

저분자량 헤파린이 쥐 서혜부 유리피판 이식술에 미치는 영향

전북대학교의과대학 정형외과학교실, 병리학교실*

이준모 • 이강욱 • 이동근*

— Abstract —

The Effect of Low Molecular Weight Heparin on Groin Flap Transplantation in Rat

Jun-Mo Lee, M.D., Gang-Wook Lee, M.D. and Dong-Geun Lee, M.D.*

*Department of Orthopedic Surgery and Pathology
Chonbuk National University Hospital, Chonju, Korea*

Free tissue transplantation is commonly performed with the brilliant achievement in microsurgery and anticoagulants and antithrombotic agents have been prescribed in the procedures. However, there is no clean-cut indication as to which agents would be more effective in every steps and final consequences.

Low molecular weight heparins inhibiting coagulation in platelet-rich plasma and acting on the vascular endothelium have antithrombotic and fibrinolysis action.

The experiment with rat groin free flap transplantation after 6-hour ischemia and injection of the low molecular weight heparin was performed and the results between the injection and non-injection group were analysed as follows,

1. Both of the 24-hour groups, vessel patency was not proportional to color change of the groin flap.
2. On the second day after anastomosis, heparin-injection group showed intact intima, patent lumen without thrombus, and mild granulomatous inflammation around the suture material and control group with doubtful patency revealed intimal loss and thrombus formation.
3. On the 5th, 7th, and 9th postoperative day, heparin group was patent in anastomosis and showed acute inflammatory cells.
4. The 7th-week period, heparin-injection group showed intact flap color, patent lumen with intact intima and persistent foreign body granuloma.

Key Words : Free tissue, Low molecular weight heparin

서 론

임상적으로 수술 현미경을 이용한 미세수술은, 동물실험과 함께 진일보하여 보편화되었고 높은 성공율을 유지할 수 있었으나 아직도 유리 피판 이식술시에는 정상적인 술식과정에서 최소한의 허혈시간을 허용하여야 하며, 미세수술 완료후 재관류시에 초래되기도 하는 재관류 손상(reperfusion-injury)에 따른 유리 피판 이식술의 실패는, 부실한 수술 수기와 불량한 혈관 그리고 미숙한 술후 처치방법 등이 원인으로 논의되어 왔으며 이에 대한 구제술은, 발견되는 문제점을 조기에 시정하는 한편, 허혈-재관류에 대한 조직의 내성(tolerance)을 개선시키는 조치를 취하는데, 이중 술 후 시행하는 약물요법이 재관류 손상을 개선시킬 수 있는 중요한 방법중의 하나로 널리 인식되어 있으며, 항혈전 작용 및 섬유소 용해 작용이 있는 저분자량 헤파린은 미세수술 영역에서도 효과적으로 사용되고 있다¹⁾.

저자들은 쥐의 우측 서혜부에서 유리피판을 얻어, 평균 6시간의 허혈후, 동일 공여부에 재접합하였으며, 실험군에서는 저분자량 헤파린을 주사한 후, 최초 24시간후 부터 최장 7주까지 유리피판의 육안적 소견, 재접합 대퇴혈관의 개존성과 함께 조직학적 연구를 시행하여, 그 결과를 문헌고찰과 함께 보고하고자 한다.

대상 및 방법

성숙한 평균 493.5g (413-581그램) Sprague-Dawley 쥐를 대상으로 2.5% pentobarbital (30mg/kg)을 복강내에 주사하여 마취시킨후, 수술판에 양와위로 눕힌 후, 우측 서혜부에 직경 약 3센티미터의 유리피판을 도식하여, 하방 내측부위부터 절개를 가하여 표재성 상복부 혈관(superficial epigastric vessel)을 확인한 후, 서혜부 인대 내측에서는 복부 근육이 다치지 않도록 주의하고, 외상방에는 비교적 굵은 표피혈관이 교통하고 있어, 피판 유리시에 결찰하여 분리하였다. 미세수술 현미경 시야에서 첫 단계로, 표재성 상복부 혈관이 대퇴 혈관(femoral vessel)에서 서혜부 유리

피판으로 가지되는 약 1 센티미터 원위부에서 대퇴혈관을 결찰한 후 두번째 단계로, 서혜부 인대와 표재성 상복부 혈관이 대퇴혈관에서 분지되는 중간부위에서 대퇴동맥, 대퇴정맥의 순서로 결찰하고 미세수술 가위로 절단하여 직경 약 3센티미터의 원형의 서혜부 유리 피판을 얻었다(Fig. 1). 살레(schale)에 하트만 용액(Hartmann's solution)을 적신 거어즈를 놓고 거어즈 위에 피판을 위치시킨 후 건조를 막기 위하여 뚜껑을 덮어 실내 온도(섭씨 약 20-23 도)로 유지시켰다.

약 6시간의 허혈 후, 동일한 미세수술 전문의사 1인이(JML), 10.0Ethilon* 나일론실을 이용한 미세수술 기법으로, 대퇴 정맥, 동맥의 순서로 유리 피판을 재접합하였으며, 이후 접합 혈관부위의 개존성의 확인과 함께 저분자량 헤파린 0.03ml(750 Unit)를 몸체의 피하에 주사하였다. 수술후 24 시간 부터 7주까지 약물을 투여한 군과 비투여군의 각 군당 3-4마리에 대하여 이들의 육안적 피판 색의 변화, 혈관탐사시 접합부의 개존성과 함께 희생된 후 얻어진 대퇴 동맥 및 정맥, 그리고 상복부 천지 동맥 및 정맥을 Hematoxlin과 Eosin염색을 실시하였다.

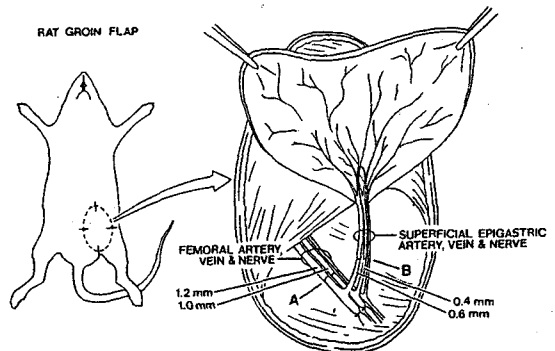


Fig. 1. Schematic drawing of the groin free flap transplantation in rat (Redrawn from Seaber A: Laboratory design in preparing for elective microvascular surgery. Hand Clinics 1: 233-245, 1985).

결 과

육안적으로 피판의 색의 변화를 관찰하고, 재접합된 혈관의 탐사시에는 개존성의 여부를 관찰하였는데, 술후 24시간까지는 피판 색의 변화로는

개존성을 판단할 수 없었으나 헤파린을 주사하였던 군과 대조군의 모두에서 개존성이 유지되었고, 술후 2일째 재탐사시 실험군과 대조군에서 개존성이 의심스러웠던 예 중, 대조군에서 조직학적으로 내강을 가득 메운 혈전 형성과 동맥 내막(endothelium)의 상실, 중간막(media)의 출혈성 괴사, 그리고 외막(adventitia)에서는 염증세포가 심하게 침윤되어 있었으나(Fig. 2. A.), 헤파린을 주사한 실험군에서는 혈전 형성 없이 동맥 내막이 건재하였고, 동맥 내강도 유지되었으며 경도의 육아종

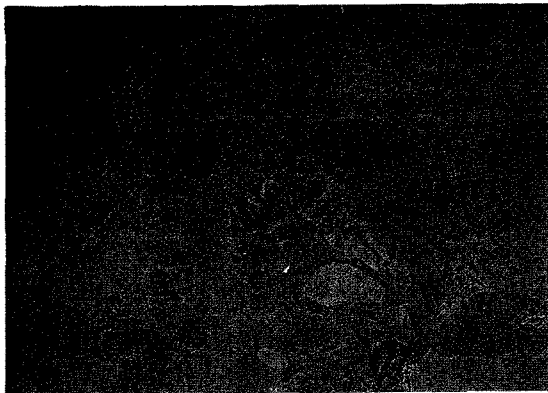


Fig. 2.A. On the second day after microvascular anastomosis in control group without strong patent using empty-and-refill test showed intimal loss, thrombus formation. Suture material is noticed on the periphery (H-E stain x 100).

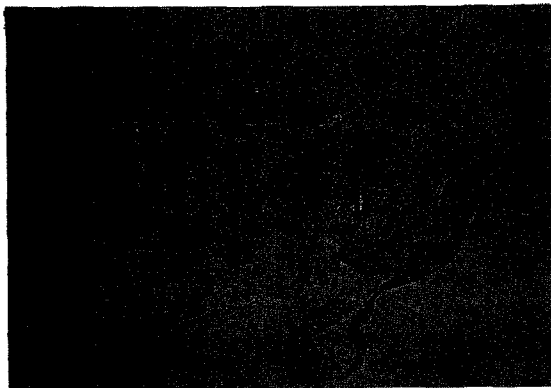


Fig. 2.B. On the second day in heparin group revealed intact intima and patent lumen without thrombus. Suture material with mild granulomatous inflammation is noticed on the periphery (H-E stain x 100).

성 염증이 봉합사 주위로 보였다(Fig. 2. B.). 술후 5일, 7일 그리고 9일에서 육안적으로 피관의 색은 정상으로 유지되고 재탐사시 동맥의 개존성은 검사(empty-and-refill test)결과에서 정상적이었으며, 조직학적으로 급성 염증성 세포가 미약하게 보이는 예도 있었고 봉합사 주위로의 육아종성 반응도 있었다. 술후 7주의 실험군에서는 동맥이 건재하였으나 봉합사 주위로의 육아종성 반응은 잔존하고 있었다(Fig. 3).



Fig. 3. Microphotograph of the anastomosis 7 weeks after microvascular anastomosis with heparin-injection shows patent lumen with intact intima and persistent foreign body granuloma (H-E stain x 100).

고 찰

미세수술 영역에서 직경 1밀리미터(mm) 정도의 혈관 접합수기는 많은 실험을 통하여²⁾임상에서도 확립되어 문제점없이 시행되고 있으며, 또한 외상성 절단 환자에서 혈관등의 재접합술 또는 온존한 혈관 등이 전위되는 유리 피관 이식술에서의 순환 장애는 혈관내에 발생하는 혈전, 수여 혈관 자체의 불량(poor), 혈관 질환 뿐만 아니라 혈종 형성 등의 미숙한 술후 조치등으로 초래되는데 이러한 허혈-재관류 손상의 원인들은 고도의 수술수기가 유지되는 예에서도 발생하므로, 정상 상태의 유리 조직 이식술 등에서 조직을 허혈-재관류 손상에서 구제하기 위하여는 첫째, 조기발견과 문제점 해결, 둘째는 허혈-재관류의 내성을 개선하기 위한 방도의 발견 등을 해결점으로 제시하고 있다³⁾.

이외에도 학자에 따라서는 유리조직 이식술 등에서도 실패하는 경우를 경험하면서 임계(critical) 허혈시간을 벗어나는 실험을 시행하여 여러가지 약물의 효과를 평가하여 왔으며, 따라서 허혈시간에 따른 예후는 수술 시기 뿐만 아니라 여러 인자들에 의하여 영향받는 것으로 인정되고 있다⁴⁾.

임상 및 실험 통계에 의하면 미세 혈관 접합술 후 항 혈전 약제, 혈전 용해제, 혈관 확장제, 혈장 확장제(plasma expander) 등의 투여는 투여시기 및 중단 시기에 약간의 이점이 있기도 하지만, 보편적으로 인정되어 사용되고 있으며 실험동물에서, 손상받았거나 또는 온전한 혈관의 미세수술 후 항 혈전 약제의 효능(efficacy)은 사람에서는 상이할 수도 있어 많은 실험과 객관적인 평가가 요구된다. 쥐 대퇴동맥에서 혈전 제거술 후 헤파린의 효능을 실험하였는데, 대조 혈관에서는 10% 미만에서 개존성이 유지되었으나, 전신적 헤파린 사용시 50% 이상에서 개존성이 확립되었으며, 쥐의 대퇴정맥에서 집게(forceps)를 이용한 실험에서 대조군의 90%에서는 혈전이 발생하였으나, 전신적 헤파린 투여군에서는 8%에서만 발생하였다고 보고하고 있는데, 저분자량 헤파린은 강력한 항 혈전 작용과 부작용인 출혈경향이 극소라는 장점 때문에 최근 연구되고 있는 약물중의 하나이다⁵⁾.

미세 혈관 접합술에서 건조 현상, 국소 혈전 및 혈관 경련 등을 예방하기 위하여 국소적으로 관류 용액을 이용한 관류요법을 시행하였는데, 헤파린 등은 단기(short-term) 또는 장기(long-term) 개존성을 향상시킨다고 하며⁶⁾, 전신적으로 사용시 헤파린은 간접적으로 응고인자 X_a 와 트롬빈(thrombin)에 작용하여 항응고 작용을 한다. 분자량이 적고 부하밀도가 낮으며 실험실과 생체내에서 부등가인 저분자량 헤파린(Fraxiparine*)은 antithrombin을 인자 X_a 에 결합시켜 해리작용을 한다⁷⁾. 저자들은 서혜부 유리 피관을 약 6시간의 허혈 후 미세수술 기법을 이용하여 동일 공여부에 재 이식술을 시행하고, 기존의 헤파린과 다소 상이하게 항 혈전 및 섬유소 분해작용 등의 약리작용을 동시에 발휘하는 저분자량 헤파린 0.03ml(750Unit)를 몸체의 피하조직에 주사한 후 사육하여 희생시킨 후 조직학적 변화를 관찰하였는데 개존성이 유지된

예에서 혈전 형성 없이 동맥 내막이 견재하였고, 술후 2일째부터 봉합사 주위로 보이는 육아종성 염증은 술후 6주까지 잔존하고 있었다. Acland 등⁸⁾에 의하면 혈관 봉합후 1시간에서 2일까지는 혈관 내막(intima)이 봉합부에서 상실되는 것을 관찰하였고, 술후 21일 째에는 1-8개 두께의 세포(flat cell)가 혈관 벽을 나열하고 있었다고 보고하였으며, 술후 38일 째는 봉합사 주위로의 이물성 육아종성 반응을 관찰하여 저자들의 소견과 일치하였다.

결 론

전북대학교병원 정형외과학교실에서는 성숙한 Sprague-Dawley 쥐의 서혜부 유리 피관 이식술 후 약물요법을 시행한 군과 대조군을 술후 최장 7주 까지 사육한 후 연구하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 술후 2일째 재탐사시 실험군과 개존성이 약간 의심스러웠던 예에서 헤파린을 주사한 실험군에서 혈전 형성없이 동맥 내막이 견재하였고 동맥 내강도 유지되었으며, 대조군에서는 내강을 메운 혈전 형성과 동맥 내막(endothelium)의 상실, 중간막(media)의 출혈성 괴사, 그리고 외막(adventitia)에 심한 염증 세포의 침윤을 보였다.

2. 술후 5일, 7일, 그리고 9일에서 육안적으로 피관의 색은 정상으로 유지되었으며, 재탐사시 동맥의 개존성은 검사(empty-and-refill test)에서 정상이었으며, 조직학적으로 급성 염증성 세포가 미약하게 보였다.

3. 술후 7주의 실험군에서는 동맥 내막이 견재하였으나 봉합사 주위로의 육아종성 반응은 잔존하였다.

미세 혈관 봉합술 후의 예후는 완벽한 수술 기법과 짧은 허혈 시간 그리고 약요물요법에 대한 실험 및 임상적 경험이 축적된 경우에는 보다 더 좋은 결과를 기대할 수 있을 것으로 사료 되었다.

<실험을 도와주신 임상실험연구소 박준기 선생님에게 감사드립니다.>

REFERENCES

1. Variel EG: *Heparins and fibrinolysis. Low Molecular weight heparins in clinical practice.* 51-61, 1992.
2. Georgiade N, Georgiade G: *Microsurgical composite tissue transplantation.* 3-16, 1979.
3. Kerrigan CL, Stotland MA: *Ischemia reperfusion injury: A review.* *Microsurgery* 14 : 165-175, 1993.
4. Chait LA, May JW, O'Brien BM, Hurley JV: *The effects of the perfusion of various solutions on the no-reflow phenomenon in experimental free flaps.* *Plast & Reconstr Surg* 61 : 421-430, 1978
5. Siegel DB: *Use of anticoagulants in replantation and elective microsurgery.* *Microsurgery* 12 : 277-280, 1991
6. Reichel CA, Croll GH, Puckett CL: *A comparison of irrigation solutions for microanastomoses.* *J hand Surg* 13A : 33-36, 1988.
7. Hirsh J, Oforu F, Buchanan M: *Rationale behind the development of low molecular weight heparin derivatives.* *Semin Thromb Hemost* 11 : 13-16, 1985
8. Acland RD, Trachtenberg L: *The histopathology of small arteries following experimental microvascular anastomosis.* *Plast & Reconstr Surg* 59 : 868-875, 1977