼트에서 소프트웨어가 자동으로 반경 스트레인을 계산하였다. 수축 말기를 반경 스트레인 속도가 양(positive)이 된 후 0이 되는 시점으로 정의하였다. 데이터를 독립적 연구자가 두 번 오프라인 분석하였다. 내부 관측자 변동성은 10% 미만이었다.

[0047] **실시예 11. 심근 벽 스트레스**

[0048] 2 차원 심장 초음파상(Vivid i, GE Healthcare)을 밀라 카테터가 있는 LV 캐비티 내 압력과 동시에 기록하였다. 압력 파형이 심장 상의 심장 초음파 변형기에 의해 왜곡되지 않을 때, 분석을 위한 데이터를 수집하였다. echoPAC 소프트웨어로 얻은 반경 스트레인 및 변위의 시간 분해 수치(Time-resolved numerical value)를 매트랩(Matlab)(Mathworks, US)으로 전송하였다. 심근 스트레스 또한 치리노스 방법(method of Chirinos)을 사용한 매트랩으로 처리하였다(Chirinos, J. A. *et al.* Time-varying myocardial stress and systolic pressure-stress relationship: role in myocardial-arterial coupling in hypertension. *Circulation* **119**, 2798-2807 (2009)).

[0049] **실시예 12. 조직학적 분석**

[0050] 심장을 4°C 에서 24 시간 동안 10% 포르말린 용액에 고정하였다. 파라핀 블록을 제작하였고, 2 μm 슬라이드를 메이슨 트릭롬 염색으로 제조하였다.

[0051] **실시예 13. 통계적 분석**

[0052] 데이터를 연속 변수에 대한 ±SE 평균 및 범주형 변수에 대한 비율로 표현하였다. 매개변수적 변수의 경우, 그룹 및 샘플 쌍의 통계적 분석을 스튜던트 t-검정 및 대응표본 t-검정으로 각각 수행하였다. 선형 혼합 모델을

각 그룹의 반복된 측정을 설명하기 위하여 사용하였다. 선형 혼합 모델에서, 무작위 효과 및 조건(동박절(sinus rhythm), 그물망의 존재 유무), 조율(420 ms, 320 ms, 280 ms), 및 고정된 효과로서의 상호작용으로서 동물을 포함하였다. 조율 수준 및 조건 사이의 차이를 분석하기 위하여, 적절한 대조군을 선택하였다. 종단-확장 압력에서의 차이, 최대 및 최소 dP/dt 값, 동박절에서 그룹들 사이의 타우 값(tau values) 및 각 조율 주기의 길이(420 ms, 320 ms, and 280 ms)를 비교하였다.  $P < 0.05$ 를 통계적으로 중요한 차이를 나타내는 것으로 간주하였다. 통계적 분석을 윈도우용 SPSS 패키지(version 18.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하여 수행하였다.

[0053] 상기 구불구불한 심장 그물망의 전기적 및 기계적 효과를 대조군 및 후-심근 경색증(MI) 라트의 심장을 사용하여 시험하였다. 대조군 내에서, 상기 심장 그물망의 전기적 감지 및 조율 기능을 먼저 측정하였다( $n=9$ ; 도 5a, 5b). 삼판 및 흉골절개(sternotomy)한 후, 기저선(baseline) 표면 ECG를 기록하고, 양 심실의 전체 표면을 덮는 맞춤형(custom-fitted) 심장 그물망을 대조군에 이식하였다(도 5b). 양 심실의 전기적 활성화를 상기 심장 그물망의 이극성(bipolar) 전극을 사용하여 기록하였다(도 5c). 상기 심장 그물망으로부터 기록된 전기기록도는 뚜렷한 기저선의 변동(drift) 없이 안정된 심실 신호를 나타내었다. 대조적으로, 우심실에 위치한 이극성 전극으로부터의 전기기록도는 기저선 변동이 분명했다(도 5c, 5e). QRS-T 콤플렉스(QRS-T complex)를 뺀 후, 상기 심장 그물망 전기기록도에서 보이는 기저선 변동의 정도는 현저하게 감소하였고, 이는 상기 심장 그물망이 잘 통합되었고 움직이는 심장의 심외막 표면에 잘 융합되었다는 것을 나타낸다. 상기 전반적 재동기화 조율의 전기적 효과를 시험하기 위하여, 280 ms의 주기 길이(cycle length, CL)에서 전체 심실 조율을 대조군( $n=8$ )의 상기 심장 그물망을 통하여 전달하였다. 사지 리드(limb lead)에 걸친 표면의 전기기록도는 상기 심장 그물망을 통한 전반적 재동기화 조율을 하는 동안, RV 정점부(apical) 조율에 의한 넓은 QRS 콤플렉스에 비해 좁은 QRS 콤플렉스로 나타났다(도 5d, 5l). 심장 그물망 조율에서 QRS 콤플렉스의 지속시간은 동리듬(sinus rhythm)과 거의 동일했고( $28.5 \pm 0.7$  ms 그물망 조율 vs.  $28.6 \pm 0.7$  ms 동리듬,  $p > 0.05$ ; 도 5l), RV 정점(apex) 조율할 때에 비해 현저히 짧았다( $43.5 \pm 0.98$  ms; 도 5l). 이러한 결과는 전반적 재동기화 조율에 의한 전체 전도 시간이 건강한 히스-퍼킨지 전도 시스템을 통한 것과 거의 동일함을 나타낸다.

[0054] 이어서, MI는 인간의 심부전의 가장 흔한 원인이기 때문에, 본 발명자들은 후 심근 경색증(MI) 라트 모델에서 심장 그물망 조율을 평가하였다. MI를 유도하기 위하여, 좌전 하행 동맥 결찰(left anterior descending artery ligation)을 시행한 36 마리의 동물 중, 8 주 후에, 단 19 마리(53%)만이 생존하였다. 그 때 흉골절개술을 시행하였고, 상기 심장 그물망을 이식하였다(도 5f, 5h). 도 5f 및 5h는 8주 후 심근 경색 심장 및 양 심실을 덮고 있는 상기 심장 그물망의 경색 부위의 대표적인 예를 보여준다. 메이슨 트리크롬 조직학(Masson's trichrome histology)은 상기 후 MI 심장에서 경계가 뚜렷한(well-demarcated) 흉터 병변을 나타내었다(도 5g). MI에 의한 전도 시스템 및 심근의 손상을 반영한, 내재 리듬(intrinsic rhythm) 동안의 평균 QRS 지속시간은 대조군에 비해 현저하게 연장되었다( $n = 12$ ;  $p < 0.05$ ; 도 5l). 중요한 것은, 후 MI 심장에서 상기 심장 그물망을 통한 전반적 재동기화 조율은, 동리듬 또는 정상에 가깝도록 상기 QRS 지속시간을 감소시키는 심장 그물망 조율(도 5k) 동안의 대조군 심장에서 관찰된 것과 유사한 QRS 지속시간을 야기한다( $43.9 \pm 4.8$  ms 내재 리듬 vs.  $26.1 \pm 2.5$  ms 심장 그물망,  $p < 0.05$ ; 도 5l, 5m). 심장 그물망 조율에 의해 37 ms 감소된 지속시간의 기저선(66 ms)에서 현저하게 넓은 QRS 콤플렉스의 한 동물을 제외한, 모든 후-MI 전기 생리학 연구를 완료한 라트는 QRS 지속시간의 정상화를 나타내었다(도 5m). 마지막으로, 상기 심장 그물망은, 상기 후-MI 심장에서 자발적으로 발생하는, 심실 부정빈맥(VT) 및 심실 세동(VF)과 같은 비정상적인 전기적 활동을 감지 및 종결시키는 능력을 보여주었다(도 5i, 5j). 2 J의 이상성(biphasic) 전기 충격을 VF를 성공적으로 종결시키는 심장 그물망을 통해 전달하였고, 임상의 조율 및 제세동 모두에 대한 이의 잠재적인 용도를 보여주었다.

[0055] 2차원적 초음파 검사를 대조군( $n=5/5$ ) 및 후-MI 라트( $n=6/7$ )에서 수행하였다. 초음파 검사 이전에 한 마리의 라트가 죽었고, 기저선 초음파 검사에 이어지는 상기 심장 그물망 수술 도중 한 마리가 죽었다. 예상한 바와 같이, 후-MI 라트는 좌심실(LV) 수축 기능의 감소 및 대조군에 비해 큰 LV 수축 말기의 크기를 나타내었다(도 6a). 모든 후-MI 심장은 40% 이하의 구획 단축률(fractional shortening, FS)을 가졌고( $22.1 \pm 1.56\%$ ; 도 6a), 전반적 재동기화 치료의 혈류역학적 효과의 적절한 평가를 수행할 수 있음을 보장한다. 전반적 재동기화 조율은 후-MI 라트에서 FS를 51% 까지 증가시킨 반면(FS,  $33.3 \pm 1.98\%$ ), 대조군에서는 현저한 변화가 발견되지 아니하였다(도 6a). 상기 LV 벽의 개별 세그먼트(segment)를 추가적으로 평가하기 위하여, 심장 그물망 조율 동안에 중간(mid)-LV 수준에서 심근의 횡방향 스트레인을, 대조군 및 후-MI 심장에서 스펙클 트래킹(speckle tracking)으로 측정하였다. 동기화된 수축 패턴이 상기 대조군에서 전반적 심장 그물망 조율 동안에 모든 6 중간-LV 세그먼트에서 관찰된 반면, RV 조율 동안에는 동기이상(dyssynchronous)의 수축기 수축을 보였다. 6 LV 세그먼트



에서 대조군 라트의 상기 심근 스트레인이 280 ms의 CL의 심장 그물망 조율에 의한 변화가 없는 반면(도 6b), 상기 후-MI 라트 심장(n=5)은 동리들 동안에 이미지화된 각 LV 세그먼트에서 하락한 스트레인을 나타내었고, 심장 그물망 조율 동안에 심근 스트레인의 상당한 개선을 나타내었다(도 6b).

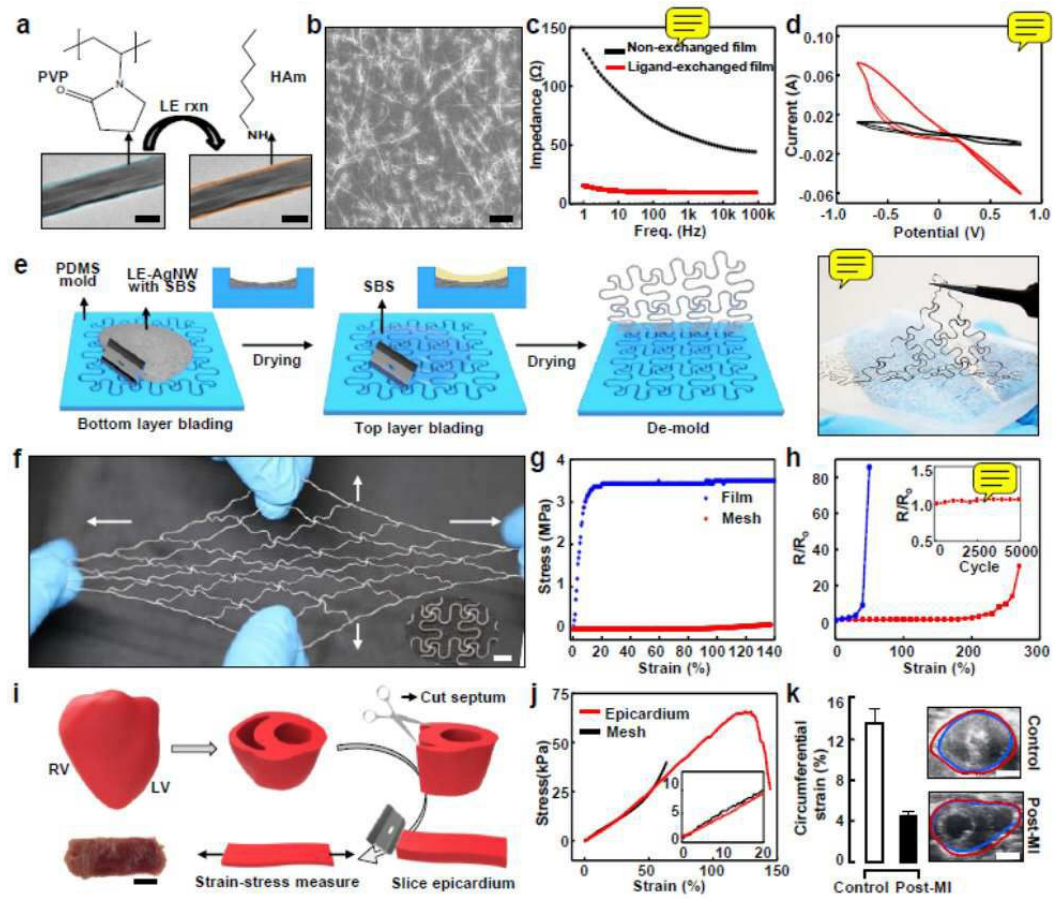
[0056] 이어서, 상기 구불구불한 심장 그물망을 사용한 전반적 재동기화 조율의 혈류역학적 효과를 LV 캐비티(LV cavity)의 실시간 압력 모니터링으로 평가하였다(부피 센서와 전기적 조율 자극 사이의 간섭으로 인해 카테터(catheter)의 부피 센서를 사용할 수 없었다). 대조군(n=5) 및 후-MI 라트(n=5, 모든 동물에 대해  $p>0.05$ ;)에서, 조율 없이, 상기 구불구불한 심장 그물망의 이식은 상기 LV 확장 말기 압력 및 타우(tau)(확장기 이완 지수)를 크게 변화시키지 아니하였다(도 6e). 대조군에 비해, 후-MI 심장은 수축 기능의 매개변수인 LV 압력 최대 변화율의 하락을 나타내었고( $dp/dt_{max}$ ), LVEDP가 상승하였으며, 수축 및 이완 기능의 장애를 나타내는 타우가 증가하였다(도 6c, 6e). 심장 박동수(heart rate)가 LV 수축 기능에 영향을 미칠 수 있기 때문에, 본 발명자들은 다른 CL에서 전반적 재동기화 조율의 혈류역학적 효과를 추가적으로 평가하였다. 420 ms, 320 ms, 및 280 ms의 CL에서, 심장 그물망 조율을 상기 심실 활성화가 내재 히스-퍼킨지 전도 시스템을 통하여 일어나는 우심방(RV) 조율과 비교하였다. 대조군에서, RA 조율과 비교했을 때,  $dt_{max}$ 가 각 CL에서의 심장 그물망 조율하는 동안과 유사하였다(도 6c). 상기 후-MI 심장에서, 심장 그물망 조율은 420 ms, 320ms, 및 280 ms의 CL에서 각각 2.5%, 22.5%, 및 31.6%의 평균  $dt_{max}$ 의 향상을 보여주었다(도 6c). 이러한 연구 결과는 심장 그물망 조율의 전기-기계적 동기화 효과가 (i) 건강한 심장 내 히스-퍼킨지 시스템을 통한 전기-기계적 활성화와 유사하다는 것을 나타내고, (ii) 후-MI 심장에서 개선된 혈류역학을 야기한다.

[0057] 벽 스트레스의 변화를 측정하기 위하여, 본 발명자들은 하나의 대조군과 하나의 후-MI 심장에서, 밀라 카테터(Millar catheter)로 LV 압력을 동시에 기록하고, 중간-LV 반경 스트레인(radial strain)을 심장초음파(echocardiography)로 측정하였다. 심장 그물망 조율을 하는 동안, 상기 후-MI 심장에서 벽 스트레스는 전체 심장 주기(이완기 및 수축기) 동안에 감소하였지만, 상기 대조군 심장에서는 최소로 감소하였다(도 6d). 또한, 본 발명자들은 상기 심장 그물망이 LVEDP 및 타우를 포함한 이완기 매개변수에 크게 영향을 미치지 않았음을 확인했다(도 6e). 중요한 것은, 모든 실험용 라트의 심장에서 상기 LV 압력의 협착 패턴(constrictive pattern)이 관찰되지 아니하였다.

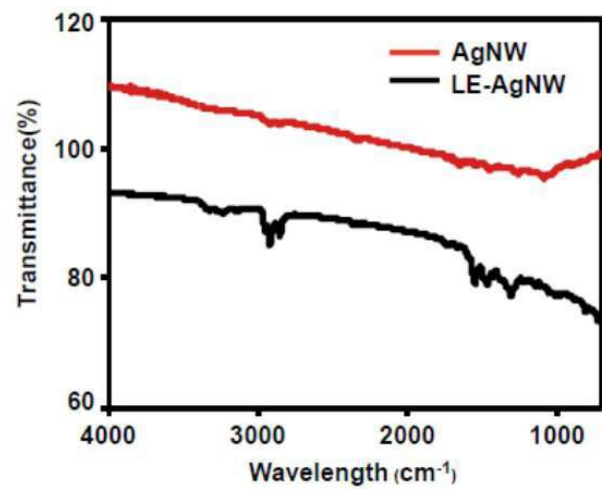


도면

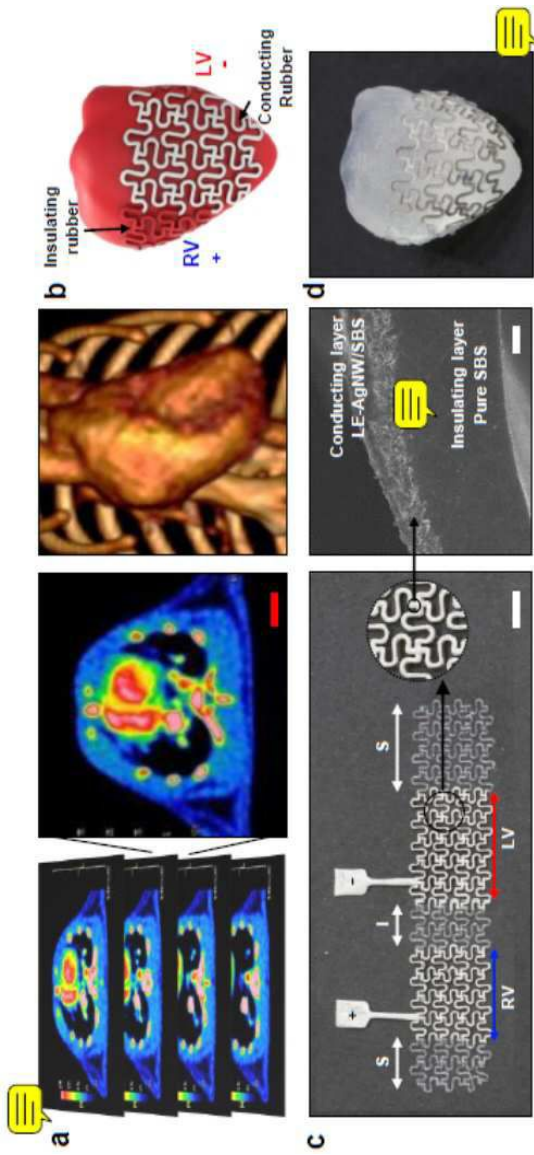
도면1



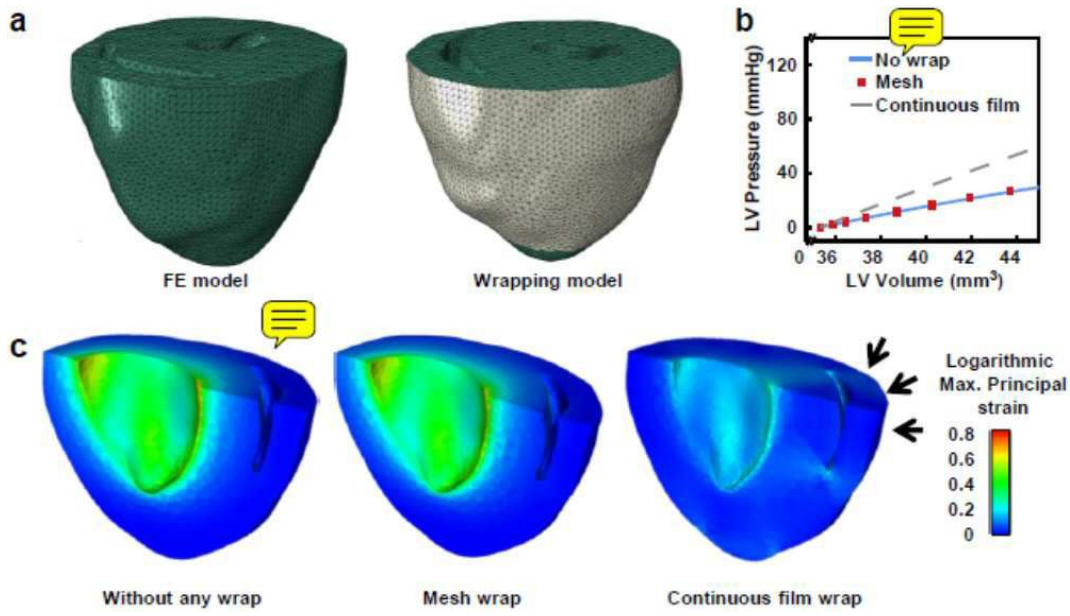
도면2



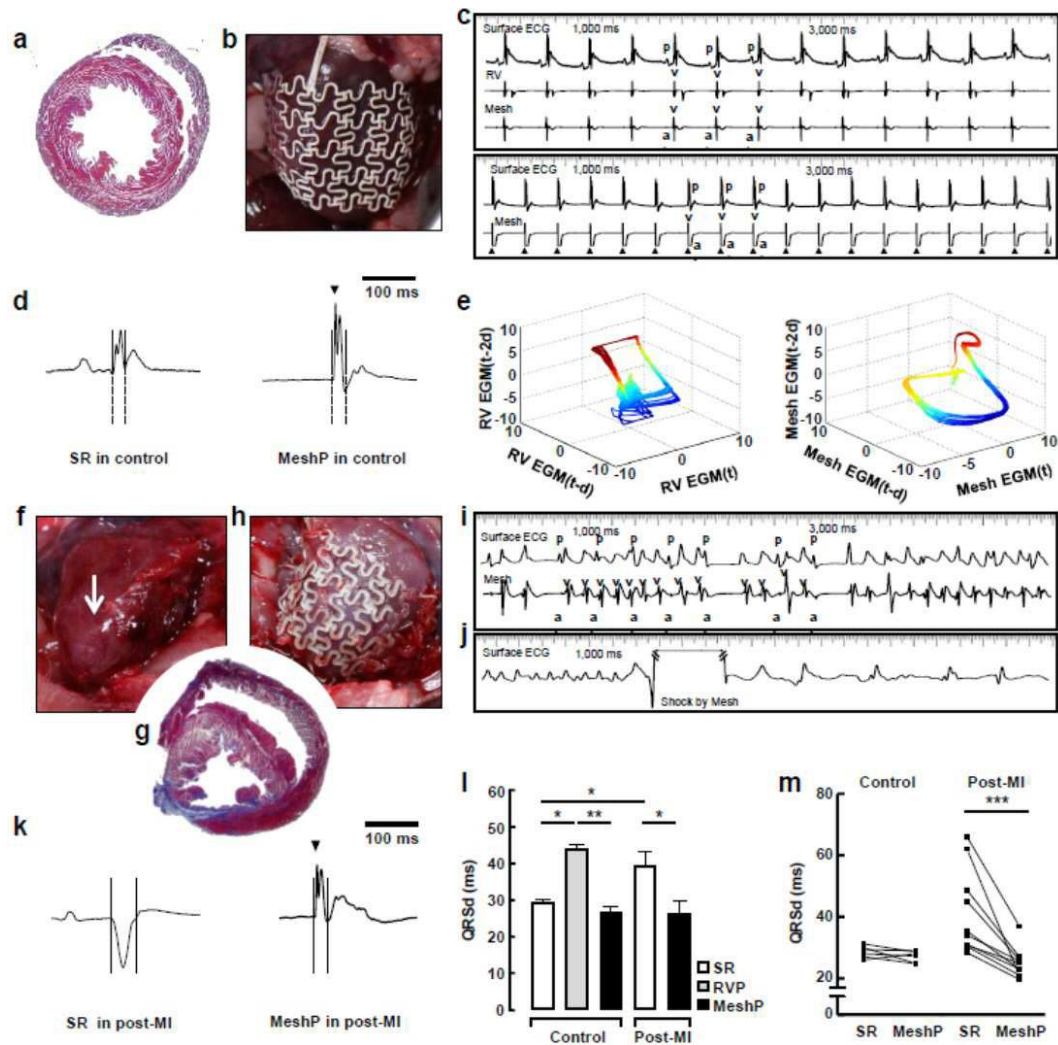
도면3



도면4



도면5



도면6

