

백서 대퇴골 결손부에 매식된 밀랍지혈제의 조직반응에 관한 실험적 연구

원광대학교 치과대학 구강악안면외과학 교실
김장연* · 한경수 · 엄인웅 · 정호용

AN EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECTS OF BONE WAX ON THE MOUSE FEMORAL BONE DEFECTS

Jang-Yun kim*, Kyung-Su Han, In-Woong Um, Ho-Yong Chung
Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Wonkwang University

- Abstract -

This study was designed to evaluate the reactions of mouse femoral bone to bone wax. In sixteen mice with a strain of I. C. R. mouse weighed approximately 300 to 350g, 2.0~2.0mm sized bone defects were created by drilling. Half of mice were inserted by bone wax and the remainder serving as control without bone wax application. The mice were sacrificed 1, 2, 6, 8 weeks after operation and block specimens were prepared for light microscopy examination.

The results obtained were as follows.

1. *Histologic features of tissue reaction to bone wax were the presence of inflammatory cell infiltration and multinucleated giant cell.*
2. *Bone wax healing from the created margin were markedly impaired by the application of bone wax.*
3. *New bone formation was markedly decreased in bone wax application.*

I. 서 론

외과분야에서 수술시 피질골로부터 출혈은 해버어스관(Haversian canal)과 볼크만관(Volkmann's canal)을 주행하는 혈관에서 발생되며 일반적인 혈관과는 달리 광범위한 부위에서 발생되기 때문에 골출혈을 조절하기란 매우 어렵고 때론 불가능한 것으로 알려져 왔으며 이에 따라 밀랍지혈제는 골조직에 대한 지혈제로서 그 유용성 및 생물학적인 특성에 대하여 오랜동안 임상가들의 관심의 대상이

되어 왔다¹⁾.

밀랍지혈제는 오래전부터 골조직의 출혈을 조절하는 목적으로 광범위하게 사용되어져 왔으나 자체의 화학적인 지혈성분에 의한 지혈작용이 아니라 기계적인 Tamponade의 작용으로 지혈효과를 나타내는 것으로 알려져 있으며 수술부위에 쉽게 적용될 수 있고 조작 및 준비가 용이하여 그 결과가 짧은 시간내에 나타난다는 장점이 있다^{2,3)}. 밀랍지혈제는 1892년 Paker에 의해 처음 소개되었고 그 성분은 Horsley에 의하여 알려졌으며 beeswax,

almond oil 과 salicylic acid의 구성요소를 갖는다^{4,5}). 골조직 지혈을 목적으로 Frantz 등은 동물실험에서 Oxidized Cellulose를 이용하였으며 Handerson은 고분자량의 Polyethylene Glycol을 그 밀랍지혈제 기본 구성으로 이용하였으며 Geary 등은 Polyethylene Glycol에 bone dust나 marrow paste 등을 섞어서 또는 단독으로 사용하였지만 현재 밀랍지혈제가 가장 널리 이용되고 있는 실정이다^{2,6}).

밀랍지혈제가 광범위하게 사용됨에도 불구하고 생물학적 특성과 국소조직에 대한 반응 등에 대한 연구는 그동안 미흡하였다. 1969년 Howard와 Kelly는 쥐의 경골 병소에서 밀랍지혈제가 치유에 미치는 영향을 관찰하였고 1984년 Sorrenti등은 밀랍지혈제에 대한 사람 경골의 국소반응을 관찰하였으며 1987년 Alberius와 Klings, Sorrenti 등은 토끼의 두개골 병소에서 밀랍지혈제의 국소반응을 관찰하였으나 이물반응과 염증반응에 대해서는 각 저자들의 견해가 반드시 일치하지는 않았었다^{2,3}).

따라서 저자 등은 밀랍지혈제의 골에 대한 국소이물반응 및 염증반응을 조직학적으로 알아보기 위해 쥐의 대퇴골에 인위적인 결손부를 만들어 밀랍지혈제를 삽입하여 그 치유과정을 조직학적으로 관찰하여 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구재료

1) 실험동물

16마리의 L.C.R mouse를(300~350g) 일정 기간 시판되는 고행사료로 사육하여 실험하

였다.

2) 밀랍지혈제

Ethicon Inc. 제품으로 고순도의 밀랍 및 연성제로 isopropyl palmitate를 사용하였다.⁷⁾

2. 연구방법

1) 동물실험

Ketamine Hcl(250mg/kg)를 근육주사하여 전신마취후 Ether로 흡입마취 유지시켰다. 쥐의 우측대퇴골부위를 제모 및 소독한 후 대퇴골과 평행하게 절개를 가하고 피부 및 근육을 박리하여 대퇴골을 노출시켰다. Round Bur로 대퇴골의 피질골에 hole을 형성한 후 밀랍지혈제를 삽입하였다. 대조군은 hole만 형성하여 두며 대퇴골이 골절되지 않도록 주의하였다. Hole을 형성하는 동안 소독된 생리식염수로 세척하여 발열로 인한 골의 손상을 최소로 줄이도록 하였다. 과량의 밀랍지혈제는 모두 제거하도록 하였다. 완전한 지혈을 한 후 4-0 black silk로 봉합을 한 후 다시 povidone iodine으로 소독하고 소독된 생리식염수 20ml을 등쪽에 피하 주사하여 술 중, 술 후 탈수과정을 보상하고 술후 창상 감염방지를 위하여 항생제 Linocin 10mg/kg를 근육주사하였다.

2) 조직표본 제작 및 광학현미경적 관찰

각 실험군과 대조군을 1, 2, 6, 8주에 Ether를 처사량 흡입하여 희생시킨후 10% 포르말린에 고정하였다. EDTA(Ethyl Diamine Tetraacetic Acid)로 탈회하고 파라핀 포매하여 4-7 μ m의 초박절편을 만들어 헤마토실린과 에오신으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

III. 연구 성적

1. 광학현미경적 관찰

밀랍지혈제에 대한 골 치유단계 초기의 염증 반응과 이물반응, 섬유조직반응 및 말기의 골재형성을 대조군과 비교, 관찰하였다.

1) 실험군 1, 2주 소견—심한 염증세포 침윤이 산재해 근육층까지 파급되어 있고 조골화 세포의 활동도 거의 없고 섬유아세포, 신생 모세혈관 출현이 없었다. 신생골 침착으로 형성된 골 침착선(Reversal line)의 관찰이 시작되었고 주위에 심한 이물거대 세포(Foreign body type giant cell)의 관찰과 염증세포 침윤에 의한 조직파괴가 관찰되었다.

3) 실험군 6, 8주 소견—가골이 보이며 신생골 전단계의 연골에서 골로 되는 단계가 변연부에서 관찰되나 한정된 섬유반응 및 공포화된 거대세포가 관찰되었다. 이물반응은 줄어들어 양상을 보이거나 잔존되어 있고 섬유조직의 증식은 뚜렷이 보였다.

5) 대조군 1, 2주 소견—신생골 형성이 보이기 시작하며 실험군 보다 빠르다.

경미한 염증 세포침윤은 있지만 실험군보다 적었다.

섬유아세포, 신생 모세혈관 출현, 육아조직 형성은 거의 관찰할 수 없었다. 1주 보다 골 형성이 많았으나 중증도의 염증세포 침윤이 보였다. Osteocyte가 잘 관찰되고 염증세포 침윤이 많았다.

7) 대조군 6, 8주 소견—염증세포 침윤은 급격히 감소하고, 육아조직 형성단계는 더 진행되었다. 정상골과 친화성이 증가되었다. 가골형성이 보이고 주위골과 골 융합을 이루었으며 성숙된 골의 양태를 보였다.

IV. 총괄 및 고찰

일반적으로 밀랍지혈제는 지혈제의 작용보다는 기계적인 작용에 의한 효과가 크며 채액에 의한 용해성이 적고 조직으로의 흡수가 되지 않아 매식 후 장기간동안 매식부위에 잔존하게 된다. 잔존된 지혈제의 제거는 대식세포에 의존하게 되어 이물반응을 일으키고 매식된 조직에 염증반응을 유도하여 감염발생을 증진시킨다¹⁾.

Geray와 Frantz 등은 백서에 매식한 밀랍지혈제가 술 후 4일째에 이물거대세포 반응이 나타나고 개에 의한 실험에서도 이물 반응이 나타남을 관찰하였으며 Selden 등은 근관 치료시 밀랍지혈제가 염증 반응 및 이물 반응을 보인다고 보고하였으며 Alberius 등은 경미한 골 형성을 방해한다고 보고한 반면 Sorrenti 등은 완전한 골 형성이 되지 않은 골 합성이 이루어진다고 보고하였다^{3,5,7,17)}

골에 대한 밀랍지혈제의 이물 반응 및 염증 반응이 각자 학자마다 정도의 차이가 있지만 밀랍지혈제에 대한 골 조직의 반응은 다음 3단계로 나눌 수 있다.

1) 초기의 비특이적 염증 반응과 2) 잔존되어 있는 밀랍지혈제의 이물 반응 및 이를 제거하기 위한 3) 대식세포의 작용으로 인한 두드러진 섬유성 반응 등이다⁵⁾.

본 실험의 대조군에서는 무충골의 형성과 함께 조기 조골세포의 활성을 1주일 후 관찰하였고, 6주 후에 모든 결손부가 골조직으로 대부분 또는 완전히 대체되는 양상을 보였다. 반대로, 밀랍지혈제가 골면에 적용된 경우는 골재형성이 뚜렷이 지연되고 있었다. 1주일 후부터 결손부는 육아조직으로 채워지고, 골

형성은 밀랍지혈제 적용부의 변연부에서만 관찰할 수 있었다. 7주 후 결손부는 섬유성 육아조직으로 채워지고, 밀랍지혈제로 덮힌 부위는 골아세포를 관찰할 수 없었다.

이들 효과는 이전 보고와도 일치하는 것으로, Geary와 Frantz(1950)는 개의 늑골골절 부위에 매식된 밀랍지혈제의 실험연구에서 이물반응이 59일 후에도 잔존함을 보여 골치유가 지연되는 것을 증명하였고 Howard and Kelly(1969)는 골형성이 크게 저하됨을 발견하였다^{1,2,10-13}).

Sorrenti 등에 의해 밝혀진 것처럼, 이런 요인은 섬유반응을 유도하거나 골형성 억제(예: 변위성 골형성)하는데 사용될 수 있다^{5,14-16}. 감소된 재생력은 관찰에서는 위관절증(Pseudoarthrosis)의 선천성 발생을 의미하고(Howard and Kelley 1969) 개흉술 후 각 흉골간의 개방을 초래하였다²). 반대로 두개부 수술과 관련된 의사들 즉 신경외과 뿐 아니라 악안면 성형외과의는 미성숙 봉합 골유합증 환자에서 조기 재융합을 방지하기 위한 골형성 억제 등의 장점을 얻을 수 있었다^{3,17,18}).

이러한 관찰결과는 임상적으로도 관찰할 수 있었는데 Sorrenti 등은 골절환자의 대퇴골에서 적용된 밀랍지혈제를 4개월, 6개월, 9개월, 13개월째에 Bone Screw를 제거하면서 같이 연조직을 떼어내어 조직반응을 관찰하였는데 모두 비특이성 섬유성 반응 및 이물거대세포 반응을 보였고 성숙된 섬유조직내 염증 반응은 보이지 않았다고 보고하였다⁵). 결론적으로, 밀랍지혈제는 주로 출혈되는 골면에 적용되어 기계적 요인에 의해 지혈효과를 나타내지만 또한 골형성의 억제나 섬유성 반응의 유도를 위해서도 사용되어진다⁵). Tibial tubercle의

거상을 시행받았던 12명의 성인환자로부터 채취한 표본에서 Sorrenti 등은 모두 3단계를 인정한 반면, 쥐 견갑부 피하조직과 개의 늑골골절부에서 반응을 관찰한 Geary and Frantz 등은 120여일 동안 섬유성 반응을 관찰하지 못하였다¹). 이것은 아마 골형성 과정에 집중 부위에서 시행한 것으로 인한 것 같다.

반대로, Howard and Kelly(1969) 등은 100일에서 200일 된 쥐를 좌측 경골부 전방 피질골에 골수강까지 들어가도록 구멍을 형성하고 밀랍지혈제를 삽입하여 실험 후 12시간에서 60일에 거쳐 희생시켜 관찰한 결과 이물질 세포 활성의 결핍으로 인한 미약한 초기 염증만을 관찰할 수 있었고 이 기간은 사람과 비교해 쥐에서 골재생에 증거를 비교할 수 있는 관찰 기간이다^{2,5,19,20}).

많은 학자들이 지혈 목적으로 다른 약제들을 사용하였는데 치근단 수술시에 Lusk는 Oxycellulose를 골강내에 packing해 주었으며 Grossman은 cotten-roll sponge에 1:100 epinephrin을 적셔서 사용 하였으며 Sommer, Ostrander, Crowley 등은 혈관 수축제들을 gauze에 적시어 사용하였다^{21,22,23}). 또한 Ingle는 helatin sponge에 혈관수축제를 적시어 사용하였고 Rossman은 Teflon drape를 이용하였다^{24,25}).

V. 결 론

저자는 피질 또는 망상골의 국소지혈제로 주로 사용되는 밀랍지혈제의 골에 대한 조직반응을 알아보기 위해 웅성백서 16마리를 대상으로 우측대퇴골 결소부에 적용하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조군은 1주의 초기에는 경미한 염증 세포 침윤이 보였으나 2주부터 신생골 형성을 시작하고 후기에는 정상적 신생골 형성 및 재형성 과정을 보였다.
2. 실험군의 초기 1, 2주에는 심한 염증세포 침윤이 근육층까지 파급되어 조직파괴 양상까지 보였으며 이물거대 세포가 관찰되었다. 조골세포의 활성도와 섬유아 세포, 신생 모세혈관의 출현은 없었다.
3. 실험군의 후기 6, 8주에서는 한정된 섬유증식 및 공포화된 거대세포가 관찰되었고 이물반응은 뚜렷하였으나 초기보다는 감소하였다. Callus(가골)에서 골로 대체되는 단계가 골변연부에서 관찰되었다.

참 고 문 헌

1. Geary, J.R, and Frantz, V, K : New absorbable hemostatic bone wax. *Ann. Surg.*132(1950)1128.
2. Horward, T.C., Kelley, R.R : The effect of bone wax on the healing of experimental rat tibial lesions. *Clin. Orthop.*63(1969)226.
3. P.Alberius, B.Klinge, and S.Sjogren : Effects of bone wax on rabbit cranial bone lesions. *J.Cranio-Max.-Fac.Surg.*15(1987)63.
4. Horsely, V : Antiseptic wax. *Br.Med. J.*1(1892)1165.
5. Sorrenti, S.J., W.J.Cumming, D.Miller : Reaction of the human tibia to bone wax. *Clin.Orthop.*182(1984) 293.
6. Frantz, V.K., Clarke, H.T., and Latters, R : Hemostasis with absorbable gauze(oxidaized cellulose), *Ann. Surg.*120(1944)181.
7. Selden H. : Bone wax as an effective hemostat in periapical surgery . *Oral Surg.* vol.29(1970)262-264.
8. Berman, A.T., J.S.Reid, D.R.Yanicko Jr., G.C.Sib, M.R.Zimmerman : Thermally induced bone necrosis in rabbits.Relation to implant failure in human. *Clin. Orthop.* 186(1984)284.
9. Craft, P.D., M.M.Mani, J.Pazel, F.W. Masters : Experimental study of healing in fractures of membranous bone. *Plast.Reconstr.Surg.* 53(1974) 321.
10. Johnson P, Fromm D. : Effects of bone wax on bacterial clearance . *Surgery* 89 : (1981)206-209.
11. Robicsek F., Masters T., Littman L., Born G. : The embolization of bone wax from sternotomy incisions *Ann. Thorac. Surg.*31(1981)357-359.
12. Meleney, F.L., B.Johnson, E.J.Pulaski and F.Colonna : Treatment of Mixed Infections with Penicillin. *J.A.M.A.*, 130(1946)121.
13. Scarborough, R.A. : The Blood Picture of Normal Laboratory Animals *The Rat.Yale J.Biol. | Med.*, 2(1931) 267.

14. Shaffer, C.B., F.H.Critchfield and C.P. Carpenter : Renal Excretion and Volume Distribution of Some Polyethylene Glycol in thy Dog.Am J.Physiol ., 152(1948)93.
15. Smyth, H.F., C.P.Carpenter and C.B. Shaffer : Subacute Toxicity and Irritation of Polyethylene Glycols of Approximate Molecular weight of 200, 300 and 400. J.Am.Pharm A., (Scient. Ed), 36(1947)157.
16. Aegerter, E., and Kirkpartrick, J. : Orthopedic Disease, ed. Philadelphia , Saunders, 2(1963)225.
17. Geary, J.R., and Frantz, V.K : New absorbable hemostatic bone wax, Ann. Surg.132(1950)1128-1137.
18. Lindsay, M.K. : Obserbations on fracture healing in rats, J.Bone Jt. Surg.16(1934)162-167.
19. Murray, C.R. : The timing of the fracture healing process, J.Bone Jt. Surg.45-B(1963)770-779.
20. Udupa, K., and Prasad, G. : Studies on the organic constituents in fracture repair in rats, J.Bone Jt.Surg.45-B(1963)770-779.
21. Luks, S. : Root End Amalgam Technic in the Practice of Endodontics , J.Am.Dent.A. 53(1956)424-428.
22. Grossman, L.L : Endodontic Praticce, ed.5, Phililadelphia, Lea | Febiger, pp. (1960)364-365.
23. Sommer, R., Ostrander, F., and Crowley, M. : Clinical Endodontics, ed. 2, Philadelphia, W.B.Saunders Company, PP.(1962)214-215.
24. Ingle, J.I : Endodontics, Philadelphia, Lea | Febiger, pp. (1965)534-538.
25. Roseman, S. : Personal Communication, 1963.

Explanation of Figures

- Fig.1. Microphotography of Inlay group, 1 week, showing early organization of colt filling direct.(H | E, x40)
- Fig.2. Photography of Inlay group, 2 weeks, showing mild reversal lines by new bone apposition at lateral side of bone wax. (H | E, x40)
- Fig.3. Photography of Inlay group, 2 weeks, showing fibroblastic reaction with young granulation tissue.(H | E, x40)
- Fig.4. Photography of Inlay group, 6 weeks, showing active bone production and then connected to the external periosteum. (H | E, x40)
- Fig.5. Photography of Inlay group, 6 weeks, showing high power of Fig.4. . Hypertrophic hyaline cartilages or callus was observed.(H | E, x400)
- Fig.6. Photography of Inlay group, 6 weeks, showing mature osseous tissue and no osteoblasts was seen on the surfaces of bone wax.(H | E. x40)
- Fig.7. Photography of decortication group, 1 weeks, showing new bone formation. (H | E, x40)
- Fig.8. Photography of decortication group, 1 weeks, showing osteoblastic activity with formation of non-lamellar bone.(H | E, x100)
- Fig.9. Photography of decortication group, 2 weeks, showing mild inflammatory cell infiltrations.(H | E, x40)
- Fig.10. Photography of decortication group, 2 weeks, showing high magnification of Fig.9.It contains many reversal lines. (H | E, x200)
- Fig.11. Photography of decortication group, 6 weeks, showing mature callus formation. (H | E, x100)
- Fig.12. Photography of decortication group, 9 weeks, showing union.(H | E, x40)

사진부도(I)

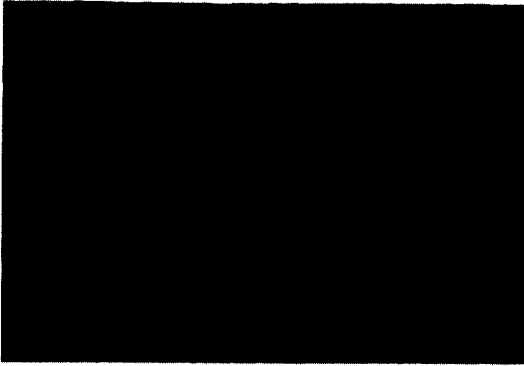


Fig.1

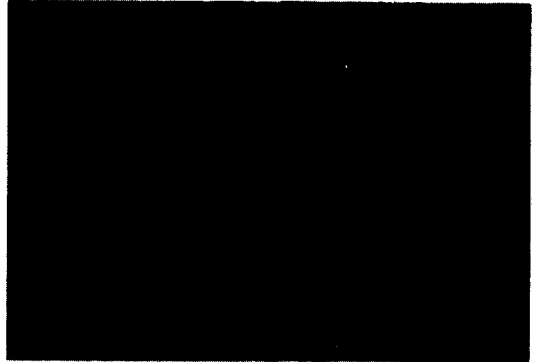


Fig.2

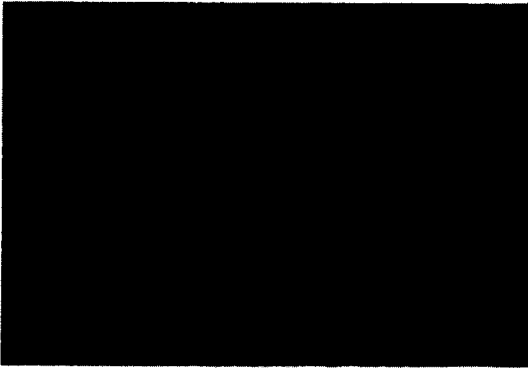


Fig.3

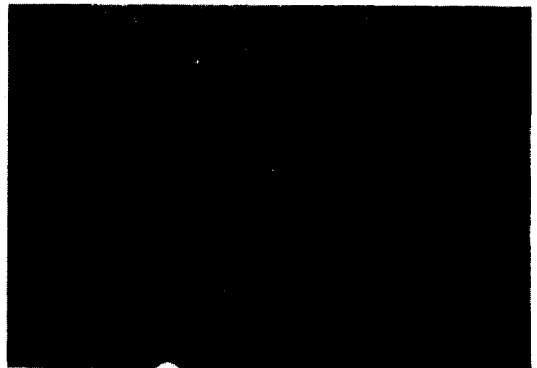


Fig.4



Fig.5

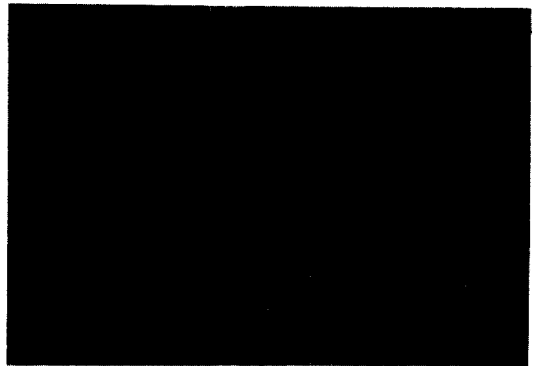


Fig.6

사진부도(II)

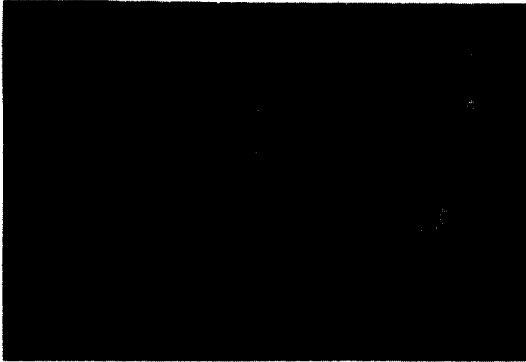


Fig.7.



Fig.8.

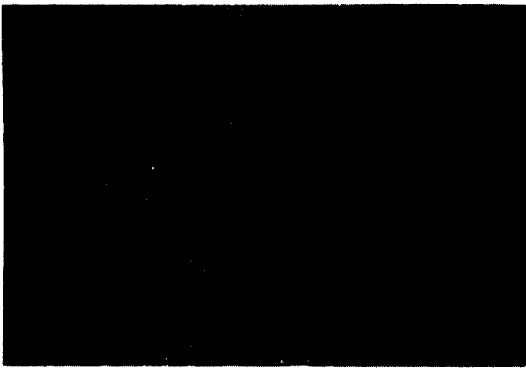


Fig.9.

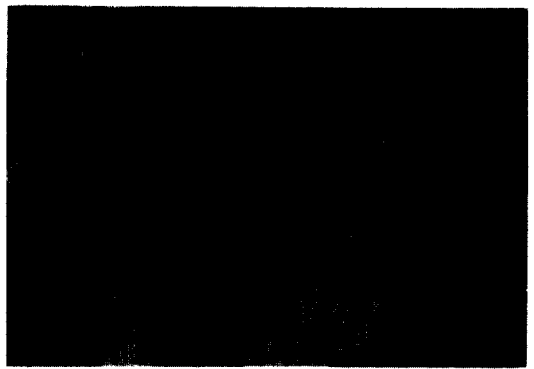


Fig.10.



Fig.11.

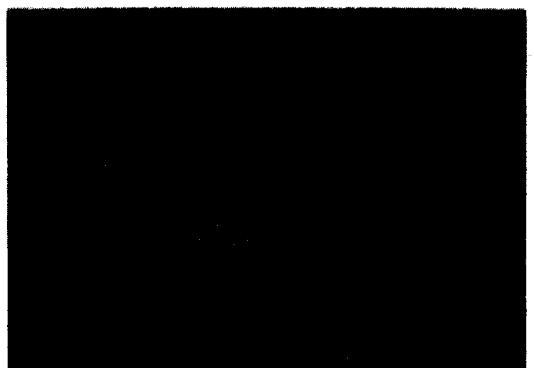


Fig.12.