

쥐(rats)의 full-thickness skin grafts에 대한 hyperbaric oxygen과 α -tocopherol의 효과

김종수 · 김충희* · 김곤섭 · 하대식** · 박성근*** · 김양미****

경상대학교 수의과대학 · 인제대학교 의과대학 미생물학교실*
경상남도 보건환경연구원** · 경상대학교 의과대학 성형외과***
미국 Chicago 의과대학 생리학교실****
(2000년 8월 22일 게재승인)

Effects of hyperbaric oxygen and α -tocopherol on full-thickness skin grafts in rats

Jong-shu Kim, Chung-hui Kim*, Gon-sup Kim, Dae-sik Hah**,
Sun-gun Park***, Yang-mi Kim****

College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University(Institute of Animal Medicine)

*Department of Microbiology, College of Medicine, In-Je University**

*Gyeongnam Provincial Government Institute of Health and Environment***

*Department of Plastic Surgery, College of Medicine, Gyeongsang National University****

*Department of Physiology and Biophysics, Chicago Medical School, Finch University of Health Sciences,
North Chicago, Illinois, U.S.A.*****

(Accepted by Aug 22, 2000)

Abstracts : To document that effects of hyperbaric oxygen(HBO) and α -tocopherol on full-thickness skin grafts in rat, we performed full-thickness skin grafts bilaterally on each rats. The HBO-treated rats were received HBO twice daily for 90 minutes at 2 ATA. Surgical control rats were not treated with HBO. α -tocopherol treated rats were received the agent *via* oral gastric tube daily for 3 days preoperative and a fourth dose 1 to 2 hours postoperative. HBO plus α -tocopherol treated rats were received HBO and α -tocopherol as mentioned above. Biopsy specimens were taken from each rat at the time of grafting and on days 2, 4, 7, 10, 14, 21, and 28, then were processed for tissue-concentration of total glutathione(GSHt), oxidized/reduced glutathione level, and thiobarbituric acid-reactive substance(TBARS) levels. The percentage of viable graft on day 10 ranged from 67 to 93%, and was not significantly different among the each other groups. The percentage of viable graft were, however, higher in HBO plus α -tocopherol treated rats(78.6%) than in HBO alone treated rats(59.1%), α -tocopherol alone treated rats(66.7%) and surgical control rats(58.2%). TBARS concentration had a significant increase from preoperative concentration at

day 2, and peak concentration at day 4($p < 0.01$). Concentration then decreased to preoperative concentration at day 28. GSHt concentration of free skin graft had a similar pattern of change in four groups and decreased significantly from preoperative concentration at day 2, returning to preoperative concentration by day 7(surgical control, HBO-treated, and α -tocopherol-treated, alone) and 28(HBO plus α -tocopherol-treated). Percentage of the concentration of reduced glutathione decreased in surgical control, HBO-treated and, α -tocopherol-treated($p < 0.05$), and HBO plus α -tocopherol-treated($p < 0.01$) on day 7 after surgery, whereas the concentration of oxidized increased significantly in HBO-treated($p < 0.05$), α -tocopherol-treated($p < 0.05$), and HBO plus α -tocopherol-treated($p < 0.01$).

Key words : full-thickness skin grafts, hyperbaric oxygen, thiobarbituric acid-reactive substance, oxidized/reduced glutathione, total glutathione.

서 론

피부는 언제나 끊임없이 공기, 적외선, 오존 그리고 free radical이 함유되어 있는 다른 공해물질에 직접적으로 쉽게 노출된다. 따라서 피부는 free radical 유도 질환 모델 연구에 유용한 모델로 이용되어진다¹. Free radical이 피부암, 피부노화 그리고 많은 피부염증성 질병발생과 깊은 관계가 있다는 것은 잘 알려져 있다^{2,3}. 성형외과 수술은 인의나 수의학분야에서 널리 응용되는 분야이지만 불행하게도 수술부위를 완벽하게 치유하기 위한 테크닉이나 보조치료제 개발은 미흡한 상태에 있다⁴. 이러한 목적을 달성하기 위해서 현재까지는 성형수술을 한 부위에서 형성된 free radical을 제거해줄 수 있는 제거제(scavengers)을 투여하거나 hyperbaric oxygen(HBO)을 공급해주는 두 가지 방법이 권장되고 있다⁵. Gisell *et al*⁶은 10마리의 개의 피부에 full-thickness skin graft를 시행한 후 5마리 개에게는 iron chelator 제제인 deferoxamine-10% hydroxyethyl pentafraction starch(DEF-HES)을 투여하고, 나머지 5마리에는 iron chelator 제제인 deferoxamine을 제외하고 10% hydroxyethyl pentafraction starch(HES)만 투여하여 피부 생존율을 관찰한 결과 수술후 10일에 DEF-HES 처리군이 HES 처리군보다 피부생존율이 유의하게 증가하였다고 보고하였다. Yasuko *et al*⁷은 생쥐에 자외선을 노출시킨 후 생쥐 피부의 표피(epidermal)와 진피(dermal)에서 항산화 효소, catalase, superoxide dismutase와 α -

copherol, ubiquinone 9, ubiquinol 9, ascorbic acid, dehydroascorbic acid 및 reduced glutathione의 활성을 측정 한 결과 catalase, superoxide dismutase 와 α -tocopherol, ubiquinone 9, ubiquinol 9, ascorbic acid, dehydroascorbic acid 및 reduced glutathione의 활성은 epidermis와 dermis에서 현저하게 감소한다고 하였다. Free radical을 직접적으로 측정하기는 어렵기 때문에 대부분의 경우 간접적 방법에 의존하는데 즉, superoxide dismutase, catalase 혹은 allopurinol과 같은 xanthine oxidase 억제제 등과 같은 제거제를 제공해줌으로서 세포손상의 정도를 어느 정도 감소시키느냐 하는 방법에 의존하고 있다. 이 세포손상 측정은 malondialdehyde(MAD)와 허혈조직내에서 지질과산화 정도를 나타내는 지표인 conjugated dienes를 측정함으로써 알 수 있다고 한다⁸⁻¹³. Postischemic reperfusion시 skin graft 부위에는 산소 유래 free radical injury 결과 지질 과산화 대사산물이 많이 축적되며 이러한 지질과산화 대사산물이 최고농도로 축적될 때는 이식된 피부에서 혈관재생과 혈액 재순환이 시작되는 시기라고 한다¹⁴⁻¹⁸. Pedicle skin flaps와 free skin graft시 HBO 공급은 이식피부의 생존율을 증가시킨다고 하였으며¹⁷⁻¹⁹ 또한 저산소증 상태인 조직에 산소를 충분히 공급하게 되고, 섬유아세포 활성화와 교원질(collagen) 형성을 촉진하며, 이식된 피부에서 새로운 모세혈관 생성을 증가시키며, 모세혈관의 혈액순환을 증가시켜서 적혈구의 형성과 유연성을 증가시키는 효과가 있다고 한다²⁰⁻²². 따라서 현재까지 인의 성형외과에서는 피부이식 수술시 피부 생존율을 증가시키기

위해서 이 HBO를 보조 치료제로서 광범위하게 사용하고 있고^{4,14,20-22} 수술에서도 개와 고양이 피부와 관련된 수술시 많이 이용되어지고 있다^{6,12,15,18}. 허혈상태인 조직에 대한 HBO의 이러한 유익한 효과에도 불구하고 과잉 산소공급 환경하에서는 산소 유래 free radical의 형성이 일어남으로 paradoxical oxygen toxicosis가 발생할 여지가 있고 이식된 피부에서 항산화 방어기전이 유해 free radical에 의해서 압도당하게 되면 피부 이식수술은 실패하는 원인이 되기 때문에 이 HBO의 사용에 대한 논란이 아직도 계속되고 있다^{4,14,15,23}. 만약 이러한 현상이 사실이라면 HBO 이외에 항산화 방어기전을 증가시킬 수 있는 항산화물질을 사용함으로써 이식된 피부의 생존율을 증가시킬 수 있다. 따라서 HBO와 다른 항산화제를 사용하여 연구한 보고들은 다소 있으나^{6,24-26}, HBO와 α -tocopherol을 사용한 연구결과는 찾아볼 수 없어서 본 연구에서는 HBO와 α -tocopherol을 사용하여 이식된 피부의 생존율을 연구하기 위해서 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 본 실험에 사용된 동물은 경상대학교 유전공학 연구소에서 생산한 SPF Sprague-Dawley rats 35마리 200~300g을 사용하였고 이를 non-surgical control군, surgical control군, HBO 단독처리군, α -tocopherol 단독처리군과 HBO와 α -tocopherol 혼합투여한 5처리군으로 구성하였다. 수술을 위한 마취는 ketamine(100mg/ml)과 xylazine(8mg/ml)을 복강주사하여 유도하였다.

시약 : Xanthine, xanthine oxidase, cytochrome C, superoxide dismutase, α -tocopherol, catalase, NADPH, glutathione reductase, glutathione(oxidase form, & reduced form), 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid(DTNB) 와 TBAC 2-thiobarbituric acid는 Sigma(St. Louis, MO, USA)사로부터 구입하였고 그의 시약들은 특급을 사용하였다.

Free skin graft 수술 : 각 그룹 쥐의 배측(dorsal) 양쪽 부위에 30x30mm 되게 털을 제거하고 povidone iodine 과 알콜로 소독한 후 유성펜으로 30x30mm 되게 표시한 다음 이 선을 따라 피부를 절개하여 panniculus carnosus muscle로부터 피부를 완전히 제거하였다가 다시 놓고 4-0 nylon으로 simple continuous suture 방법으로 봉합하였다. 완전히 봉합한 후 수술 부위에 제2차 감염을 예방하기 위해서 항생제(연고)을 도포하였다.

처리 : HBO 처리 그룹은 쥐를 HBO 공급상자에 넣은 후 매일 정한 시간에 두 번씩 2 ATA(atmospheres absolute) 조건으로 15분동안 산소를 공급하고 15분동안 산소를 제거하는 방법으로 28일동안 산소를 공급하였다. Surgical control 처리군은 HBO를 공급하지 않았으며, α -tocopherol 단독처리군은 α -tocopherol을 corn oil에 녹여 체중 kg당 1,000IU을 수술전 3일동안, 수술후 4일동안 수술후 2시간만에 경구투여하였다.

HBO와 α -tocopherol 혼합투여 처리군은 HBO 단독처리군과 α -tocopherol 단독처리군에서 투여한 방법과 동일하게 혼합투여하였다.

이식피부 생검 : 각 쥐에서 수술한 피부 부위를 4군으로 구분하고 수술직후, 2일, 4일, 7일, 10일, 14일, 21일과 28일에 각 부위로부터 직경이 3.5mm 되게 biopsy한 조직을 즉시 액체질소 탱크에 넣어 분석시까지 보관하였다가 분석하였다.

이식조직 생존율 측정 : 조직생존율은 수술직후부터 28일까지 관찰하였다. 만약 조직의 진피가 panniculus carnosus muscle에 부착되어 있고, 진피 부위에 출혈이 관찰되면 이 조직은 생존한 조직으로 판단하였다.

항산화 비-효소활성 분석

Total glutathione(GSHt) 양 : 각 biopsy 한 조직내에서의 GSHt 양은 Anderson²⁷의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 각각 biopsy한 조직을 0.02M EDTA 1ml로 균질한 다음 10% TCA 1ml을 가한 후 시험관을 밀봉하고 15분동안 얼음 위에 방치한다. 방치한 균질액을 10,000Xg, 4℃에서 15분동안 원심분리한 후 상등액을 제거하고 분석시까지 -20℃에 보관하면서 분석하였다. 상등액 0.2ml을 0.3mM NADPH 0.7ml과 6mM DTNB 0.1ml이 들어있는 분광광도계 시험관에 넣은 다음 GSSG reductase(250U/ml buffer) 0.02ml을 첨가하여 반응을 유도하고 421nm에서 흡광도를 1분동안 측정하였다. 표준곡선은 GSH를 농도별로 측정하여 이용하였다. 각 조직에 함유되어 있는 GSHt 농도는 아래와 같이 산출하였다.

$$\text{GSHt}(\text{mmol/g}) = (\text{glutathione concentration} \times [4/\text{sample weight in g}])/100.$$

산화/환원형 glutathione 활성 분석(Oxidized/reduced glutathione activity assay) : 각 조직의 산화/환원형 glutathione 활성 분석도 Anderson²⁷의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 0.1M phosphate buffer(pH 7.0) 500ml, 100 μ l sample, 100 μ l glutathione reductase(0.24U)와 10mMGS 100 μ l

를 측정 시험관에 넣고, 그 혼합액을 37°C에서 10분간 배양하였다. 배양후 NADPH 100 μ l를 첨가한 후 3분동안 NADPH 소비를 측정한 다음 prewarmed hydroperoxide 용액 100 μ l를 첨가하여 반응을 유도하고 340nm에서 5분동안 흡광도를 측정하였다. Non-enzyme reaction rate는 샘플 대신 완충액을 첨가하여 측정된 흡광도에 대하여 산출하였다.

Thiobarbituric acid-reactive substance(TBARS) 분석 : 지질 과산화 측정은 Aust⁸의 방법에 따라 thiobarbituric acid 기법으로 측정하였다. 즉, 2TBA 0.38g을 0.25N HCl 100ml에 첨가하고 여기에 trichloroacetic acid 15g과 butylated hydroxytoluene 1ml을 첨가하여 TBARS 시약을 조성하였다. 이 TBARS 시약의 빛에 대한 변성을 막기 위해서 foil로 싸서 빛을 차단하여 보관하면서 사용하였다. 조직을 50mM inorganic phosphate buffer(pH 7.4) 1ml로 균질화 시키고, 균질액 0.5ml에 TBARS 시약 1.0ml을 첨가한 다음 이 혼합액을 끓는 물에서 15분간 배양한 후 20~22°C에서 15분간 냉각시키고 10,000Xg로 5분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 532nm에서 흡광도를 측정하였다. Phosphate buffer와 TBA 시약을 reference로 이용하였다.

통계처리 : 통계처리는 SAS package program을 이용하여 $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$ 수준에서 유의성 검증을 하였다.

결 과

조직생존율 : 수술후 10일과 28일째 조직생존율은 67~

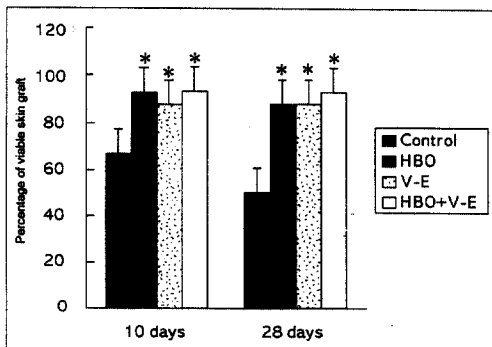


Fig 1. Effect of HBO and vitamine E on skin graft viability after surgery.

n = 7, *, $p < 0.01$ vs. surgical control.

Control; surgical control, HBO; Hyperbaric oxygen, V-E: α -tocopherol.

93% 수준으로 각 처리군은 수술대조군에 비해 유의성 ($p < 0.01$) 있는 조직생존율을 보였고, HBO plus α -tocopherol 혼합투여군의 조직생존율 평균값 78.6%은 HBO 단독처리군 59.1%과 α -tocopherol 단독처리군 66.7% 보다 조직생존율의 비율은 증가했으나 처리그룹간의 유의성은 인정되지 않았다(Fig 1).

이식 피부모양 : 수술후 28일째 surgical control 군과 HBO와 α -tocopherol 혼합처리군간의 skin graft의 상태는 현저한 차이를 보였는데 surgical control의 대부분 조직은 경도가 아주 단단하고 panniculus carnosus muscle에 완전하게 접촉되어 있지 않은 상태이고 털이 전혀 자라지 않는 상태인 반면(Fig 2 A), HBO와 α -tocopherol 혼합처리군의 대부분 조직은 그의 정상으로 회복되었고 약간의 육아조직(granulation tissue)을 나타내었다(Fig 2B). HBO

Fig 2A. The most of grafts in surgical control rats had hardness, non-haired tissue.

Fig 2B. The most of grafts in HBO plus α -tocopherol rats recovered at normal states and showed minimal granulation (arrow) tissue.

나 α -tocopherol 단독처리군은 surgical control 군보다는 다소 회복되었으나 HBO와 α -tocopherol 혼합처리군 보다는 회복정도가 현저히 떨어졌다.

산화, 환원형 glutathione 농도 : surgical control군과 HBO 처리군의 환원형 glutathione의 농도는 non-surgical control군(100%) 보다는 약간 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았고 α -tocopherol 단독처리군과 HBO와 α -tocopherol 혼합처리군의 환원형 glutathione의 농도는 non-surgical control군(100%) 보다는 75%($p<0.05$), 60%($p<0.01$)로 각각 유의하게 감소하였고, 산화형 glutathione의 농도는 HBO, α -tocopherol 단독처리군과 HBO와 α -tocopherol 혼합처리군에서는 180%($p<0.05$), 225%($p<0.01$) 및 275%($p<0.01$)로 각각 유의성 있게 현저히 증가하였다(Fig 3).

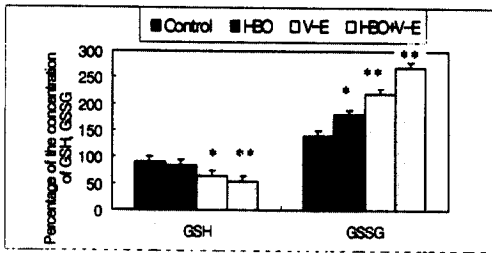


Fig 3. Percentage of the concentration of reduced and oxidized glutathione of free skin grafts in rat on 7 days after surgery; $n = 8$; values are mean \pm SEM of eight rats. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, vs. Control.

Thiobarbituric acid-reactive substance 농도의 변화(Change of concentration of thiobarbituric acid-reactive substance) : TBARS 농도변화는 처리그룹과 처리날자에 따라 유의성 있는 변화를 보였고 각 처리그룹간에는 비슷한 양상을 나타내었는데 수술 2일째에 증가하기 시작하여 제4일째에 최고로 증가하였다($p<0.01$) 점차 감소하기 시작하여 28일째에는 각 그룹이 수술이전 농도수준으로 감소하는 경향을 보였다(Fig 4). 이러한 결과로 보아 TBARS 값은 매우 변화의 기폭이 커서 해석하는데 어려움이 있었다

Glutathione의 전체농도 변화(Change of total concentration of glutathione) : free skin graft의 total glutathione 농도변화는 각 처리그룹에서 비슷한 양상을 나타내었는데 수술후 제2일째에 현저하게 감소하였다가 surgical control, HBO 처리군과 α -tocopherol 단독처리군

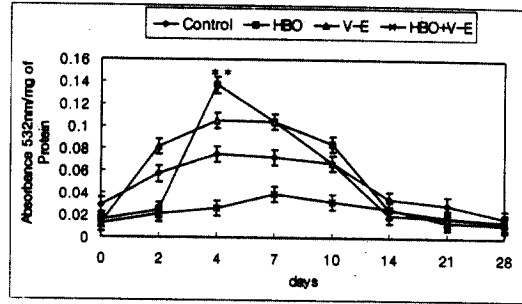


Fig 4. Change of concentration of thiobarbituric acid-reactive substance absorbance. $n = 7$; Each point represents median absorbance for the respective days. **; $p<0.01$ vs. Control.

은 제7일째, HBO와 α -tocopherol 혼합처리군은 제28일째 수술전 농도수준으로 회복되었다(Fig 5).

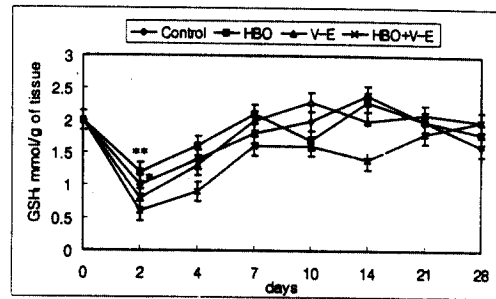


Fig 5. Change of total glutathione(GSH) concentration of free skin graft. $n = 7$, * $p<0.05$, ** $p<0.01$ vs. Control. Control : surgical control, HBO : Hyperbaric oxygen, V-E : α -tocopherol, HBO+V-E : HBO plus α -tocopherol. Each point represents median \pm SE concentration for the respective day.

고 찰

Ischemic skin flaps의 생존율을 증가시키기 위하여 약리학적 접근방법이 많이 시도되었으나 사용되어진 대부분의 약물들은 제한된 효과를 나타내거나 부작용을 나타낸다고 한다¹⁰. 허혈시 고에너지 포스파테제의 생산이 억제되면 조직생존율이 감소되나 phosphocreatine과 같은 고에너지 대사물질을 공급함으로써 조직의 생존율이 증가한다고 한다²⁵. 더욱이 여러가지 oxygen radical scavengers를 사전에 처리하여 허혈상태의 조직의 혈액 재

공급시 형성되는 oxygen radical의 유해한 효과를 차단함으로써 free skin grafts의 생존율은 증가될 수 있다고 한다.²⁸⁻³⁰ HBO 처리군과 α -tocopherol 단독처리군의 조직생존율은 surgical control 군보다 다소 증가하였으나 HBO와 α -tocopherol 혼합처리군의 조직생존율은 surgical control 군보다 현저하게 증가하였는데 이러한 결과는 Giselle⁶, Stein²⁵, Linda²와 Richard²⁴의 보고와 일치하였지만 Mctarlance와 Wermuth⁴의 결과와는 다르게 나타났다. 이와같이 결과가 다르게 나타난 것은 아마도 HBO 공급시 본 연구에서는 HBO를 2 ATA에서 28일동안 하루에 90분간 공급한 반면에 Mctarlance와 Wermuth는 HBO를 3 ATA에서 5일동안 2시간만 공급한 결과에서 오는 차이점 같다. 이는 Mctarlance와 Wermuth의 연구실험에서 실험대상 쥐의 50%가 폐사를 한 반면에 본 연구에서는 단 한 마리도 폐사하지 않은 점으로서 증명이 되는 것 같으며, 3 ATA는 2 ATA 보다 더 독성을 유발하며 그 효과도 감소하며, 또한 임상치료에 적합하지 않다고 Pelliteri *et al*¹⁸은 돼지모델 skin flap 생존율 연구에서 밝히고 있다. 사람에서 피부 이식수술후 3일동안 HBO를 2 ATA로 공급한 피부조직과 HBO를 공급하지 않은 피부조직의 생존율을 비교한 결과 HBO를 공급하지 않은 피부조직보다 HBO를 공급한 피부조직의 생존율이 현저하게 높았다고 한다(84.2% vs 62.7%)²¹. Rubi *et al*²²은 토끼에서 skin graft 생존율 시험을 한 결과 HBO를 공급한 군이 공급하지 않은 군보다도 피부조직의 생존율이 현저하게 높게 나타났다고 한다(46.9% vs 16.2%).

지질세포막은 free radical의 주요 biological targets중의 하나이며, 쉽게 과산화 반응이 일어날 수 있다고 한다¹. 지질과산화반응은 oxidative damage의 일련의 연속 반응 결과로서 보다 많은 lipid radicals이 생산되며 지질과산화반응의 최종산물은 malondialdehyde(MDA)를 포함해서 다른 aldehyde, hydrocarbon gas와 conjugated dienes 등이 있다고 한다^{5,12,16}. 조직 지질과산화 정도는 TBARS 축적량에 비례한다고 하는데 본 실험에서 TBARS의 축적이 증가한 것은 free radical 이 free skin grafts에서 생성된 결과 지질과산화 반응이 일어난다는 이론을 잘 뒷받침해주는 것 같다. 지질과산화 반응결과 산출된 물질의 농도가 증가하는 시간과 graft의 혈관 재생성시간이(2~4일째) 일치하였는데 이는 다른 연구자들이 보고^{9,14}한 것과 같이 reperfusion injury의 병리생리적인 기전과 일치한다.

수술후 제2일째 GSHt 농도가 감소한 것은 oxidative

stress에 대한 방어기전으로서 GSHt가 대사되고 사용되어진 것으로 추측되며, HBO와 α -tocopherol 혼합처리군은 제7일에, HBO 또는 α -tocopherol 단독처리군에서는 14일에 각각 정상 수준으로 회복되었다. 그러나 surgical control 군은 정상수준으로 회복되는데는 더 많은 시간이 소요되었다(28일). 비록 GSHt 농도의 감소가 oxidative stress에 대한 반응의 결과로서 제2일째에 감소하였지만 제4일째에 TBARS 농도가 증가하기전과 제4~10일 사이에 GPx 활성이 증가하기전 2일에 GSHt의 농도가 감소한 것은 아주 흥미로운 일이다. 만약 이 반응이 reperfusion injury로부터 유래된 oxidative stress에 대한 반응이라면 이 반응은 적어도 TBARS와 GPx와 동일한 시간에 감소해야 되는데 빠른 시간(2일)에 감소하였다. 이는 MDA가 lipid peroxidation의 부산물이기 때문에 부산물이 생기고 난 후에 TBARS가 반응하여야 하기 때문에 TBARS 농도가 증가하지 않고 4일에 증가하였는데 이는 free skin graft에서 glutathione 이용을 위한 동일한 pathway라 추측되어진다. 본 실험 각 처리군에서 GSHt 농도가 21일에 증가하였으나 surgical control, HBO 처리군과 α -tocopherol 단독처리군에서는 GSHt 농도가 증가하는데 조금 더 시간이 소요되었는데 이는 다른 연구결과²⁶와 일치하는 경향을 나타내었다.

결 론

본 연구는 쥐에서 full-thickness free skin grafts에 대한 hyperbaric oxygen, α -tocopherol 각각 단독처리와 혼합처리의 효과를 규명하기 위해 수행되었다. 본 연구결과 나타난 성적들은 다른 연구자들의 성과와 직접적으로 바로 비교하기는 다소 어려움이 있다 왜냐하면 본 연구에서 사용한 HBO와 α -tocopherol을 이용하여 수행한 연구가 없기 때문이다. 그러나 사용한 항산화제는 다르지만 다른 연구자들^{4,6,12,15,17,20}의 결과와 비교해보면 그의 일치하는 경향이 있다.

본 연구는 쥐에서 free skin graft에 대한 HBO와 α -tocopherol 효과를 규명한 것에 그 의의를 찾을 수 있는데 HBO, α -tocopherol 단독처리군은 surgical control보다 효과가 있으나 유의성은 인정되지 않았고, HBO와 α -tocopherol 혼합처리군은 HBO, α -tocopherol 단독처리군과 surgical control 군보다 skin grafts의 생존율이 현저하게 증가되었다. 따라서 임상에서 free skin graft 보조치료 방

법으로 HBO와 α -tocopherol 혼합사용을 권장할 수 있겠다. 하지만 HBO 공급시기와 공급시 압력상태와 더불어 사용되어지는 항산화제의 용량, 투여시기 등은 앞으로 더 연구를 수행하여야할 과제라고 생각되어진다.

참 고 문 헌

- Black HS. Potential involvement of free radical reactions in ultra violet light-mediated cutaneous damage. *Photochem Photobiol*, 46:213-221, 1987.
- Fukazawa K. Oxidation of X-tocopherol in micelles and liposomes by the hydroxyl, perhydroxyl, and superoxid free radicals. *Arch Biochem Biophys*, 226:242-251, 1983.
- Im ML, Manson PN, Bulkley GB, Hoopes JE. Effects of superoxide dismutase and allopurinol on the survival of acute island skin flaps. *Ann Surg*, 201:357-359, 1985.
- Im MJ, Shen WH, Pak CJ, et al. Effects of allopurinol on the survival of hyperemic island skin flaps. *Plast reconstr Surg*, 73:276-278, 1984.
- Charles WT, Davis RB, Christopher JM. Skin inflammation: Reactive oxygen species and the role of iron. *J Invest Dermatol*, 99:675-682, 1992.
- Burton GW. Is vitamin E the only lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in Human blood plasma and erythrocyte membranes? *Arch Biochem Biophys*, 221:281-290, 1983.
- Yasuko S, Eric W, Lester P. Antioxidant defense mechanisms in murine epidermis and dermis and their responses to ultraviolet light. *The J of Investigative Dermatology*, 100(3):260-265, 1993.
- Angel MF, Knight KR, Devir E, et al. Biochemical analysis of venous flap in the dog. *J Surg Res*, 53:24-29, 1992.
- Hosgood G, Kerwin SC, Lewis DD. Mechanism and application of hyperbaric oxygen therapy in small animal surgery. *Vet Comp Orthop Trauma*, 5:31-39, 1992.
- Kaelin LM, Im MJ, Myer RA. The effect of hyperbaric oxygen on free flaps in rat. *Arch Surg*, 125:607-609, 1990.
- Kim YP, Lee SC. Superoxide dismutase activities in the human skin. IN: Hayaishi O, Imamura W, Miyachi Y(eds), *The biological role of reactive oxygen species in skin*. Toko University of Toko press, and New York, Elsevier. pp 225-230, 1987.
- Pelliteri PK, Kennedy TI, Youn BA. The influence of hyperbaric oxygen therapy on skin flap survival in a swine model. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 118:1050-1054, 1992.
- Richard EH, Randal CP, Cecil ST, Steven LB, Steven MD. The effect of glutathione and vitamin A, C, and E on acute skin flap survival. *Laryngoscope*, 97:1176-1179, 1987.
- Burtom GW. Antioxidation of biological molecules. The antioxidant activity of vitamin E. and related chain breaking phenolic antioxidants *in vitro*. *J Am Chem Soc*, 103:6472-6497, 1981.
- Camp RD. Role of arachidonic acid metabolites in psoriasis and other skin diseases. In: Lewis A, Ackerman N, Otterness I(eds.) *New perspectives in Anti-inflammatory Therapies*, Vol 12, Raven Press, New York, pp 163-172, 1988.
- Del Maestro RF. The influence of oxygen derived free radicals on *in vitro* and *in vivo* model system. *Act Univ Upsaliensis*, 340:32-37, 1979.
- Floche L, Gunzler W. Assay of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, 105:114-121, 1984.
- Floche L, Otting F. Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol*, 105:93-105, 1984.
- Korthuis RJ, Granger DN, Taylor AE. The role of oxygen-derived free radicals in ischemia-induced increases in canine skeletal muscle vascular permeability. *Circ Res*, 57:599-609, 1985.
- Schallreuter KU, Wood JM, Berger J. Low catalase levels in the epidermis of patients with vitiligo. *J Invest Dermatol*, 97:1081-1085, 1991.
- Jacques M, Srinath PD, Bernhard HL. Oxidant stress during reperfusion of ischemic liver: No evidence for a role of xanthine oxidase. *Hepatology*, 8(3):580-584, 1987.
- McCoid JM. Oxygen-derived free radicals in post-

- schemic tissue injury. *N Engl J Med*, 312:159-163, 1985.
23. Rose JL, Giselle H, Jan VS, Clay H, Bruce LT, Grarge MS. Effect of hyperbaric oxygen an lipid peroxidation in free skin grafts in rat. *Am J Vet Res*, 59(7):913-917, 1988.
24. Paglia DE, valentiene WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, 70:158-169, 1976.
25. Sasaki GH, Pang CY. Hemodynamics and viability of acute neurovascular island skin flaps in rats. *Plast reconst Surg*, 65:152-159, 1980.
26. Trenam CW, Blake DR, Morris CJ. Skin inflammation : reactive oxygen. *Dermatol*, 99:675-682, 1992.
27. Aebi H. Catalase In : Bergemeyer HU(ed). *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press, New York, pp 673-684. 1974.
28. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, *et al*. Free radicals : basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. *Plast Reconst Surg*, 79:990-997, 1987.
29. Im MJ, Shen WH, Pak CJ, *et al*. Effect of allopurinol on the survival of the hyperemic island skin flaps. *Plast Reconst Surg*, 73:276-278, 1984.
30. Manson PN, Narayanan KK, Im MJ, *et al*. Improved survival in free skin flap transfer in rats. *Sugery*, 99: 211-215, 1986.
-