

백서 도상 피부피판에서 허혈-재관류 손상의 예방: Histamine 수용체 봉쇄약물과 L-arginine의 효과 비교

서영교 · 김옥규

부산대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract

PREVENTION OF ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY IN RAT SKIN ISLAND FLAP: COMPARISON OF HISTAMINE RECEPTOR BLOCKING AGENTS WITH L-ARGININE

Young-Kyo Seo, Uk-Kyu Kim

*Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry,
Pusan National University*

Vascular thrombosis and ischemic necrosis still remain the most significant threats to the survival of free flaps. To date, neutrophils have been implicated in the pathogenesis of postischemic injury. Several studies have demonstrated that modulating the neutrophil response to ischemia-reperfusion injury can decrease the extent of the injury. In addition, some authors noticed that mast cell counts were also increased in flaps exposed to state of ischemia/reperfusion. So, we designed to evaluate the role of mast cells in ischemia/reperfusion by blocking histamine and to compare the effect of L-arginine, a nitric oxide precursor which is known to prevent neutrophil-mediated tissue injury. Epigastric island skin flaps were elevated in 30 rats and rendered ischemic. Thirty minutes prior to reperfusion, the rats were treated with intraperitoneal saline, diphenhydramine, cimetidine, and L-arginine. The necrosis rate of flap at 7 days, the number of neutrophils and mast cells at 20 hours were evaluated. In conclusion, histamine receptor blockers as well as L-arginine significantly decreased flap necrosis in a rat skin island ischemia-reperfusion flap model, but the protective effect was not significantly different in both agent groups.

Key words : Free flap, Ischemia, Reperfusion, Histamine receptor blocker, L-arginine

I. 서 론

유리피판술 시행시 허혈상태에서 조직손상이 일어나는 것은 오래전부터 알려져 있었으나, 허혈조직에 재관류가 이루어지면서 조직손상이 더욱 심화될 수 있다는 '재관류 손상'의 개념은 최근에서야 정립되기 시작하였다^{1,2)}. 허혈-재관류 손상의 기전에는 여러 가지 요소가 연관되어 있는데 그 중에서 중성구는 유리산소기의 중요한 근원으로서 주목받고

있으며, 재관류손상에 대한 중성구의 반응을 조절함으로써 피판의 손상범위를 감소시킬 수 있다고 보고되고 있다³⁻⁵⁾. Lee 등은 cyclophosphamide에 의해 유도된 중성구감소증에서 근피부 피판의 생존이 향상될 수 있다고 보고하였고⁶⁾, Vedder 등은 백혈구-내피 유착분자인 CD18에 대한 항체를 사용하여 중성구에 의해 유도된 조직 손상의 감소를 보고하였다⁷⁾. 그러나 이러한 연구들에 사용된 약물들이 대부분 실험적이고 고가이면서 임상적 측면에서 심각한 부작용

※ 본 연구는 부산대학교 자유과제 학술연구비 지원으로 이루어 졌음.

을 야기할 수 있다. 독성이 없고 저렴하며 임상적으로 적용할 수 있으면서 중성구에 의해 매개되는 허혈-재관류손상을 방지할 수 있을 것으로 생각되는 약물로서 L-arginine이 광범위하게 연구되고 있다.

L-arginine은 일산화질소 합성효소에 의해 일산화질소로 전환된다. 혈관내피세포에서 생성되는 내피의존성 이완인자인 일산화질소는 여러 생리 기관에서 다양한 기능을 가지고 있으며⁸⁻¹⁰⁾, 허혈-재관류 조직에서 혈관내막과 중성구의 유착을 억제하여 피관의 생존에 유용한 효과를 미친다고 보고되고 있다⁹⁻¹²⁾.

최근의 연구에 따르면 허혈성 피관에서 백혈구뿐만 아니라 비만세포의 수도 역시 증가한다¹³⁾. 허혈-재관류 손상에서 이 비만세포의 역할은 알려져 있지 않지만, 비만세포에서 분비되는 주요물질 중 하나인 histamine의 작용을 차단하였을 때 비만세포의 수와 피관 괴사를 감소시킬 수 있을 것이라는 것이다.

따라서 본 연구에서는 재관류전에 일산화질소의 전구물질인 L-arginine의 투여가 피관생존을 개선시키는지, 또한 antihistamines를 투여하여 histamine의 작용을 차단시키는 것이 피관 생존을 향상시킬 수 있는지를 평가하고, 양 실험군간의 효과를 비교하여 봄으로써 피관생존율을 향상시키기 위해 어떤 경로의 접근이 보다 효과적인지를 알아보고자 하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구방법

동일 조건하에서 사육된 체중 200-250g 정도의 Sprague-Dawley계 수컷 백서 15마리를 사용하였다. ketamine chloride (Ketalar[®], Yuhan, Korea) 100mg/kg과 xylazine hydrochloride (Rompun[®], Bayer, Korea) 10mg/kg을 혼합하여 백서의 대퇴부에 근육주사하여 전신 마취한후 복부와 서혜부를 삭모하고 베타딘 용액을 도포하여 소독하였다. 복부에 양측으로 정중선을 내측경계로 하는 5×3cm 크기의 피관을 작도한 후 하복부동맥 및 정맥을 혈관경으로 하는 복부 도서형 피관을 거상하였다. 수술현미경을 이용하여 하복부 동, 정맥의 기시부에서 원위쪽으로 1cm되는 지점까지 대퇴 동, 정맥을 서혜인대로부터 박리한 다음 하복부 동, 정맥을 미세혈관 겹자(2-3Gm/mm², S&T Co., Switzerland)로 잡아 피관을 허혈상태로 만들었다. 혈장 흡수(plasmatic imbibition)에 의한 피관의 영양공급을 차단하기 위하여 수술용 장갑을 피관크기로 잘라 피관 아래에 삽입한 후 피관을 다시 원위치시켜 봉합하였다. 하복부피관을 시행하였던 과거의 연구들^{14,15)}을 토대로 하여 피관의 괴사와 생존의 분기점을 8-10시간으로 잡았으며,

본 실험에서는 이를 참조하여 10시간동안 허혈상태를 유지하였다. 10시간 허혈상태 유지 후 동물을 다시 마취하고 피관 일부의 봉합사를 제거한 후 미세혈관 겹자를 제거하여 재관류시킨 다음 다시 봉합하였다.

실험동물은 다음과 같이 5군으로 분류하였다.

1군(n=6) : 허혈상태를 만들지 않음.

2군(n=6) : 10시간 허혈상태를 유지한 후 재관류시킴. 재관류 30분 전에 생리식염수 1ml를 복강내 투여

3군(n=6) : 10시간 허혈상태를 유지한 후 재관류시킴. 재관류 30분 전에 H1 수용체 봉쇄약물인 diphenhydramine(50mg/kg, Sigma, U.S.A.)을 복강내 투여

4군(n=6) : 10시간 허혈상태를 유지한 후 재관류시킴. 재관류 30분 전에 H2 수용체 봉쇄약물인 cimetidine(250mg/kg, Tagma[®], Samsung, Korea)을 복강내 투여

5군(n=6) : 10시간 허혈상태를 유지한 후 재관류시킴. 재관류 30분 전에 일산화질소의 전구물질인 L-arginine(300mg/kg, Sigma, U.S.A.)을 복강내 투여

2. 조직 생검 및 세포 수 측정

재관류 개시 10시간 후에 동물을 다시 마취한 후 각 피관의 중앙으로부터 직경 6mm의 조직생검을 시행하였다. 생검조직을 10% formalin에 고정된 후 각 조직에 대해 4μm 두께의 절편을 작성하여, 중성구를 관찰하기 위한 hematoxyline and eosin (HE)염색과 비만세포를 관찰하기 위한 toluidine blue염색을 시행하였다. 비만세포와 중성구의 수를 400배율에서 20회씩 측정하여 그 합을 기록하였다.

3. 피관 괴사율 측정

재관류후 7일째 동물을 다시 마취시킨 후 괴사된 조직의 면적을 셀로판용지에 옮겨 그려 측정하였고, 구분구적법을 이용해 괴사범위를 계산하였다. 원래의 피관면적에 대한 괴사된 피관 면적의 비를 백분율로 표시하였다.

4. 통계적 분석

모든 측정치는 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군 사이의 통계적 유의성은 Kruskal-Wallis test와 Mann-Whitney test를 사용하여 검증하였다.

Ⅲ. 연구 성적

1. 피판 괴사율

허혈에 노출되지 않은 1군에서 피판 괴사율은 $0.57 \pm 0.96\%$ 로 괴사는 거의 일어나지 않은 반면 10시간의 허혈 후 재관류시킨 2군은 $61.28 \pm 19.58\%$ 의 괴사율을 보였다. 재관류 30분전에 diphenhydramine, cimetidine, L-arginine을 투여한 군에서는 각각 $21.35 \pm 7.24\%$, $24.56 \pm 23.14\%$, $13.55 \pm 6.23\%$ 를 나타내었다 (Table 1). Kruskal-Wallis test에서 각 군은 모두 유의한 차이를 보였으며 ($p=0.000$), Mann-Whitney test를 시행한 결과 3, 4, 5군 모두 대조군으로서 식염수만 투여한 2군과 유의한 차이를 보였다 ($p < .05$) (Table 2). 또한 약물투여군 중 피

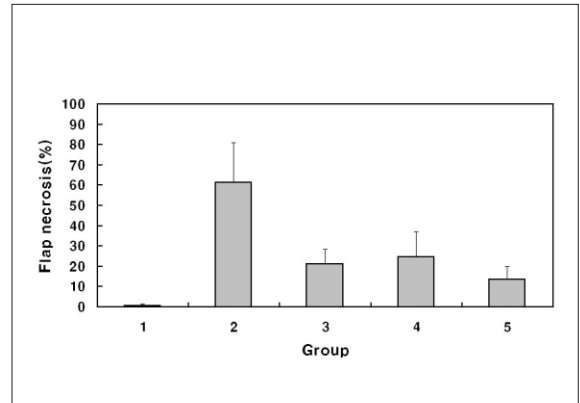


Fig. 1. Percentage of flap necrosis on the seventh day after reperfusion.

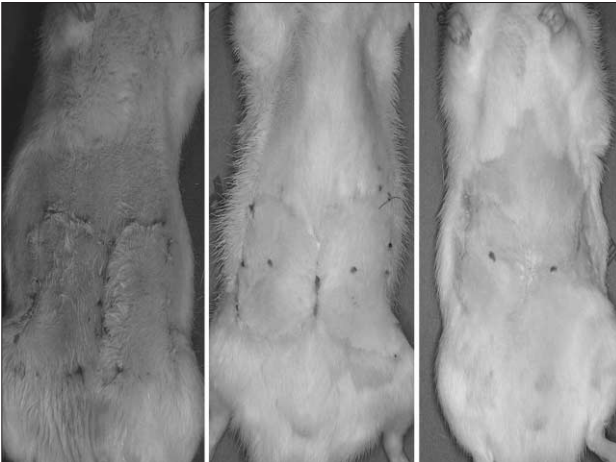


Fig. 2. Group 1 at 7 days after the reperfusion.

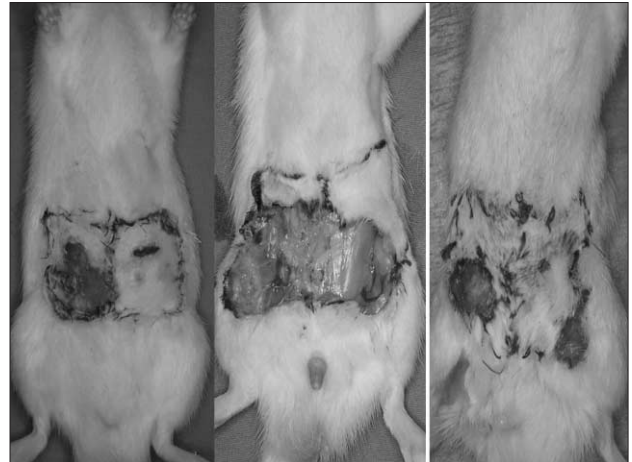


Fig. 3. Group 2 (control group) at 7 days after the reperfusion.



Fig. 4. Group 3 at 7 days after the reperfusion.

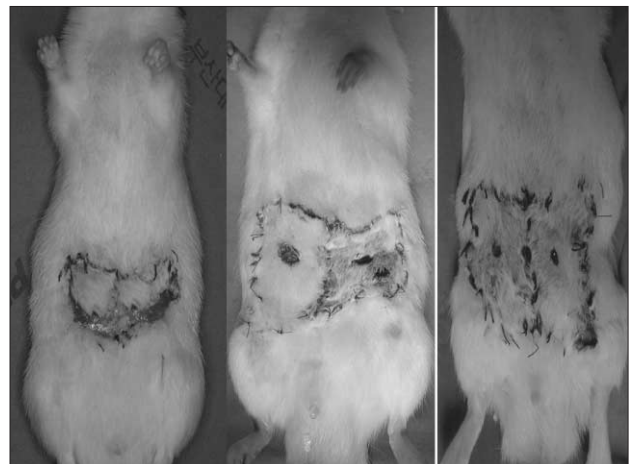


Fig. 5. Group 4 at 7 days after the reperfusion.

판 괴사율은 5군, 3군, 4군의 순으로 나타났으나 각 5군, 4군, 3군 간의 유의한 차이는 없었다 (Fig. 1-6).

2. 중성구 수 측정

중성구 수는 1군에서 가장 낮고 대조군인 2군에서 가장 높았다 (Table 1). 약물 투여군 중에서는 5군, 3군, 4군의 순으로 나타났고, 모두 대조군인 2군과 유의한 차이를 보여 3가지 약물이 모두 중성구 수를 감소시키는 효과가 있다는 것을 확인하였다 (Table 2). 중성구 감소효과는 L-arginine, diphenhydramine, cimetidine의 순서로 나타났으나 L-arginine과 cimetidine 사이에서만 유의한 차이가 있었을 뿐, diphenhydramine과 cimetidine 사이, L-arginine과 diphenhydramine 사이에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (Fig. 7).

3. 비만세포 수 측정

비만세포 수는 1군, 3군, 4군, 5군, 2군의 순으로 낮게 나

타났다 (Table 1). Mann-Whitney 비모수검정법으로 두군 간의 유의성을 통계 처리한 결과, 약물 투여군 중 3군과 4군은 대조군과 비교하여 비만세포 수가 유의한 감소를 보였으나($p < .05$), 5군은 대조군과 유의한 차이를 보이지 않

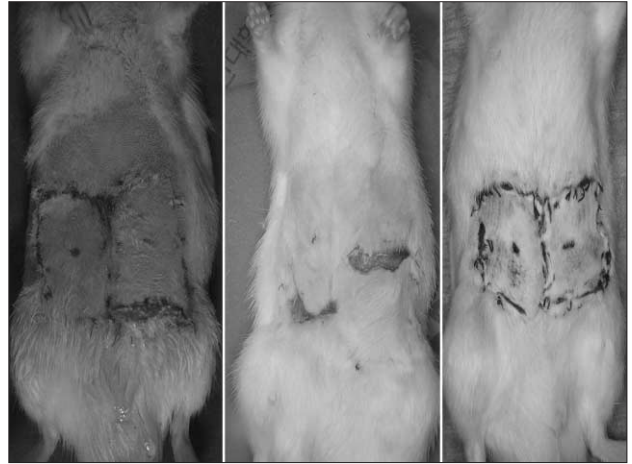


Fig. 6. Group 5 at 7days after the reperfusion.

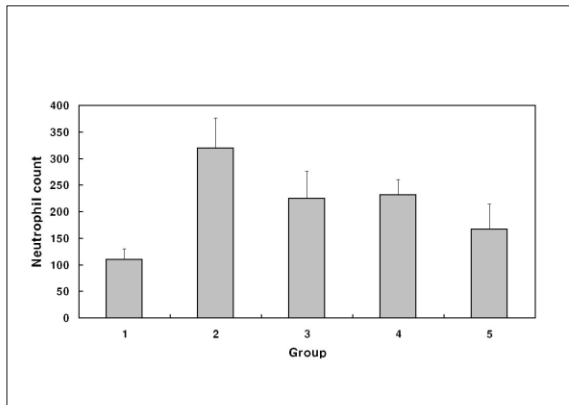


Fig. 7. Neutrophil counts after 10 hours of reperfusion.

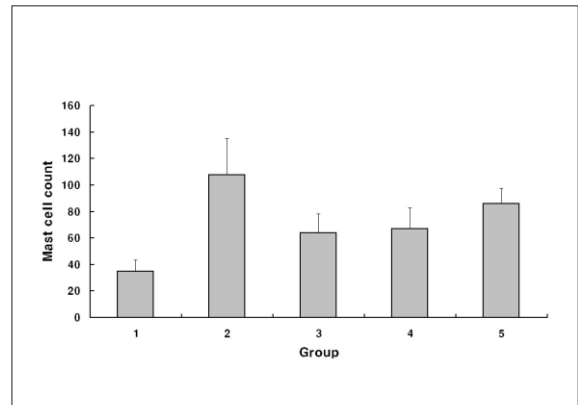


Fig. 8. Mast cell counts after 10 hours of reperfusion.

Table 1. Neutrophil Counts, Mast Cell Counts and Flap Necrosis(%) after 10 hours of Reperfusion

Group	Neutrophil count	Mast cell count	Flap necrosis(%)
Group 1 (non-ischemic)	110.17 ± 20.35	35.17 ± 8.40	0.57 ± 0.96
Group 2 (ischemic + saline)	320.33 ± 56.56	107.67 ± 27.35	61.28 ± 19.58
Group 3 (ischemic + dyphenhydramine)	225.17 ± 51.75	63.83 ± 14.26	21.35 ± 7.24
Group 4 (ischemic + cimetidine)	232.17 ± 29.29	67.00 ± 15.97	26.05 ± 12.62
Group 5 (ischemic + L-arginine)	167.50 ± 47.94	86.17 ± 11.79	13.55 ± 6.23

Table 2. Statistical significance by Mann-Whitney test

Group	Neutrophil count	Mast cell count	Flap necrosis	(p-value)
1 vs 2	0.004	0.004	0.003	
1 vs 3	0.004	0.004	0.003	
1 vs 4	0.004	0.006	0.003	
1 vs 5	0.030	0.004	0.003	
2 vs 3	0.025	0.010	0.004	
2 vs 4	0.010	0.016	0.016	
2 vs 5	0.004	0.200	0.004	
3 vs 4	0.522	0.747	0.631	
3 vs 5	0.150	0.025	0.078	
4 vs 5	0.025	0.055	0.078	

았다($p > .05$). 또한 3군과 4군의 비교에서도 유의한 차이는 보이지 않아($p > .05$) 비만세포 수의 감소에 있어 diphenhydramine과 cimetidine의 효과에는 차이가 없는 것으로 나타났다 (Table 2, Fig. 8).

IV. 총괄 및 고찰

미세수술이 발전함에 따라 유리피판의 성공률이 상당히 증가하였지만 그럼에도 불구하고 혈전형성과 허혈성 괴사는 유리피판의 성공을 위협하는 가장 큰 문제점으로 남아 있다. 최근에는 허혈과 관련된 미세혈관 손상의 상당부분이 허혈성 조직에 혈류가 재개되면서 일어난다는 사실이 알려지면서 이러한 '허혈-재관류손상'을 예방하기 위한 다양한 접근이 이루어지고 있다^{14,15}. 허혈과 재관류에 노출된 조직에 대한 연구들을 통해 후모세관정맥에서 단백질 유출 및 백혈구의 유착과 유주의 증가로 특징지어지는 급성염증반응을 보인다는 사실이 밝혀졌다^{16,17}. 백혈구와 혈관내피 사이의 유착은 생체의 정상 자가방어기전에 중요한 현상이지만 허혈-재관류로 인한 조직손상의 기전에서는 재관류시 발생된 산소유리기, peptide, protease 및 혈관작용물질 등의 여러 독성물질에 의해 자극된 중성구가 미세혈관 내벽에 유착되고 protease와 oxidants를 유리하여 정상 내피를 파괴하여 부종, 출혈, 혈전, 조직괴사 등을 유발하게 되고, 중성구들 사이에도 서로 유착이 일어나 미세혈관을 폐쇄하여 허혈상태를 더욱 조장하게 된다. 또 혈관내벽에 유착된 호중구와 혈관내피 사이에는 보호 미세환경(protected microenvironment)이 형성되어 순환하는 antiprotease나 antioxidant가 유착부에 작용할 수 없어 손상을 억제하지 못한다. 따라서 이러한 유착단계를 차단함으로써 조직손상을 줄이려는 연구가 진행되고 있다^{3,18,19}.

Furchghott 등²⁰이 혈관내피로부터 혈관 이완 인자(endothelium-derived relaxing factor: EDRF)가 분비되어 혈관의 경축(vessel spasm)을 억제한다는 사실을 보

고한 이후, 1987년 Moncada 등⁸의 연구에 의하여 EDRF의 본체가 일산화질소라는 사실이 밝혀졌다. 일산화질소는 일산화질소 합성효소에 의해 기질물질인 L-arginine이 L-citrulline으로 변환되면서 부산물로 생성되고, 이는 심장혈관계를 포함하여 신경계, 면역계 등 다른 기관에서도 이루어지며, 생리적 조건하에서 항상성 유지에 관여한다²¹. 재관류 손상기에 내피세포로부터의 일산화질소 유리가 훼손되며^{11,22}, 이 시기에 투여된 일산화질소는 혈관내피의 기능을 보존하고 심근 손상의 범위를 상당히 감소시킬 수 있다²³. 이것은 중성구에 대한 일산화질소의 효과, 특히 유착을 방해하는 효과에 의해 매개되는 것으로 생각된다^{9,24}. 믿을만한 일산화질소의 투여는 그것의 상당히 짧은 반감기와 휘발성, 그리고 자유라디칼로서의 잠재적인 독성 때문에 기술적인 어려움이 있다²⁵. 따라서 본 연구에서는 일산화질소 대신에 L-arginine을 사용하였는데, L-arginine이 일산화질소 합성효소의 주된 기질이기에 때문에 외부에서 L-arginine을 투여해주면 일산화질소의 생성을 유지시켜줄 수 있다^{11,26}.

일산화질소가 혈류를 유지시켜 조직손상을 감소시킨다는 보고가 있는 반면 뇌조직 및 분리된 심근에서 대량생산된 일산화질소가 조직손상을 야기시켰다는 보고들^{27,28}도 나오고 있고 실제로 일산화질소 억제제가 현재 임상적으로 시험되어 허혈성 대뇌경색의 크기를 감소시키는 것으로 알려져 있다. 일산화질소 합성효소는 2가지로 분류할 수 있는데 하나는 구조형 일산화질소 합성효소로서 내피세포 및 신경원에 존재하고, 이는 세포질내 칼슘이온 유입의 증가에 의해 일산화질소가 만들어지는데 이때 생성된 일산화질소는 cyclic AMP를 증가시켜 혈관을 확장시키거나 혈소판 응집을 억제하며 혈관내피와 중성구의 유착 및 응집을 억제시킴으로써 생체의 생리학적 항상성 유지에 관여하는 것으로 알려져 있다²¹. 그러나 대식세포에 존재하는 칼슘이온 비의존성 일산화질소합성효소는 몇몇 종류의 화학주성인자가 생체내에서 분비된 경우, 세포내 칼슘이온과 상관없이 mRNA가 발현되어 활성화되고, 이때 생성되는 일산화질소

는 직접 자유라디칼로 작용하든지 혹은 활성산소와 반응하여 peroxynitrite를 생성함으로써 세포의 산화적 손상을 유발한다²¹⁾. 생체에 대한 일산화질소의 이러한 상반된 작용으로 인해, 허혈-재관류와 같은 조건에서 일산화질소가 어떻게 작용하는지에 대해 논란의 대상이 되고 있다. 본 실험결과 L-arginine을 재관류 직전에 투여했을 때 중성구의 수가 생리식염수를 투여한 대조군인 2군에 비해 320.33 ± 56.56 에서 167.50 ± 47.94 로 유의하게 감소하였고, 피판의 괴사도 $61.28 \pm 19.58\%$ 에서 $13.55 \pm 6.23\%$ 로 유의하게 감소하였다. 따라서 L-arginine이 일산화질소로 전환되고 이것이 피판내 허혈 후 중성구의 유착을 방해하여 재관류손상을 억제한다는 것을 보여주었다. Corderio 등은 L-arginine의 이러한 효과가 일산화질소에 의해 매개되는지를 확인하기 위해 일산화질소의 선택적 길항제인 N-nitro-L-arginine methylester(N-NAME)를 L-arginine과 함께 투여했을 때 L-arginine의 보호효과는 상쇄된다는 것을 보여주었다³⁾. 이것은 L-arginine에 의한 보호효과의 기전이 실제로 일산화질소에 의해 매개된다는 것을 의미한다.

한편 L-arginine의 보호효과가 전적으로 일산화질소 공여효과에 의한 중성구 유착의 억제에 의한 것이 아닐 가능성도 제시되고 있다. 즉, 활성화된 혈소판과 비만세포로부터 유래한 물질들도 혈관유출에 기여할 수 있고 일산화질소 전구물질이 이러한 세포들을 안정화 혹은 불활성화시킴으로써 조직을 보호하는 것일 수도 있다는 보고가 있었다^{29,30)}. 예를 들어 비만세포는 허혈-재관류손상과 관련하여 혈소판 활성화인자(PAF), histamine, leukotriene, superoxide anion 등을 유리하며 백혈구 유착, 혈소판 응집 및 혈관투과성 증가를 일으키는 것으로 알려져 있다³¹⁻³³⁾. 일산화질소 공여물질들이 후모세관정맥에 축적되는 비만세포의 세포막을 안정화한다는 사실이 보고된 바 있다³⁴⁻³⁶⁾. 본 실험에서도 L-arginine 투여군에서, 통계적 유의성은 없었으나 대조군에 비해서 비만세포의 수가 감소하여 이러한 가능성을 시사하고 있다.

비만세포, histamine, 중성구에 의해 매개되는 조직손상의 복잡한 기전은 다른 실험들의 결과에서도 제시되고 있다. 사람의 결막 상피모델에서 Weimer 등³⁷⁾은 히스타민이 상피세포의 H1 수용체를 활성화시켜 염증성 화학주성인자를 유리시킨다고 하였고, 다른 저자들은 antihistamines를 투여함으로써 전신적인 비만세포형성과, 상피세포로부터의 염증성 화학주성인자의 유리를 감소시킬 수 있다는 것을 보여주었다³⁸⁾. 따라서 많은 연구들이 염증반응과 조직손상에서의 histamine매개의 역할을 지지하고 있고 백서의 임의형 피부피판에서 피판의 생존을 향상시켰다는 보고가 있었으나 허혈-재관류손상에서의 histamine의 역할에 대한 연구는 없었다. Histamine은 비만세포에서 유래한 주요 매개물질로서, 급성염증반응시 혈관투과성을 증가시키고, 특히

혈관내피의 결합자인 P-selectin을 상향조절하여 백혈구의 rolling을 개시하도록 한다^{39,40)}. Yamaki 등⁴¹⁾은 histamine을 복강내 투여했을 때 세정맥의 백혈구 농도가 전신적인 백혈구 농도보다 최고 50배까지 용량의존적으로 증가하는 것을 확인하였다. 더구나 histamine에 의해 유도된 백혈구 침윤이 거의 전적으로 백혈구의 rolling에 의존한다는 사실도 확인하였다. 본 실험결과에서는 antihistamines를 재관류전에 투여한 3군 (H1 수용체 봉쇄약물), 4군 (H2 수용체 봉쇄약물)에서 조직내 비만세포의 수 뿐만 아니라 중성구의 수도 유의하게 감소하였고 피판의 생존율도 역시 유의하게 증가되었다. 따라서 허혈-재관류손상시 비만세포로부터 유리된 histamine이 백혈구의 침윤을 야기하여 조직손상을 심화시킨다는 가설을 확인할 수 있었고, 항히스타민제를 재관류 전에 투여함으로써 이러한 조직 손상을 감소시킬 수 있음을 확인하였다.

또한 주목할만한 점은 허혈-재관류손상에서 각 히스타민 수용체 봉쇄약물의 상대적인 기여도로서, 이와 관련해 Asako 등⁴⁰⁾은 histamine에 의한 백혈구의 rolling은 H1 수용체 봉쇄약물에 의해 차단되지만, H2 수용체봉쇄약물에 의해서는 영향받지 않았다고 하였고, 반대로 Ley 등⁴²⁾은 H2 수용체 봉쇄에 의해 상당히 감소한 반면 H1 수용체 봉쇄는 별다른 효과가 없었다고 하였다. 본 실험을 통해서도 H1 수용체 봉쇄약물로 diphenhydramine 50mg/kg, H2 수용체 봉쇄약물로 cimetidine 250mg/kg을 복강내 투여하였으며, 그 결과 양 군에서 모두 대조군에 비해 비만세포와 중성구 수의 유의한 감소를 보였으며, H1과 H2 수용체 봉쇄약물의 효과에서는 유의한 차이는 관찰할수 없었다(p > .05). 이러한 상이한 결과는 투여용량과 경로, 실험모델에서의 차이 등에서 원인을 찾을 수 있겠으나 아직 이에 대한 명확한 기전의 이해는 부족한 편이다.

이상과 같이 본 연구에서는 인체에 독성이 적으면서도 허혈-재관류손상을 적절히 예방할 수 있을 것으로 생각되는 약물 중 실제 임상적용 가능성이 높은 L-arginine과 antihistamines를 선택하여 피판 생존율에 미치는 효과를 평가하였으며, 비록 이런 약물들이 피판의 괴사를 억제하는 기전을 밝히는 데 있어서 실험적 한계가 존재하지만, 선행들의 연구결과에 기초하여 중성구와 비만세포의 수를 측정함으로써 간접적으로 추정할 수 있었다. 본 실험결과를 토대로 이후의 실험은 그 정확한 기전을 밝히는 방향으로 진행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

본 연구에서는 백서의 복부에 도상피판을 형성한 후 미세혈관점자를 이용해 혈류를 차단하고 이를 재관류시킴으로써 미세혈관문합에 의한 유리피판술과 동일한 환경을 만들

였으며, 재관류 30분전에 L-arginine과 diphenhydramine, cimetidine을 각각 투여하여 각 약물이 조직의 허혈-재관류손상에 미치는 영향을 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. L-arginine 투여시 조직내 중성구의 수, 피판괴사율이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. 비만세포의 수도 대조군에 비해 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다.
2. H1, H2 수용체 봉쇄약물 투여시 중성구의 수, 비만세포의 수 및 피판괴사율이 모두 대조군에 비해 감소하였고, 그 효과에 있어 H1과 H2 수용체 봉쇄약물 사이에 유의한 차이는 없었다.
3. 피판의 생존율의 개선효과는 L-arginine, diphenhydramine, cimetidine의 순으로 나타났으나 유의한 차이는 없었다.

이상의 결과로 미세혈관문합에 의한 유리 피판술시 재관류전에 L-arginine과 H1, H2 수용체 봉쇄약물을 전신투여 함으로써 피판의 허혈 및 재관류기전을 개선하여 피판 생존율이 개선될 수 있을 것으로 판단되었으나 향후 약물기전연구 및 많은 개체수의 동물로서 실험 등이 보강되어야 할 것으로 보인다.

참고문헌

1. Lee C, and Ferrigan CL : Neutrophil Localization following reperfusion of ischemic skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 89 : 910, 1992.
2. Goldman G, Welbourn R, Klausner JM *et al* : Mast cells and leukotrienes mediate neutrophil sequestration and lung edema after remote ischemia in rodents. *Surgery* 112 : 578, 1992.
3. Simpson PJ, Todd RF, Fantone JC *et al* : Reduction of experimental canine myocardial reepfusion injury by a monoclonal antibody (anti-Mol, anti-CD11b) that inhibits leukocyte adhesion. *J Clin Invest* 81 : 624, 1988.
4. Kaminski PM, and Proctor KG : Attenuation of no-reflow phenomenon, neutrophil activation, and reperfusion injury in intestinal microcirculation by topical adenosine. *Circ Res* 65 : 426 1989.
5. Winn RK, Liggitt D, Vedder NB *et al* : Anti-P-selectin monoclonal antibody attenuates reperfusion injury to the rabbit ear. *J Clin Invest* 92 : 2042, 1993.
6. Lee C, Kerrigan CL, Picard-Ami LA Jr : Cyclophosphamide-induced neutropenia: Effect in postischemic skin-flap survival. *Plast Reconstr Surg* 89 : 1092, 1992.
7. Vedder NB, Buchy LP, Richey NL *et al* : Improved survival rates of random flaps in rabbits with a monoclonal antibody that blocks leukocyte adherence. *Plast Reconstr Surg* 93 : 1035, 1994.
8. Palmer RMJ, Ferrige AG, and Moncada S : Nitric oxide release account for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327 : 524, 1987.
9. Kubes P : Nitric oxide modulates epithelial permeability in the feline small intestine. *Am J Physiol* 262 : G1138, 1992.
10. Gryglewski RJ, Palmer RMJ, Moncada S : Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* 320 : 454, 1986.
11. Ma X, Weyrich AS, Lefer DJ *et al* : Diminished basal nitric oxide release after myocardial ischemia and reperfusion promotes neutrophil adherence to coronary endothelium. *Circ Res* 72 : 403, 1993.
12. Vegh A, Szekeres L, Parratt J : Preconditioning of the ischemic myocardium: Involvement of the L-arginine nitric oxide pathway. *Br J Pharmacol* 107 : 648, 1992.
13. Cordeiro PG, Mastorakos DP, Hu QY *et al* : The protective effect of L-arginine on ischemia-reperfusion injury in rat skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 100 : 1227, 1997.
14. Suzuki S, Yoshioka N, Isshiki N *et al* : Involvement of reactive oxygen species in post-ischemic flap necrosis and its prevention by antioxidants. *Br J Plast Surg* 44 : 130, 1991.
15. Ashoori F, Suzuki S, Zhou JM *et al* : Involvement of lipid peroxidation in necrosis of skin flaps and its suppression by ellagic acid. *Plast Reconstr Surg* 94 : 1027, 1994.
16. Carden DL, Smith JK, Korthuis RJ : Neutrophil-mediated microvascular dysfunction in postischemic canine skeletal muscle: Role of granulocyte adherence. *Circ Res* 66 : 1436, 1990.
17. Zamboni WA, Roth AC, Russell RC *et al* : Morphologic analysis of the microcirculation during reperfusion of ischemic skeletal muscle and the effect of hyperbaric oxygen. *Plast Reconstr Surg* 91 : 1110, 1993.
18. Sharar SR, Mihelcic DD, Han KT *et al* : Ischemia reperfusion injury in the rabbit ear is reduced by both immediate and delayed CD 18 leukocyte adherence blockade. *J Immunol* 153 : 2234, 1994.
19. Vedder NB, Winn RK, Rice CL *et al* : A monoclonal antibody to the adherence-promoting leukocyte glycoprotein, CD18, reduces organ infury and improves survival from hemorrhagic shock and resuscitation in rabbits. *J Clin Invest* 81 : 939, 1988.
20. Furchgott RF, Zawadzki JV : The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288 : 373, 1980.
21. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA : Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43 : 109, 1991.
22. Tsao PS, Aoki N, Lefer DJ *et al* : Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation* 82 : 1402, 1990.
23. Weyrich AS, Ma X, Lefer AM : The role of L-arginine in ameliorating reperfusion injury after myocardial ischemia in the cat. *Circulation* 86 : 279, 1992.
24. Johnson GIII, Tsao PS, Lefer AM : Cardioprotective effects of authentic nitric oxide in myocardial ischemia with reperfusion. *Crit Care Med* 19 : 244, 1991.
25. Siegfried MR, Erhardt J, Rider T *et al* : Cardioprotection and attenuation of endothelial dysfunction by organic nitric oxide donors in myocardial ischemia-reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther* 260 : 668, 1992.
26. Gold ME, Bush PA, Ignarro LJ : Depletion of arterial L-arginine causes reversible tolerance to endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* 164 : 714, 1989.
27. Yasmin W, Strynadka KD, Schulz R : Generation of peroxynitrite contributes to ischemia-reperfusion injury in isolated hearts. *Cardiovasc Res* 33 : 422, 1997.
28. Trifiletti RR : Neuro-protective effects of NG-nitro-L-arginine in focal stroke in the 7-day old rat. *Eur J Pharmacol*

- 218 : 197, 1992.
29. Kubes P, Granger DN : Nitric oxide modulates microvascular permeability. *Am J Physiol* 262 : 611, 1992.
30. Filep JG, Foldes-Filep E, Sirois P : Nitric oxide modulates vascular permeability in the rat coronary circulation. *Br J Pharmacol* 108 : 323, 1993.
31. Kirschner RE, Fyfe BS, Hoffman LA *et al* : Ischemia-reperfusion injury in myocutaneous flaps: Role of leukocytes and leukotrienes. *Plast Reconstr Surg* 99 : 1485, 1997.
32. Stotland MA, Kerrigan CL : The role of platelet activating factor in musculocutaneous flap reperfusion injury. *Plast Reconstr Surg* 99 : 1989, 1997.
33. Heller R, Bussolino F, Ghigo D *et al* : Nitrovasodilators inhibit thrombin-induced platelet-activating factor synthesis in human endothelial cells. *Biochem Pharmacol* 44 : 223, 1992.
34. Salvemini D, Masini E, Pistelli A *et al* : Nitric oxide: A regulatory mediator of mast cell reactivity. *J Cardiovasc Pharmacol* 17(Suppl 3): S258, 1991.
35. Kubes P, Kanwar S, Niu XF *et al* : Nitric oxide synthesis inhibition induces leukocyte adhesion via superoxide and mast cells. *Am J Physiol* 7 : 1293, 1993.
36. Mayhan WG : Role of nitric oxide in leukotriene C4-induced increases in microvascular transport. *Am J Physiol* 265(1 pt 2):H 409, 1993.
37. Weimer LK, Gamache DA, Yanni JM : Histamine-stimulated cytokine secretion from human conjunctival epithelial cells: Inhibition by the histamine H1 antagonist emedastine. *Int Arch Allergy Immunol* 115 : 288, 1998.
38. Kurosawa M, Amano H, Kanbe N *et al* : Heterogeneity of mast cells in mastocytosis and inhibitory effect of ketotifen and ranitidine on indolent systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol* 100 : S25, 1997.
39. Hattori R, Hamilton KK, Fugate RD *et al* : Stimulated secretion of endothelial von Willebrand factor is accompanied by rapid redistribution to the cell surface of the intracellular granule membrane protein GMP-140. *J Biol Chem* 264 : 7768, 1989.
40. Asako H, Kurose I, Wolf R *et al* : Role of H1 receptors and P-selectin in histamine-induced leukocyte rolling and adhesion in postcapillary venules. *J Clin Invest* 93 : 1508, 1994.
41. Yamaki K, Thorlacius H, Xie X *et al* : Characteristics of histamine-induced leukocyte rolling in the undisturbed microcirculation of the rat mesentery. *Br J Pharmacol* 123 : 390, 1998.
42. Ley K : Histamine can induce leukocyte rolling in rat mesenteric venules. *Am J Physiol* 267 : 1017, 1994.

저자 연락처

우편번호 602-739
부산광역시 서구 아미동 1가 10번지
부산대학교 치의학전문대학원 구강약안면외과학교실
김옥규

원고 접수일 2006년 5월 15일
게재 확정일 2006년 7월 20일

Reprint Requests

Uk-Kyu Kim
Department of OMS, School of Dentistry, Pusan National Univ.
1-10, Amidong, Seogu, Pusan, 602-739, Korea
Tel: +82-51-240-7803
E-mail: kuksjs@pusan.ac.kr

Paper received 15 May 2006
Paper accepted 20 July 2006