방사선 조사가 쥐의 유리 혈행 피판 치유과정에 미치는 영향에 관한 연구

원광대학교 치과대학 구강악안면외과학 교실
민승기 · 이동근

EFFECT OF IRRADIATIN ON HEALING PROCESS IN FREE VASCULARIZED FLAP OF RATS

Seung-Ki Min D. D. S., Ph. D., Dong-Keun Lee D. D. S., Ph. D.
Department of Oral & Maxillofacial Surgery
school of Dentistry, Wonkwang University

Many patients with malignancies of the head and neck undergo radiation therapy, either as the only method of treatment or in combination with surgery. Radiation therapy has great effect in the case of fairly advanced malignancies which can't be operated radically. But the complication of radiation therapy arise because of damage to the peri- and operated area.

It is fully known that irradiated tissue shows retarded healing process in the skin, mucosa and especially vascuslar tissue.

The purpose of this study was to observe the healing process of irradiated free or island flap after operation.

As Experimental Models,

Femoral arterial and venous anastomosis (Group 1), Epigastric-island flap (Group 2) and free Epigastric falp(Group 3) with irradiated postoperative 24 hrs were made on 30 rats/group.

As Control Model(Group 4),

Free Epigastric flap was not irradiated after operation was chosen on 30 rats.

The amount of irradiation was single fraction of 20 Gy using as linear megavoltage accelerator.

Difference between Experimental and Control group was evaluated by the method of clinical examination, histopatholoical findings, biochemical analsysis and DNA activity at postoperative 1, 3, 7, 14 and 28 days.

The results were as follows,

1. *Skin color and new epithelization in group 2 and 3 was similar to control group clinically.*
2. *Postoperarive patency of femoral artery and vien showed 5% and 22% of ischemity.*
3. *The externa, media and intima of irradiated femoral artery and vein were similar to control group histopathlogically.*
4. *Granulation and collagen tissue accumulation of irradiated groups were more active due*

to degenerative and fibrotic changes than control group at postoperative 7 days histopathologically.

5. *The hydroxyproline content of all experimental groups were reduced till 14 days and the group 2 was most prominent at postoperative 7 and 28 days($p<0.05$).*
6. *DNA activites of all groups were reduced till 3 days, but begun to recover at 7 days and more activites in control group than irradiated group($p<0.05$).*

Based on the above results, the clinical healing process of free flaps with irradiated postoperative 24 hrs little difference from control group without complications.

Ⅰ. 서 론

방사선 요법은 수술 요법과 더불어 진행된 두경부 영역의 암종 치료에 그 중요성이 더욱 증가되었으며 술전, 후에 많은 환자들이 방사선 치료를 받으며, 최근에는 5년 생존률의 현저한 증가를 보이고 있다[1]. 그렇지만 방사선 조사 그 자체는 창상치유시 진피층 섬유모세포가 근원 섬유모세포로의 전이, 세포의 증식 및 합성능을 방해하여 지연된 창사 치유를 나타내며, 2차적으로 조직의 누공형성 및 출혈을 야기하는 혈관들의 손상을 가져와 치명적이 될 수도 있다[2-4]. 또한 조직내에서 산소결핍 및 국소적 부종, 조직괴사, 염증반응의 소실등을 일으키는 불량한 혈관 공급을 야기하나 아직 혈관 손상 및 조직 저산소증 등에 관여하는 의견들이 다양하다[2,5].

일반적으로 방사선 자체는 조사받은 창상에서 교원질 형성에 관여하는 DNA등에 직접적으로 영향을 주어 정상적인 창상치유 과정과 비교시 치유 기간이 늦게 진행되며[6] Pohle과 Ritchie등[7,8]은 방사선 조사받은 피부 창상의 조직학적 소견에서 섬유모세포의 증식에 저해작용이 있었으나 창상의 완전 치유에는 별 영향이 없었다고 하였다.

교원질에는 proline과 hydroxyproline같은 아미노산이 존재하고 hydroxyproline은 직접적으로 교원질 분자구조와 섞이지 않고 수산화(hydroxylation)에 의한 peptidebound proline과 합성되어 진다[9]. 이러한 구조적으로 안정하고 특이하게 차지하고 있는 hydroxyprline은 교원질 합성을 측정하는데 이용되어 지고 hydroxyproline의 양이 많을 수록 전체 교원질 많이 이루어졌음을 나타내며 창상 치유과정에 직접적으로 관련됨을 알수 있다[10].

처음으로 Haberland[11](1923)가 방사선 조사는 창상치유시 섬유모세포의 성장 및 활성화를 방해하여 치유과정을 지연시킨다고 실험적으로 보고한 이래 Maximow[12](1923), Dobbs[13](1939), Pohle등[14](1949), Nickson 등[15](1953), Levenson[16](1965), Powers등[17](1967), Sumi등[18](1984), 서와 리[19](1991) 등의 창상치유 과정에 대한 방사선 영향에 관한 연구 보고들이 있어 왔다. 유리 피부이식과 방사선 감수성과의 관계에서 Cram등[20](1958)은 수술후 정상조직과 거의 동일한 반응을 나타낸다고 보고하였으며 Rubin등[21](1960)은 방사선 조사와 아식피판의 혈류공급 사이에 plasmic circulation (early hypovascular stage), vascularization (hypervascular stage), organic union(normal vascular stage), contraction(late hypovascular stage)등으로 술후 치유과정에 따른 방사선 영향을 연구하였고 정상조직과 서로 다른 치유과정을 나타낸다고 보고하였다.

그러나 이러한 연구들은 주로 피부나 비혈행성 피판에 국한되어 정상 피부에서 일어나는 방사선 감수성 반응과 동일한 결과를 나타내고 혈행성 피판의 방사선 감수성에 대한 연구는 아직 미미한 실정이다[22]. 그러나, Segmuller 등[23](1983)과 Karcher 등[22](1986)은 실험적으로 유리 혈행 피판에 술후 방사선을 조사하여 조직의 손상없이 피판이 잘 치유됨을 보고하

였다.

수술적 요법과 방사선요법을 병행함에 있어 Sumi등[18]등(1984)은 피판의 치유 과정중에 방사선 조사는 심한 손상을 야기하므로 임상적으로 수술후 3주 내지 4주후부터 방사선 치료를 권장하였다. Patterson등[24]은 조직의 혈류 공급에 최대한 영향을 적게 미칠수 있는 방사선 조사후 4-6주이내에 외과적 술식을 권장하였다. 일반적으로 방사선 조사는 창상 치유 과정에 최소한의 영향력을 미치게 하기위하여 술후 4-6주후부터 행하여 왔으나 오히려 치료 과정중의 적절한 시기를 지연시킴으로써 방사선 치료효과를 감소시켰고 최근에는 수술후 2주내에 방사선조사의 조기치료가 권장되고 있는 실정이다[25].

Ellis[26](1971)는 정상 피부조직을 보일수 있는 방사선의 단일용량으로 20Gy정도를 제시하였으며 Hall[27](1978)과 Kfueger등[28](1977)은 20 Gy의 단일조사량은 환자가 약 6주가에 50Gy 및 65Gy의 방사선 조사를 받는 양과 비슷한 조직반응을 가진다고 하였다.

세포의 활성도를 나타내는 방법으로 시약들을 이용한 세포수 평가법, 복수 염색을 통한 평가법, 방사선 동위원소를 이용한 평가법 그리고 [^{125}I]iododeoxyuridine을 이용한 세포분화도 측정법등이 있으며 이중 ^{3}H-thymidine을 이용한 동위원소법은 세포활성도를 나타내는데 있어 많은 양을 매우 정확하게 측정할 수 있다는 장점이 있다[29].

이에 저자는 암종 수술후 재건술시에 많이 이용되어 지는 방사선 조사가 유리혈행피판에 미치는 영향력을 알아보기 위하여 피판 형성후 총 20Gy의 방사선을 단일조사하여 임상적 피판 창상 치유과정 및 조직학적, 생화학적 검사, 방사선 동위원소 검사등을 통하여 방사선 조사가 창상 치유과정에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

II. 연구 재료 및 방법

(1) 연구재료

체중 약 300그람 정도의 웅성백서(Wistar albino) 120 마리를 대상으로 하였으며 30마리씩 4군으로 나누었다. 즉,

제1군 : 대퇴 동·정맥 문합후 방사선 조사군,

제2군 : 상복부의 섬피판 형성후 방사선 조사군,

제3군 : 유리 상복부 피판 형성후 방사선 조사군,

제4군 : 대조군으로써 유리 상복부 피판형성후 방사선 조사 받지 않은 군등이며 실험의 일정성을 유지하기 위하여 실험동물은 실험 1주일 전부터 시판되는 사료 및 일반적인 조건하에서 사육하였다.

(2) 연구방법

1) 동물 실험

각 실험동물은 펜토탈소듐(50 mg/kg, 중외제약)을 복강내 주사하여 전신 마취시킨후 통법에 의한 제모 및 소독을 시행하였다. 제1실험군은 좌측 서혜부(groin area)의 약 3cm절개를 통하여 대퇴 동·정맥을 노출시켰으며 중앙 부위를 미세가위로 절단한 후 10-0 nylon (CYANAMID MEDICAL DEVICE OC INC. ANYANG, KOREA)으로 미세현미경(WILD HEERBRUGG SWITZERLAND, magnification X25)하에서 단단문합술(end-to-end anastomosis)을 시행하였다(Fig.1). 제2 실험군은 동측의 대퇴 동·정맥에서 분지되는 상복부 동·정맥을 확인하여 분리한 후 2×2cm 크기의 상복부 섬피판(inferior margin of the thorax-linea alba medially-lateral abdomed)을 형성한 후 4-0 vicryl로 단순봉합하였다(Fig.2). 제3 실험군은 제2군의 형성된 피판에 상복부 동·정맥을 대퇴 동·정맥에 가까이 절단하여 유리피판을 형성한후 10-0 nylon으로 단단문합술을 시행하였다(Fig.3). 제4군은 대조군으로써 제3 실험군과 동일한 피판을 형성하고 방사선 조사는 시행하지 않았다.

2) 방사선 조사

술후 24시간에 모든 실험군은 펜토탈소듐을 이용하여 전신마취시킨후 2.5mm두께의 납판으로 다른 부위는 보호한 상태에서 Linear acce-

lerator 6 Mev x-ray(Mitzubish, MCGM, Japan)를 이용하여 술부에 SSD(source-skin distance) 100cm, 2.5Gy/min의 선량으로 총 20 Gy를 단일조사하였다(Fig.4).

3) 창상 치유과정 평가

방사선 조사후 각군은 1, 3, 7, 14, 28일째 펜토탈소듐을 이용한 전신 마취후 임상적인 및 미세 현미경하에서의 동·정맥의 개존성(patency)상태, 혈관 이상 여부를 관찰하고 희생시킨 후 Hematoxylin & Eosin염색을 통한 조직학적 소견등을 관찰하였다.

4) 생화학적 검사

Rojkind등[30](1979)의 방법에 의한 조직의 wet weight 당 hydroxyproline용량을 측정하였다.

조직을 0.2g씩 시료당 취해 2ml 6N HCl에

FIGURE 1. Femoral A. and V. anastomosis.

FIGURE 2. The epigastric-island flap after operation.

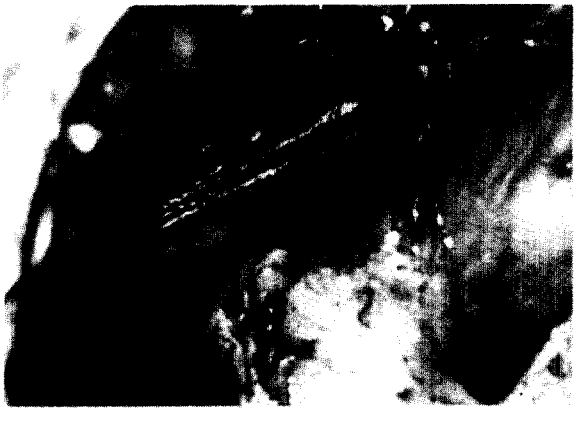


FIGURE 3. The free epigastric flap after microvascular anastomosis.

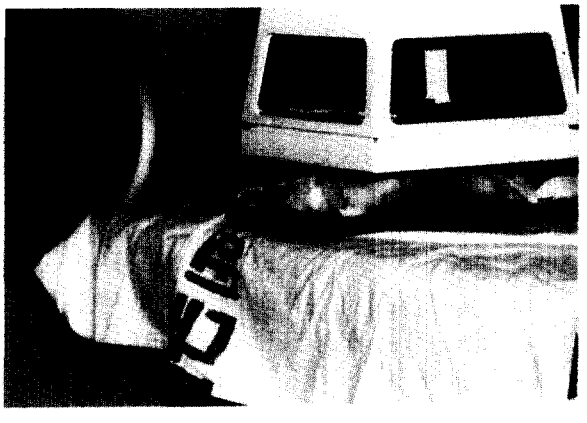


FIGURE 4. Irradiation with 20 Gy single dose (Mitzubish, MCGM, Japan)

넣고 균질화한 다음 110℃에서 16시간 가수분해시켰다. 각 시료를 여과한 후 측정시 오차를 줄이기 위해 표본을 100ml씩 2번 취해서 2회 중복 측정하였다. 수욕상(water bath)에서 건조시킨 후, methanol을 가하고 100℃에서 보온(incubation)하여 남아 있는 염산을 제거하였다.

1.2ml 50% isopropanol을 넣어 남은 침전물을 용해하고, 200μl chloramine-T용액과 섞어 10분간 방치하였다. 1.2ml의 Erhlich반응 시약을 넣어 섞은 후, 시험관을 막고 50℃에서 90분간 보온(incubation)한 다음 상온에서 식혀 double beam spectrophotometry(ELISA readers)를 이용하여 558nm에서 측정하였다(Fig. 5).

표준측정(Standard) : 실험하고자 하는 표본의 적정기준을 설정하기 위하여 1mg의 hydroxyproline을 1ml 6N 염산에 녹여 stock solution을 만들고 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0mg/25ml 6N 염산이 되게 희석한 후 뚜껑을 막고 100℃에서 12시간 가수분해시켰다.

5) DNA활성도 검사

DNA 활성도 검사를 위하여 thymidine([^{3}H]-T, Thymidine-methyl-^{3}H, New English Nuclear Co., specific activity 6.45 c/nmole)방사선 동위 원소를 이용하였다. 즉, Bruno Barbirori [31]의 방법을 기준으로 하여 몸무게 100g당 thymidine을 40μCi를 0.4ml생리식염수에 섞어 대퇴정맥에 주사하였으며 1시간후 동물을 희생시킨 후 피판조직을 채취하였다. 채취된 조직은 0.2g씩 동일화시켰으며 1500μl의 질산용액을 넣고 70도 물탱크에서 15분간 담가두어 조직을 완전히 용해시켰다. 그 후 1000μl 증류수에 희석시킨 후 중화를 위해 Tis 200μl을 첨가하

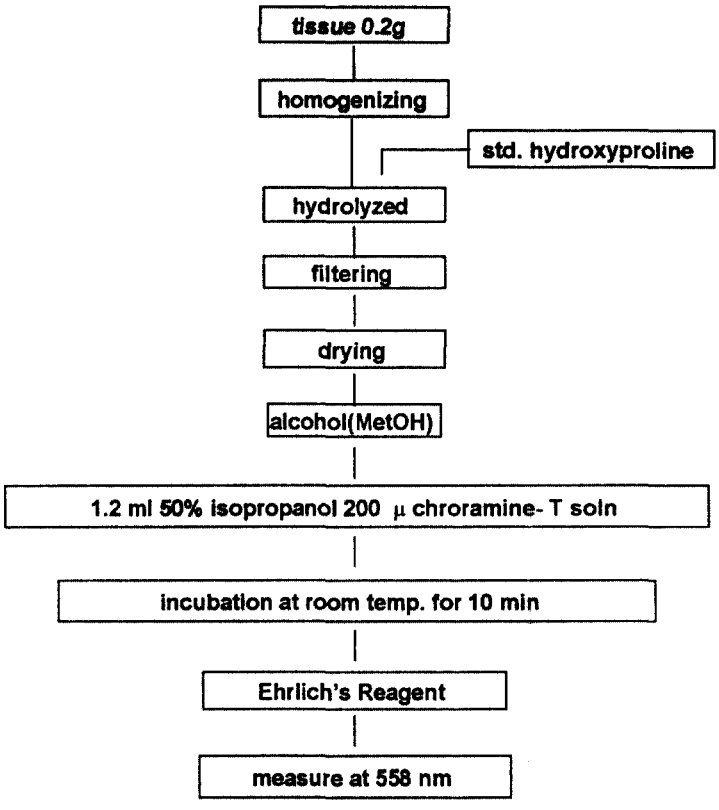


FIGURE 5. *Hydroxyproline* measurement procedures in the tissue of rat.

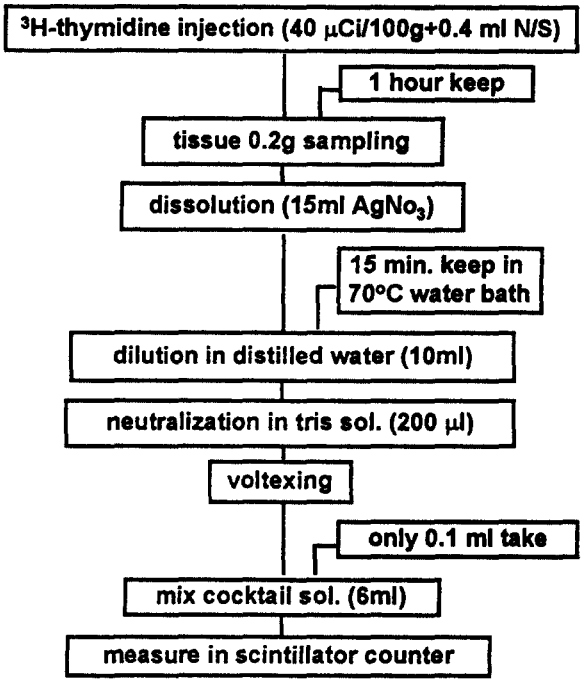


FIGURE 6. ^{3}H-thymidine imcorporation process into the tissue of rat.

였다. 이 용액을 voltexing 후 1.0ml을 채취하고 cooktail용액 6ml을 섞었다. 그후 scintillator counter(Beckman Swizerland Co.)로 평가하였다(Fig.6).

6) 통계처리

통계 처리는 연구결과를 평균 및 표준편차로 정리하였으며 통계학적 의의는 two tailed t-test로 검증하였다.

Ⅲ. 연구 성적

(1) 임상적 창상 치유 과정

1) 제1 실험군(대퇴 동·정맥에 있어서 개존도에 대한 평가)

표준 절단검사법을 통한 단단문합술의 개존도를 평가하였으며 대퇴 동·정맥을 미세가위로 동시에 절단시 왕성한 출혈이 있으며 술후 개존도는 비교적 양호한 것으로 평가되어졌다. 동맥에서의 경우 실험한 60마리중 3마리(5%)에서, 정맥의 경우 13마리(22%)에서 부분적 및 완전한 허탈이 관찰되었다.

2) 제2 실험군(상복부 섬 피판 형성군)

방사선 조사후 3일째까지 피부가 붉은색을 띄는 것으로 보아 충분한 혈행 유지를 관찰할 수 있었으며 창상주위는 정상 피부조직보다 심한 피부 발진 및 부종 등이 있었다. 3일후부터 피부발진 소견은 점차 희미해지고 부종 감소도 일어나기 시작하였다. 7일째에 부분적인 건조박리(dry desquamation)및 육아조직 소견이 보였다. 2주째에는 부종이 거의 완화되었으며 정상 피부 소견을 나타냈다. 3주째부터는 피부 창상부위 및 제모부위에 새로운 털이 나타나기 시작하였다. 전반적으로 염증소견은 특별히 관찰되지 않았으며 정상적인 피부 창상과정을 보여 4주%에 완전한 피판의 외관적 치유를 나타내었고 반흔은 매우 미약하였다.

3) 제3 실험군(유리 상복부 피판 형성군)

방사선 조사후 3일째까지 피부창상은 상복부

섬 피판 형성군 소견과 비슷하였으나 피부발진이 약 5일까지 지속되었고 부종이 심하게 나타났으나 정상적인 피부색을 띄었다. 7일째에 부종이 완화되기 시작하였고 일반적인 염증소견은 나타나지 않았다. 피부의 부분적인 건조박리(dry desquamation) 및 육아조직 소견, 또는 습성박리(moist desquamation)가 있었으며 2군보다 비교적 많이 나타났다. 술후 21일 정도에서 털이 새로이 나타나기 시작하였으며 피부 건조박리 및 육아조직 소견을 보였던 피부창상도 정상적인 피부로 치유되었고 반흔조직도 거의 관찰할 수 없을 정도로 미약하였다.

4) 대조군

피부발진 및 부종이 실험군에서와 비슷하게 존재하였으며 부분적인 피판 변연부에 조직의 괴사를 보였고 피판 중앙부로 연장되어 습식박리(moist desquamation) 및 건조박리, 육아조직 형성등을 보였다. 실험 3군과 비슷한 피부창상 치유과정을 나타냈으며 3주째부터 새로운 털이 나타나기 시작하였고 4주째에 반흔형성은 거의 없으면서 창상이 치유되었다.

(2) 창상 치유과정의 조직 병리학적 소견

창상 치유과정을 각 군별로 비교하기 위하여 혈관치유 과정과 피판치유 과정으로 나누어 살펴 보았으며 혈관치유 과정에서는 혈관의 외막, 중막, 내막의 연결상태를 보았으며 피판치유 과정에는 염증세포 침윤, 섬유모세포 증식, 신생 혈관증식 및 결합조직의 성숙도등을 살펴보았다.

1) 혈관 치유 과정

대퇴 동맥은 내피세포와 내 탄력막으로 구분된 내막과 약간의 탄성섬유와 함께 대부분 평활근섬유로 구성된 중막, 결합조직으로 구성되며 신경섬유 및 소 동·정맥들이 분포되어 있는 외막 등으로 구분되어 있었다. 대퇴 정맥은 내막, 중막, 외막의 3층으로 구성되어 있으나 벽이 얇고 넓은 내강을 볼 수 있었다.

실험 1일째 외막의 결합조직층이 증식하여 혈관의 계속성이 있었으며 내강에는 혈병이 관찰되고 외막주위에 출혈 및 중등도의 염증세포 침윤이 있었으나 군간의 차이는 없었다. 3일째에 혈관내강의 혈병이 감소되면서 혈소판 및 적혈구등이 관찰되었고 내강의 크기는 유지되었으나 3군에서는 중막과 내막의 연결이 일부 소실되었으며 혈관주위에 육아조직 형성이 관찰되었다(사진 부도 1, 2).

7일째에는 혈병이 소실되고 외막에서는 결합조직의 증식이 보이며 교원 섬유 배열이 일정해졌다. 또한 섬유모세포의 증식이 대조군에서 현저하게 나타났으며 외막에서 자양혈관이 관찰되었다. 다른 군과는 다르게 4군에서는 2-3층의 내막세포 증식이 부분적으로 관찰되었다.

14일째는 일부 문합부에서 육아조직이 형성되어 있었으며 내막과 중막의 연결성은 없었으나 중막의 성장이 보였고 문합부 부위의 내막에서는 내막하층의 증식이 관찰되었다. 이러한 섬유모세포 증식도는 군간에 큰 차이를 보이지 않았으며 내강의 크기도 비슷하였다. 28일째 각 군간의 특별한 차이없이 외막은 결합조직 증식이 현저하며 정상적인 세포배열을 보이고 중막과 내막의 완전한 연결성은 있었으나 3군에서 봉합사 주위에 이물형 거대세포들이 관찰되었고 내측및 외측 탄력막의 구별이 없었으며 내막하층의 증식이 관찰되었다. 혈전으로 인한 재소통(re-canalization)도 3군에서는 일부 관찰되었다(사진 부도3).

2) 피판 치유 과정

대조군 1일에 피판 사이의 울혈피 및 섬유소괴로 채워지거나 유리되어 있고 많은 출혈 및 급성 염증세포 침윤이 나타났으며 3일째에는 피판사이의 조직 밀착이 이루어지고 만성 염증세포 침윤이 증가하였으며 모세혈관 증식이 나타났다. 7일째 군에서는 창상연을 따라 섬유모세포 증식이 계속 일어나고 만성염증세포 침윤이 있었으며 육아조직이 형성되기 시작하였고 14일에 성숙된 육아조직 형성과 함께 성근 결체조직이 관찰되고 28일에는 증가된 결체조직이 성숙이 관찰되었다(사진 부도 5, 7, 9).

염증세포 침윤정도는 실험 1일째 제2 실험군에서 가장 많이 심도를 나타냈으며 7일째까지 염증소견이 계속 관찰되었고 14일째부터는 각 군간의 차이가 거의 없었다(Table 1, 사진부도 4, 6).

Table 1. Inflammatory Cell Infiltration in Each Flap

Days	Irradiated E-I* Flap	Irradiated FE** Flap	Non-irradiated FE Flap
1	++	+++	++
3	+	+++	++
7	+	+++	+
14	±	+	±
28	±	±	±

± : Slight, + : mild, ++ : moderate, +++ : severe

E-I* = epigastric island FE** = free epigastric

Table 2. Fibroblast Proliferation of in Each Flap

Days	Irradiated E-I* Flap	Irradiated FE** Flap	Non-irradiated FE Flap
1	±	±	±
3	±	±	+
7	+	+	++
14	+	+	++
28	+++	+++	+++

± : Slight, + : mild, ++ : moderate, +++ : severe

E-I* = epigastric island FE** = free epigastric

섬유모세포 증식은 실험 2군과 3군에서 3일째부터 나타났으며 7일째부터 증가되다가 14일째부터는 성숙되기 시작하였으며 28일째에는 차이를 별로 관찰할 수 없었다(Table 2, 사진부도6, 8).

신생 혈관증식은 3일째부터 관찰되기 시작하여 7일째에는 증가되었다가 그 이후로 감소된 소견이었으며 14일까지는 군간의 차이가 없었으나 28일째에 대조군에서 2군과 3군에 비하여 약간 많이 나타났다(Table 3, 사진부도 8, 9).

결합조직의 성숙도는 14일경에 풍부하게 나타나기 시작하여 28일째까지 지속 되었으며 실험 2군과 3군, 대조군 사이에는 서로 비슷하 소견이었다(Table 4, 사진부도 6, 8).

(3) 창상 치유 과정의 생화학적 검사

교원질의 일부 구성성분인 hydroxyproline의 함량을 Rojkind등의 방법에 의하여 평가하였다.

표준곡선은 1g/50μl를 558nm에서 읽어 0.238을 기준으로 하였다(Fig.7).

방사선 조사후 hydroxyproline양은 14일째까지는 감소하는 양상이었으나 28일째 증가되어 나타났으며 각 실험군간의 차이는 거의 비교할 수 없었고 실험 7일과 28일째에 실험2군과 3군에서 유의성 있는 증가를 보였다($P<0.05$)

Table 3. New Capillary Proliferation in Each Flap

Days	Irradiated E-I* Flap	Irradiated FE** Flap	Non-irradiated FE Flap
1	±	±	±
3	+	+	+
7	+++	+++	+++
14	++	++	++
28	±	±	+

± : Slight, + : mild, ++ : moderate, +++ : severe

E-I* = epigastric island FE** = free epigastric

Table 4. Maturing of Connective Tissue in Each Flap

Days	Irradiated E-I* Flap	Irradiated FE** Flap	Non-irradiated FE Flap
1	-	-	-
3	±	±	±
7	+	+	±
14	++	++	++
28	+++	+++	+++

± : Slight, + : mild, ++ : moderate, +++ : severe

E-I* = epigastric island FE** = free epigastric

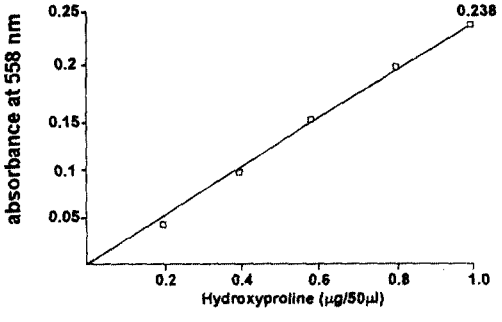


FIGURE 7. Standard curve for *hydroxyproline* in the rat skin.

(Table 5, Fig.8).

(4) DNA활성도 검사

^{3}H-thymidine을 이용한 DNA 활성도는 방사선 조사에 민감하였으며 조사후 3일군에서 전반적으로 DNA활성이 제일 적었고 7일째부터 회복되기 시작하였다. 유리 피판을 형성한 제3군에서 28일째 DNA활성은 제일 적게 나타났으며 제4군에서는 현저한 증가를 보였다($P<0.5$)(Table 6, Fig.9).

Ⅳ. 총괄 및 고찰

일반적으로 수술 창상은 광범위한 조직 손실이 있는 창상에서 볼 수 있는 육아 조직에

Table 5. Hydroxyproline Contents in Each Flap(mg/0.1gWW*)

Days	Irradiated E-I** Flap	Irradiated FE*** Flap	Non-irradiated FE Flap
1	833.1±230.6	770.0± 63.2	825.4±420.6
3	720.0±368.3	645.8±206.2	623.0±134.0
7	593.2±199.2	692.3±123.6	411.7±241.5
14	461.5±169.2	466.0±121.8	469.5±137.2
28	856.9±312.7	975.3±156.1	864.7±343.1

WW* = wet weight E-I** = epigastric island

FE*** = free epigastric

The value represent the mean ± standard deviation (n=6)

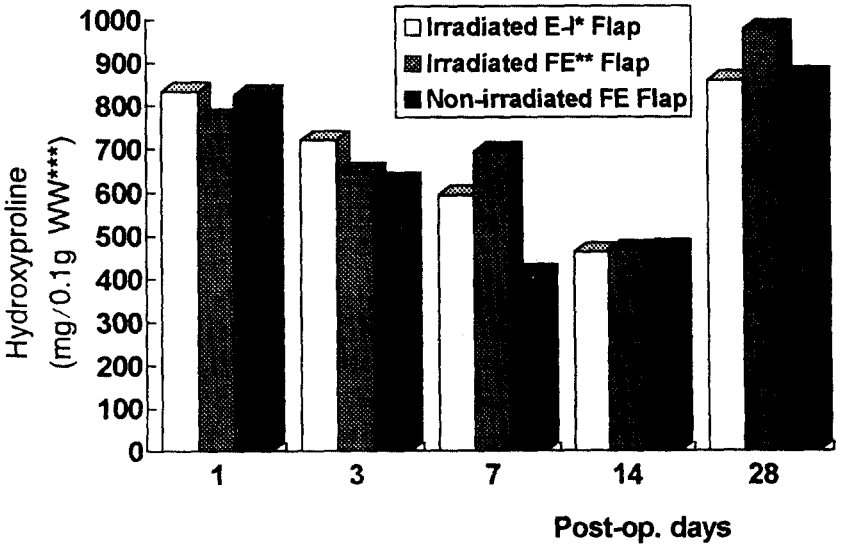


FIGURE 8. Hydroxyproline contents in each flap.

E-I* = epigastric island FE** = free epigastric

WW*** = wet weight

Table 6. Incorporation of Labeled Thymidine into Skin DNA in Each Flap (CPM*/0.2g WW**)

Days	Irradiated E-I*** Flap	Irradiated FE**** Flap	Non-irradiated FE Flap
1	1249±161	1141±163	1447±420
3	1053±162	1002±212	1375±159
7	1321±191	1248±231	1670±208
14	1872±217	1605±151	2089±349
28	2164±217	2026±386	3072±643

CPM* = counts per minute WW** = wet weight

E-I*** = epigastric island FE**** = free epigastric

The value represent the mean ± standard deviation (n=6)

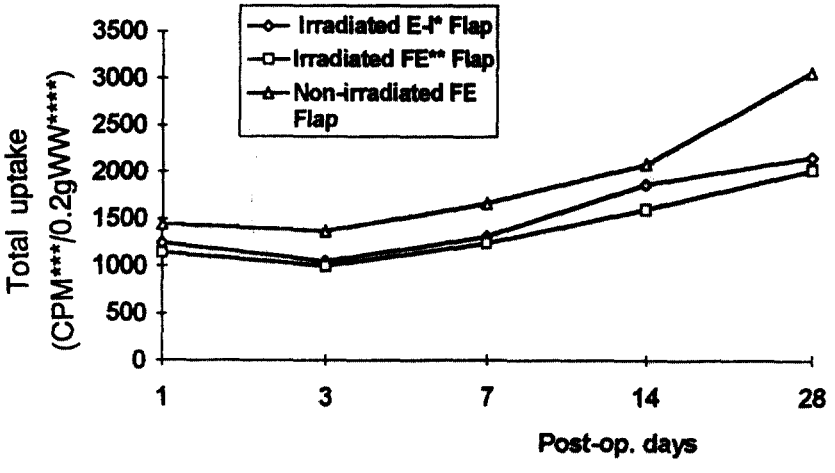


FIGURE 9. Incorporation of labeled thymidine into skin DNA in each flap (CPM/0.2g WW).

E-I* = epigastric island FE** = free epigastric

CPM*** = count per minute WW**** = wet weight

의한 2차 회복과정(healing by secondary intention)과는 달리 1차 회복과정(healing by primary intention)에 의하여 창상 치유 과정이 이루어진다. 1차 회복과정은 먼저 손상후 수시간 이내에 혈병과 삼출액이 조직의 표면에서 탈수되어 가피를 형성하고 손상된 조직의 밀폐가 일어나며 3-5일 전후에는 섬유모세포에 의한 연결이 일어나지 않으며 섬유모세포에 의한 교원질 활성은 1주일 정도 되어서 나타난다. 결과적으로 손상받은 조직의 회복은 동종실질세포의 재생에 의하여 이루어 지기도 하지만 대개는 결체조직으로 대체되어 반흔을 남기고 치유된다[32].

창상 치유과정 평가에는 조직학적 구조나 생리적 기능의 평가가 이상적이며 이 과정은 결체조직 뿐 아니라 근육의 치유, 신경지지질(neuroglia), 실질 장기들의 보상 작용등을 포함한다. 여기에는 장력 검사(tensile strenght) 및 창상의 수축 및 상피화를 직접 확인할 수 있으며 창상부위의 혈관활성도 여부 및 세포분화도 측정, 화학적 분석법 등을 통한 간접적 평가 방법들이 있다[32]. 창상에 대한 장력은 창상치유 6일까지는 보이지 않지만 6일 후부터 나타나고 창상치유가 완성됨에 따라 장력 증가도 있게 된다. 즉 창상치유의 판단 기준은 증가된 장력에 있으며 창상에 대한 장력은 교원질 합성능과 비례한다. 즉, 섬유모세포의 수, 교원질 량, 창상의 장력증가 등은 서로 밀접한 관계를 가지며 창상치유 과정의 평가에 객관적인 자료로 이용될 수 있다[33]. 본 연구에서는 직접적인 임상 검사법 및 조직병리학적, 간접적인 방법으로 hydroxyproline의 활성도 및 단백질 합성을 보기위한 DNA 활성도를 평가하였다.

교원질은 인체 단백질중 3분의 1을 차지하며 현재까지 13종의 형태가 알려졌다. 이들 중 type I, III, V는 원섬유(fibril)을 형성하는 교원질로써 견고한 삼중나선형(triple helices)을 형성하는 proline과 hydroxyproline을 나타내고 type IV는 기저막(basement membranes)으로 원섬유를 형성하는 교원질들과는 다르다[34]. 교원질은 반복되는 아미노산 배열인(Gly-Xaa-Yaa)n으로 이루어져 있으며, Yaa위치에 proline과 hydroxyproline이 높은 비율로 존재하고, hydroxyproline은 총 collagen 아미노산의 약 10%를 차지하므로 hydroxyproline치로 조직내 총 collagen양을 나타낼 수 있다[35]. 교원질의 생성과정은 세포내에 동일하거나 유사한 mRNA가 1500개의 아미노산과 결합하여 polypeptiede(a-chain)을 말들고 수산화(hydroxylation), 당화(glycosylation)과정을 거쳐, S-S 결합을 한후 삼중나선을 형성하여 N-, C-말달에 구상단백(globular peptide)을 지닌 procollagen분자를 형성한다. 이 procollagen은 중심부에 삼중나선(M.W.50,000), C-말단(M.W.90,000) peptide로 구성되어 있다. procollagen이 세포외로 나오게 되면 특이적 endopeptidase에 의해 N-, C-말단 peptide가 제거되고, 남은 삼중나선들의 상호연결(cross-linking)에 의해서 섬유소를 만든다. N-, C-말단 peptide는 혈중을 비롯한 생체내 분비물 중에서 검출할 수 있어 혈중내 procollagen의 양을 평가할 수 있게 한다[36].

교원질의 총량은 교원질의 합성 및 파괴만을 의미하며 교원질 대사의 동적인 정보를 제공해 주질 않는다. 즉, 창상치유 기전에서 교원질의 역활이란 교원질의 총량 및 합성 및 파괴를 동시에 평가하는 것이 원칙이다. 교원질의 아미노산인 hydroxyproline은 교원질의 역동적인 합성, 축적 및 파괴와 직접 연관되어 있기 때문에 창상치유 평가에 정확한 자료를 쓰일 수 있다[9].

Petersen등[37](1988)은 조직의 창상 치유과정중 hydroxyproline을 이용한 생화학적 검사에서 교원질 type IV와 procollagen type III의 총량은 술후 2주에서 최대로 증가되어 나타났으며 교원질 type III은 2주와 3주에서, type I은 2주 내지 4주에서 최대라 보고하였다. Aitasalo등[38](1986)은 방사선 조사를 받은 실험 동물에서 dry weight 당 hydroxyproline의 양은 약간 증가되었으나 인장강도는 현저히 감소하였다고 하여 방사선조사 그 자체가 cross-linked collagen의 형성에는 관여하지 않으나 교원질 재배열에는 영향을 주어 인장 강도에 영

향을 미친다고 하였다. Rantanen등[39](1973)은 상복부 피판과 방사선 조사받은 조직사이에서 viscose cellulose sponge models을 이용한 창상 치유과정에서 nitrogen(collagenous and non-collagenous proteins)의 증가를 보여 Aitasalo[38]와 비슷한 소견을 보고 하였다. 본 연구에서는 각 실험군간의 특이한 hydroxyproline양의 차이는 보이지 않았지만 방사선 조사 받은 제2, 3군에서 조사 받지 않은 대조군 보다 높게 나타나 방사선 조사 자체가 조직의 변성 및 초기 교원질 침착을 많이 유도하리라 사료되며 방사선 조사후 2주까지는 감소하였으나 28일군에서 증가소견을 보여 정상적인 창상 치유과정에서의 교원질 증가와 일치된 소견을 나타냈다. 특히 초기 2주 동안의 창상 치유과정은 Petersen등이 보고한 정상조직의 창상 치유과정에서 보다 약간 늦게 교원질 합성이 진행되었던 바 이점은 단순창상과 유리 피판의 창상 치유과정과의 차이점으로 사료되며, Aitasalo의 연구보고와 비슷한 소견을 보였다[37,38].

^{3}H-thymidine을 이용한 방사선 동위원소법은 창상 치유과정중 DNA활성도에 밀접하게 연관되어 혈관에서 느리게 증식하는 미분화된 전구세포를 포함한 혈관 활성도를 평가할 수 있고 창상 치유과정에서의 직접적 분석법으로 이용될 수 있다[40]. Cronkite등[41](1959)은 tritiated thymidine은 DNA(deoxyribonucleic acid)의 전구물질이 아니며 DNA가 세포분열 하기전 DNA 이중구조(doubling) 상태에서 DNA사슬에 들어가 DNA를 labeling해 준다고 하여 tritiated thymidine은 DNA합성 때부터 파괴될 때까지를 나타내줄 수 있다고 보고하였다. 즉 Scintilation counter(Beckman Co. Swizerland)를 이용한 측정에서 labeling된 DPM의 양이 많을수록 창상 치유는 잘 진행되고 있음을 나타낸다. 동위원소법을 이용한 본 연구에서 모든 실험군에서 3일째에 초기 혈액공급의 현저한 감소로 인하여 동위원소의 침착이 저하되다가 7일째부터 회복되기 시작하였고 28일째 모든 군에서 정상적인 혈액공급에 의한 높은 세포활성을 보였으나 각 실험군간의 임상적 치유능력과는 비교평가하기 어려웠다.

창상 치유과정의 임상적 평가에서 Sumi등[18](1984)은 수술후 2일 또는 4일에 방사선조사받은 국소적 피판은 방사선 조사후 1주말에서 2주째에 정상 피부반응을 보였고 1주초에 정상 피부반응을 보이는 대조군보다 치유과정이 늦게 나타내며 술후 1-2주후에 방사선 조사를 받은 피판에서 보다 방사선 영향을 적게 받았다고 하였다. Karcher등[22](1986)은 10회 분할조사로 총량 30Gy를 유리피판에 조사하였을 때 중등도의 피부염을 관찰할 수 있었으나 새로운 털의 형성없이 시간이 지남에 따라 완전히 치유됨을 보고하였다. 본 연구에서 방사선 조사받은 조직의 창상치유의 1단계는 창상의 부종감소와 피부발진등으로 평가하였을 때 16일 이내에 나타난다고 사료되었다.

유리 혈행피판의 예후는 주 혈관의 충분한 개존성과 조사된 방사선량에 따라 달라지나 Karcher등[22](1986)은 실험적으로 쥐의 대퇴 동·정맥은 피부 약 4cm 하방에 위치하여 피부에서 받는 방사선 조사량의 약 75%를 조사받게 되고 쥐의 대퇴 동·정맥 및 상복부 동·정맥과 같은 큰 혈관들에 있어서는 방사선 영향을 받지 않는다고 하였으며 Rhoades[42](1948), Cottier[43](1966) 등의 연구 보고에서도 이를 뒷받침 하였다. 본 연구에서도 허탈하지 않은 대퇴 동·정맥에서 술후 왕성한 출혈이 있는 것으로 보아 개존도가 충분한 것으로 사료되어 진다.

유리 피부이식시 이식체의 혈류 공급과 방사선 감수성과의 관계는 밀접하나 국소피판의 경우에는 일정한 관계를 가지지 않는다. 국소피판의 경우 술후 1내지 2주 후 방사선 조사를 하였을때 피판의 중심부에는 거의 혈류량의 차이를 보이지 않으며 변연부에서 과 혈류량이 관찰되고 심한 방사선에 의한 조직의 손상을 나타낸다[44]. 조직학적으로 Sumi등[18]은 피판의 변연부에서 부터 혈관의 재생과정이 이루어지기 시작하며 정상 피부조직과 비슷한 치유과정을 보인다고 하였다. 또한 피판의 생활력에 영향을 미치는 혈액 공급이 방사선 조사에 영향 받는 시기는 중요하며 국소피판의 경우 방사선 조사 5-6주 후에 영향을 받으며 유리 피판의 경우에는 같은 영향을 받는다고 하였다[45]. Patter-

son등[46](1967)은 방사선 조사후 피판 형성하는 경우 5-6주 이전에는 정상적으로 생착이 이루어질 수 있으므로 외과적 술식과 방사선 치료를 병행하는 암종 치료에 있어서는 방사선 조사후 4내지 6주이내에 수술을 해야 한다고 주장하였다. 즉 유리 혈행피판의 이식시 주 혈관의 개존도가 충분하다면 창상 치유과정에 있어서도 큰 손상 없이 진행 되리라 사료된다.

피판의 주 동맥 결손시 혈관주위 조직인 소성조직(areolar tissue)의 역활에 관하여 1985년 Baek등[47]은 동물실험에서 처음으로 정맥피판(venous flaps)에서 혈압의 불규칙한 형태를 발견하여 작은 모세혈관의 to-and-pro flow를 제시하였으며 이것은 곧 주기적인 피판으로부터 혈액의 흐름을 알았고 Chavoin등[48](1987)은 임상에서 말초혈관 관류에 중요한 arterio-venous shunts의 가능성을 이용하였다. 정맥피판의 개존도에 관하여 Inada등[49](1990)은 일반적이지 않고 조건에 따라 생활력을 나타낸다고 하였으며 Yuen and Leung[50](1991) 및 Noreldin등[51]은 혈관주위 소성 조직이 있을시 90%의 생활력을 나타낸다고 보고하였다. 본 연구에서는 이러한 부수적인 피판의 생활력을 최대한 줄이기 위하여 대퇴 동·정맥에서 부터 시작하여 상복부 동·정맥의 주위 조직들을 최대한 박리하였다.

쥐의 대퇴동맥의 단단문합술에 의한 혈관문합술에 있어서 비교적 덜 숙련된 술자라 할지라도 거의 100%의 개존도를 나타낼 수 있지만 정맥의 단단문합술의 경우 봉합사 주위의 혈전으로 인하여 85%이하의 성공율을 보일 수 있다[52,53]. 또한 Hayhurst등[54](1975)은 0.9mm 대퇴 동맥 및 1.1mm 정맥의 경우 술후 즉시 100%, 98%개존도를, 오랜기간 동안의 관찰시 98%, 80%의 높은 개존도를 보였으며 O'Brien등[55](1974)은 유리 피판의 경우에 술후 3일 이후에는 개존도의 감소는 오지 않으며 술후 2주후 정맥의 개존도는 문합술한 부위에 작은 혈병들의 해리 및 재분배에 의한 개존도의 증가를 나타낸다고 보고하였다. 또한 Krueger등[28]도 Microvascular anastomosis된 혈관에서 75-80%의 개존도 감소를 관찰하였고 술후 3일째가 미세혈관 수술에서 혈전 형성의 최대점(critical period)이며 술후 2일째 혈관 내막세포재생(endothelial regeneration)이 최대로 일어난다고 보고하였다.

정교한 술식 자체가 다른 약제들의 사용보다 최대의 개존도를 얻는데 제일 중요하며 술후 혈관의 개존도를 높이기 위한 방법으로 aspirin이나 dextran등의 약물이 이용되나 작용기전은 불투명하며 이중 heparin이 제일 효과있는 약제로 알려져 있고 기술적으로 단단문합술에서 혈관을 30분이내 clamping해 놓는 경우는 개존도에 영향을 미치지 않는다[54,56,57]. 본 연구에서는 heparin 및 혈관수축을 방지할 목적으로 lidocaine을 국소적으로 점적하였고 동맥 및 정맥에 있어 평균 25분 정도의 수술시간이 소용되었다.

혈관수축은 혈관 외막에 붙어 잇는 혈액에 의해 야기되며 수술시 혈액 및 혈관수축 물질 등을 제거하기 위한 상온에서 생리식염수를 이용한 작은 세척이 중요하며 단 단문합술시 혈관 전체두께를 포함한 봉합이 변연부에서 60-80μ의 거리에 위치함이 좋고 0.9mm의 동맥의 경우 일반적으로 8개의 봉합사를 형성하는 것이 좋다[58]. 본 연구에서는 대퇴 동적맥의 절단 변연부에서 혈관 전체두께를 포함한 최단거리에서 봉합 바늘을 통과시켰으며 평균 7-9개의 봉합사를 형성하였다. 봉합술 후 동·정맥의 fill and empty(or downstream) test를 시행하여 즉시 개존도를 관찰하였고 10분정도 시간을 지연시켜 완전히 개존도 및 지혈이 정지 되었음을 확인하고 피판을 재위치하여 봉합하였다.

Ellis[26](1971)가 정상 피부조직이 저항할수 있는 방사선의 단일용량으로 1863 rads or 2132 rads with 250 kVp X-rays(HVL 1.3mm. Cu.)를 제시 하였으며 Hall[27](1978)과 Kfueger등[28](1977)은 20Gy의 단일 조사량은 환자가 약 6주간에 50Gy 및 65Gy의 방사선 조사를 받는 양과 비슷한 조직 반응을 가지며 Sumi등[18](1984)은 10Gy의 단일조사량은 정상적인 쥐 피부에서 혈관손상을 받기 시작하는 용량이라고 보고하였다. 일반적으로 10-25Gy의 단일용량은 실험동물에서 무리없이 사용되는 조사량이

라고 사료되며 본 연구에서는 20Gy 방사선량을 단일 조사하였다.

본 연구에서 임상적 및 객관적 분석을 통한 창상 치유과정 비교시 방사선 조사가 술 후 유리 혈행 피판 생활력에 별 영향을 미치지 못하였으며 모든 술식 자체가 미세 현미경하에서 이루어진 혈관 문합술이기 때문에 혈관의 개존성 여부가 직접적으로 피판 예후에 영향을 미치고 실험 자체의 능숙함이 먼저 선행되어야 할 과제라 여겨진다. 실제 암종치료시 유리 피판을 이용한 즉시 재건술후 2차적인 방사선 조사가 직접 응용될수 있으리가 사료되며 이 점에 관하여서는 좀더 많은 연구가 있어야 될 것으로 사료된다.

V. 결 론

유리 피판의 방사선에 대한 감수성을 알아보고자 쥐의 상복부에 미세 현미경을 통한 1.5×2cm 크기의 혈행성 유리 피판을 형성후 24시간후에 20Gy의 방사선을 단일 조사하였으며 조사후 창상 치유과정을 알아 보아 다음과 같은 결론을 얻었따.

1. 임상적으로 방사선 조사받은 섬피판군과 유리피판군 모두에서 피부 창상은 정상적인 상피화 형성 및 피부색을 나타냈으며 대조군과 비슷한 치유 과정을 나타냈다.
2. 대퇴 동·정맥의 술후 개존도는 동맥에서 5%, 정맥에서 22%의 혈관 허탈이 있었다.
3. 조직학적 소견에서 대퇴 동·정맥의 내막, 중막, 외막의 방사선에 대한 영향은 거의 없었다.
4. 모든 실험군의 조직학적 소견에서 육아 조직 형성, 교원질 침착 등이 이루어 졌으며 방사선 조사받은 유리 피판군에서 교원질 변성 및 섬유화 과정으로 인한 교원질 침착이 2주째까지 빠르게 진행되었으나 4주째에는 비슷한 소견을 보였다.
5. Hydroxyproline양의 변화는 모든군에서 술후 2주까지는 감소되었고 4주째에 증가되었으며 각 군간의 차이는 비슷하였으나 1주와 4주에서 섬피판군에서 제일 많았다($P<0.05$).
6. ^{3}H-thymidine을 이용한 DNA 활성도는 방사선 조사에 민감하였으며 조사후 3일군에서 전반적으로 DNA활성이 제일 적었고 7일째부터 회복되기 시작하였고 방사선 조사후 3일째부터 4주까지 대조군에서 방사선 조사 받은 피판군보다 더 많은 양의 동위원소가 침착되었으며 조사받은 섬 피판군과 유리 피판군 사이는 비슷한 소견을 보였다 ($P<0.05$).

이상과 같은 소견으로 유리 혈행 피판을 이용한 수술시 24시간후에 시행된 방사선 요법은 시간이 지남에 따라 피판 치유과정에서 임상적으로 별 합병증을 나타내지 않았으며 객관적인 분석에서도 세포 활성이 늦게 진행된 것 외에는 대조군과 거의 차이를 보이지 않았다.

참고문헌

1. Rudolph R, Utely J, Woodward M, Hurn I : The ultrastructure and etiology of chronic radiotherapy damage in the rat skin. Surg Gynecol Obstet 152 : 171-178, 1982.
2. Rudolph R, Arganese t, Woodward M : The ultrastructure and etiology of chronic radiotherapy damage in human skin. am Plast Sung 9 : 282-292, 1982.
3. Van Winkle W Jr : The tensile strength of wounds and factors that influence it. Surg Gynecol Obstet 129 : 819-842, 1969.
4. Archer RR, Greenwell ES, Ware T : Irradiation effects on wound healing in rats. Radiat Res 41 : 104-112, 1970.
5. Aitasalo K, Aro H : Irradiation-induced hypoxia in bones and soft tissue : an experimental study. Plast Reconstr Surg 77 : 256-265, 1986.
6. Ritchie G : Effect of roentgen irradiation on the healing of wounds. Arch Patholo 16 : 839-851, 1933.

7. Pohle EA, Ritchie G, Wright CS : Studies of the effect of roentgen rays on healing wounds. I. The behavior irradiation. Radiiolog 16 : 445−460, 1931.
8. Pohle EA, Ritchie G : Studies of the effect of roentgen rays on healing of wounds. II. Histological changes in skin wounds in rats following postoperative irradiation. Radiology 20 : 102−108, 1933.
9. Madden JW, Peacock EE : Studies on the biology of collagen during wound healing. I. Rate of collagen synthesis and deposition in cutaneous wounds of the rat. Surg 64 : 288−294, 1968.
10. Woessner JF : The determination of hydroxyproline in tissues and protein samples containing small proportions of this amino acid. Arch Biochem and Biophys 93 : 440−447, 1961.
11. Haberland HFO : Epithilisierungversuche mit Rontgenstrahlen, Klin. Wchnschr. 2 : 353, 1923, cited by Ritche G. : Effect of roentgen irradiation of the healing of wounds. Radio 20 : 102−108, 1933.
12. Maximow A : Studies on changes produced by roentgen rays in inflamed connective tissue. J Exper Med 37 : 319, 1923.
13. Dobbs WGH : A statistical study of the effect of roentgen rays on wound healing. AJR 41 : 625−632, 1939.
14. Pohle EA, Ritchie G, Moir WW : Studies on the effect of roentgen rays on healing of wounds. III. Histological changes in skin wounds in rats following postoperative irradiation with very small and moderate doses. Radio 52 : 707−712, 1949.
15. Nickson JJ, Lawrence Jr W, Rachwalsky I : Roentgen Rays and Wound Healing. II. Fractionated Irradiation An Experimental Study. Surg 34 : 859−862, 1953.
16. Levenson SM, Geever EF, Growley LV, Ostes JE, Berard CW, Rosen H : The healing of rat skin wouds. Ann Surg 161 : 293−308, 1965.
17. Powers WE, Ogura JH, Palmer LA : Radiation therapy and wound healing delay. Animals and Men. Radio 89 : 112−115, 1967.
18. Sumi Y, Ueda M, Oka T, Torii S : Effects of irradiation of skin flaps. J Oral Maxillofac Surg 42 : 447−452, 1984.
19. Suh HS, Rhee CS : The effect of radiation therapy on the healing ability of subsequent surgical wounds. Korean Soc Radio 9 : 17−25, 1991.
20. Cram RW, Weder CH, Watson TA : Tolerance of skin grafts to radiation ; study of postmastectomy irradiated grafts. Ann Surg 149 : 65−68, 1958.
21. Rubin P, Casarett G, Graise JW : The vascular pathophsiology of an irradiated graft. Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med 83 : 1097−2008, 1960.
22. Karcher H, Stenzel A, Lammer J : Irradiation of free vascularized tissue transplants in rats. J max fac Surg 14 : 40−42, 1986.
23. Segmuller GG, Sennwald P, Wiederkehr M, Stanisic : Zur Strahen-toleranz des freien mikrovaskularen Lappens in der Tumorchirurgie an der Hand. Handchirurgie, Mikrochirurgie, Plast. Chirurgie 16 : 87−90, 1984.
24. Patterson TJS, Berry RJ, Wiernik G : The effect of X-radiation on the survival of skin falps in the pig. Br J Plast Surg 25 : 17−19, 1972.
25. 정성훈, 박찬일, 한만청, 김주완 : 방사선 조사가 마우스 피부 창상 회복에 미치는 영향에 관한 연구. 대한방사선학회지 18 : 193−199, 1982.
26. Ellis F : The nominal standard dose and the rat. British J Radio 44 : 101−108, 1971.
27. Hall EJ : Time, dose and fractionation in

radiotherapy. In Radiobiology for the radiologist, 2nd ed, Hall EJ, Maryland, Harper and Row publishers, pp. 275−280, 1978.
28. Krueger WWO, Goepfert H, Romsdahl M : Fibroblast implantation enhances wound healing as indicated by breaking strength determinations. OTOL AAOO 86 : 804−811, 1978.
29. Mosmann T : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxicity assays. J of Immungological methods 65 : 55−63, 1983.
30. Rojkind M, Giambrone MA, Biempica L : Collagen types in normal and cirrhotic liver. Gastroenterology 76 : 710−719, 19 71.
31. Barbirori B, Porter VR : Science. 171 : 737−741, 1971.
32. Viljanto J : Biochemical basis of tensile strength in wound healing. Acta Chirurgica Scandinavica Supplementum 333 : 5−101, 1964.
33. Adamsons R, Musco F, Enquist I : The relationship of collagen content to wound strength in normal and scorbutic animals. Surg Gynec and Obst 119 : 323, 1964.
34. Jamall IS, Finelli VN, Que Hee SS : A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues. Anal Biochem 112 : 70−75, 1981.
35. Schuppan D : Structure of the extracellular matrix in normal and fibrotic liver ; collagens and glycoproteins. Seminars in Liver Disease 10(1) : 1−10, 1990.
36. Petersen KH, Kim KY, Pedersen LR, Bentsen KD, Brocks D, Garbarsch C : Serum aminoterminal type III procollagen peptide. Relation to biosynthesis of collagen type III in experimentally induced granulation tissue in rats. APMIS in press, 1988.
37. Petersen KH, Kim KY, Pedersen LR, Bentsen KD, Brocks D, Garbarsch C, Hahn EG, Schuppan D, Lorenzen I ; Collagen type IV and procollagen type III during granulation tissue formation : a serological, biochemical, immunohistochemical and morphometrical study on the viscose cellulose sponge rat model. European J Clin Investigation 18 : 352−359, 1988.
38. Aitasalo K, Aro HT, Virolatinen P, Virolainen E : Healing of microvascular free skin flaps in irradiated recipient tissue beds. J Surg 164 : 662−666, 1992.
39. Reantanen J : Radiation injury of connective tissue. A biochemical investigation with experimental granuloma. Acta Radiologica Suppl 330 : 1−92, 1972.
40. Boyko GA, Melcher AH, Brunette DM : Formation of new periodontal ligament by periodontal ligament cells implanted in vivo after culture in vitro : A preliminary study of trasplanted roots in the dog. J Periodont Res 16 : 73−78, 1981.
41. Cronkite E, Bond V, Fliedman T, Rubine J : The use of tritiated thymidine in DNA synthesis and cell turnover in hemopoietic tissue. Lab Invest 18(1) : No.1 1959.
42. Rhoades RP : Structures accessory of the gastrointestinal tract. In : W.Bloom (ed.) : Histopathology of irradiation from external and internal sources. Div. IV, Volume 22/1, McGraw-Hill, New York-Toronto-London, 1948.
43. Cottier, H : Histopathologie der Wirkung ionisierender Strahlen auf hohere Organismen (Tier und mensch). handbuch der med. Radiologie, Ed. L. Diethelm Vol II /part 2, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1966.
44. Sumi Y, Ueda M, Kandea T, Eto K : Effects of irradiation on grafted skin. J Oral Maxillofac Surg 41 : 586−591, 1983.

45. Ellis F, Patterson TJS : The treatment of advanced malignant disease by radiotherapy and surgery. British J of Plastic Surg 21 : 321−328, 1968.
46. Patterson TJS, Milton SH : Study of the circulation in experimental skin flaps using an intra-vital dye. Bibliotheca anatomica. 9 : 501−505, 1967.
47. Back SM, Weinberg H, Song Y, Park CG, Biller HF : Experimental studies in the survival of venous island flaps without arterial inflow. Plastic and Reconstruc Surg 75 : 88−96, 1985.
48. Chavoin JP, Rouge D, Vachaud M, Boccalon H, Castagliola M : Island flaps with an exclusively venous pedicle. A report of eleven cases and a preliminary haemodynamic study. British J Plastic Surg 40 : 149−157, 1987.
49. Inada, Y, Fukui A, Tamai S, Masda M, Mizumoto S : An experimental study of the venous flap : investigation of the recipient vein. J Reconstruc Microsurger, 6 : 123−131, 1990.
50. Yuen QM, Leung PC : Some factors affecting the survival of venous flaps : an experimental study. Microsurgery, 12 : 60−67, 1991.
51. Noreldin AA, Fukuta K, Jackson IT : Role of perivenous areolar tissue in the viability of venous flaps : a experimental study on the inferior epigastric venous flap of the rat. British J of Plastic Surg 45 : 18−22, 1992.
52. Cooley BC, Gould JS : The effect of venous flow alterations upon patency of rat femoral vein anastomosis. Microsurgery 13 : 138−142, 1992.
53. Zhou ZY, Rickard TA, Nichter LS, Zemel NP, Ashworth CR, Kassabian G : Restoration of venous outflow by simulataneous creation of an arteriovenous shunt and pedicle flap using a rat model of foot replantation. Microsurgery 13 : 48−55, 1992.
54. Hayhurst JW, O'Brien B McC : An experimental study of microvascualr technique, patency rates and related factors. British J Plastic Surg 28 : 128−132, 1975.
55. O'Brien B McC, Morrison WA, Ishida H : Free flap transfers with microvascular anastomosis, British J plastic Surg 27 : 220, 1974.
56. Fernandez EJ, Nadal RD, Gonzalea SM, Caffee HH : The effect of stasis on a microvascular anastomosis. Microsurgery 4 : 176−177, 1983.
57. Zeeman BJ, Morrison WA, O'Brien B McC : Effect of stasis on the patency of microvenous grafts in avulsed rabbit femoral vessels. British J Plastic Surg 38 : 556−560, 1985.
58. Baxter TJ, O'Brien B McC, Henderson PN, Bennett RC : The histopathology of small vessels following microvascular repair. British J Surg. 59 : 617−621, 1972.

사진 부도 및 설명

사진 부도 1. A light micrograph of irradiated femoral artery, 1 day postoperatively : Vessel wall shows the intima, media and adventitia(H&E, X100).

사진 부도 2. A light micrograph of irradiated femoral vein : Vein has a thin wall in relation to artery at 1 day postoperatively(H&E, X100).

사진 부도 3. A light micrograph of group 3 at 28 days postoperatively : Recanalization due to organization of thrombus was noted(H&E, X40).

사진 부도 4. A light micrograph of group 3 at 1 day postoperatively : Severe inflammatory cell infiltration in flap site(H&E, X100).

사진 부도 5. A light micrograph of group 4 at 3 days postoperatively : Fibroblasts proliferation were begun(H&E, X100).

사진 부도 6. A light micrograph of group 3 at 14 days postoperatively : Young granulation tissue and fibrinoid necrosis were noted(H&E, X100).

사진 부도 7. A light micrograph of group 4 at 14 days postoperatively : Immature connective tissue proliferation in operation site was observed(H&E, X100).

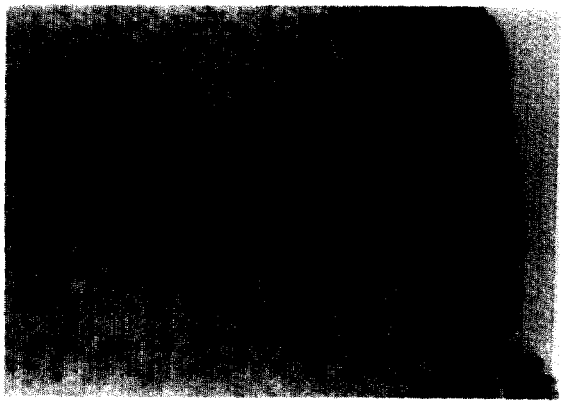
사진 부도 8. A light micrograph of group 3 at 28 days postoperatively : Loose myxoid scar tissue was noted(H&E, X100).

사진 부도 9. A light micrograph of group 4 at 28 days postoperatively : Scar tissoue or maturing of connective tissue was noted(H&E, X100).

사진부도 1

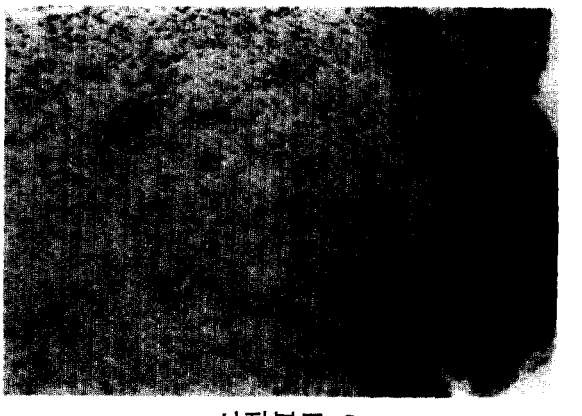
사진부도 2

사진부도 3



사진부도 4

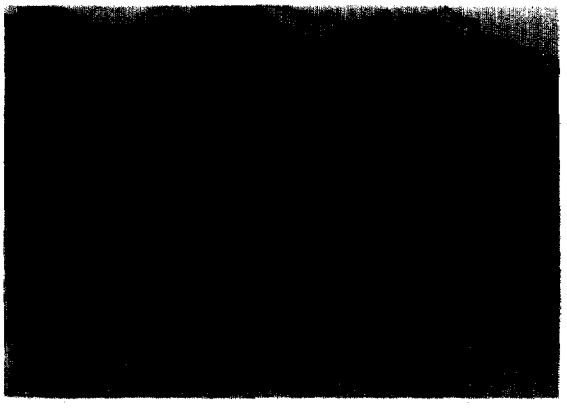
사진부도 5



사진부도 6

사진부도 7

사진부도 8



사진부도 9