

멜라토닌이 백서의 임의형 등피판 생존에 미치는 영향

홍승은 · 김양우 · 범진식 · 강소라

이화여자대학교 의과대학 성형외과학교실

The Effect of Melatonin on the Random Flap Survival in the Rat

Seung Eun Hong, M.D., Yang Woo Kim, M.D.,
Jin Sik Burm, M.D., So Ra Kang, M.D.

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Ewha
Womans University School of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: In skin flap surgery, surgeons often encounter distal ischemia of the flap. If a powerful free radical scavenger is used, it may reduce the formation of free radical and improves the survival of flap. Thus, the present study purposed to examine whether the survival of flap can be enhanced by administering melatonin, which is known to be a powerful free radical scavenger a antioxidant molecule.

Methods: We divided 40 Sprague-Dawley rats into 4 groups, 10 in each group. For the control group(n=10), we intraperitoneally injected only carrier solution once 30 minutes before the operation, and once a day for 7 days from the day of operation. Among the experimental groups, a group(n=10) was administered with dimethyl sulfoxide(DMSO), in another group(n=10), melatonin was intraperitoneally injected, and in the other(n=10) melatonin was intraperitoneally injected and applied topically(2 cc of 1% melatonin) to the operation site. Caudally based skin flaps measuring $3 \times 10 \text{ cm}^2$ were elevated on the mid-dorsum of the rats. and then repositioned. On the seventh postoperative day, the survival area of the flap was measured and tissues were examined under the light microscope.

Results: The control group, the DMSO group, the melatonin administration group and the melatonin administration and application group showed the mean survival rates of $55.26 \pm 9.2\%$, $70.29 \pm 7.47\%$, $81.45 \pm 4.14\%$ and $86.1 \pm 1.52\%$, respectively, for 30 cm^2 of flap.

Compared to the control group, the experimental groups showed a significantly high increase in survival area at significance level of 95%.

Conclusion: In this study, the survival rate of flap was enhanced through the administration of melatonin after flap surgery. This suggests that melatonin not only functions as a powerful free radical scavenger and oxygen radical scavenger but also stabilizes and protects cells, and by doing so, enhances the survival of moderately injured ischemic sites in the distal end of flap.

Key Words: Melatonin, Random flap, Flap survival

I. 서 론

피판은 성형외과 재건영역에서 중요한 수술방법으로 창상이나 조직재건 시 매우 유용하게 이용되나, 그 피판의 혈행에 따라 생존할 수 있는 길이가 한정되어 이용에 제한을 받게 된다. 피판의 생존율에 관한 문제는 수술술기와 더불어 재건 성형외과 영역에서 가장 핵심적인 사항으로, 많은 연구에서 피판의 생존을 증가시키려는 노력이 있어왔다. 그 중 약물에 의한 생존 능력 향상에 대한 연구에서 alpha adrenergic blockage, phenothiazines, 혈관 확장제(prostaglandin E1), 항응고제, 유리기 탐식자(deferoxamine, superoxide dismutase(SOD), dimethyl sulfoxide(DMSO), allopurinol, n-acetylcysteine, nitric oxide synthase inhibitor) 등과 같은 약물을 사용한 경우 좋은 결과가 있었다. 그러나 이러한 약물들을 실제 인체에 투여하였을 경우 약물에 의한 부작용이 심하여 과량 투여하거나 장기간 투여하기 어려워 극히 제한적으로 사용되거나 사용되고 있지 않다.¹

멜라토닌(melatonin; N-acetyl-5-methoxytryptamine)은 송과선에서 분비되는 호르몬으로 수면 유도 작용, 노화 방지 작용, 면역 기능 증가 작용, 항산화 작용 등을 한다. 특히 강력한 항산화 작용의 유리기 탐식자(free radical scavenger)로 알려져 유리기(free radical)에 의한 DNA 손상을 강력히 억제하는 물질로 DMSO의 약 500배, mannitol의 15배, glutathione의 5배, vitamin E의 2배 정도의 효과가 있으며 표피세포의 DNA 합성을 항진

Received July 22, 2008

Revised August 26, 2008

Accepted September 8, 2008

Address Correspondence: Yang Woo Kim, M.D., Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Ewha Womans University Mokdong Hospital, 911-1 Mok-dong, Yangcheon-gu, Seoul 158-710, Korea. Tel: (02) 2650-5149 / Fax: (02) 2651-9821 / E-mail: ywkim@ewha.ac.kr

시키는 효과가 있다.² 또한 멜라토닌은 쥐에서 최대 농도인 800 mg/kg을 투여해도 LD50을 측정할 수 없었고 인체에 하루 100 mg씩 1달 이상 투여해도 줄리는 증상 외에 다른 부작용이 발견되지 않았다고 알려져 있을 정도로 기존의 유리기 탐식자와는 달리 생체에 매우 안전한 약물이다.³

최근 멜라토닌이 강력한 항산화 효과를 가지고 있다는 것이 알려지면서, 이를 이용하여 조직의 허혈-재관류 손상을 감소시키고자 하는 많은 실험과 보고가 이루어지고 있다. 멜라토닌이 소장, 신장, 심근, 폐 그리고 골격근의 허혈-재관류로 인한 손상을 효과적으로 감소시키고,⁴ 뇌의 허혈-재관류 손상 시에도 경색 부위를 줄일 수 있다는 보고가 있으나,⁵ 아직까지 임의형피판에 대한 효과는 입증되지 않은 상태이다. 이에 강력한 유리기 탐식자로 알려진 멜라토닌을 투여함으로써 임의형피판의 허혈성 손상을 감소시켜 피판의 생존을 향상시킬 수 있는지 관찰하고, 그에 따른 조직학적 변화를 본 실험을 통해 알아보하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

가. 실험 재료

1) 실험동물

실험동물은 일정기간 동일조건 하에서 사육된 체중 250 - 300g의 백서(Sprague-Dawley rat)를 암수 구별 없이 사용하였다. 실험기간 동안 사료 및 사육조건은 동일하게 유지하였다.

2) 시약

운반체 용액으로 10% 에탄올을 사용하였고, DMSO와 멜라토닌, 순수 에탄올은 Sigma Chemical Co.(St.Louis, USA)로부터 구입하였다. 멜라토닌은 순수 에탄올에 녹인 후(용해도; 8 mg/mL) 생리식염수를 섞어 10% 에탄올로 희석시켜 사용하였다.

나. 실험방법

1) 마취 및 임의형 피판 제작

모든 군은 ketamine hydrochloride(90 mg/kg)과 xylazine(Rompun[®], 10 mg/kg)을 섞어서 복강 내 주사하여 마취하였다. 마취 후 백서의 등 부위 털을 제거하였고 베타딘으로 수술 부위를 소독하였다. 등 정중 부위에 꼬리쪽에 기저를 둔 임의형 피판을 폭 3 cm, 길이 10 cm의 크기로 도안한 후, 피판괴사 후 생존 면적의 측정이 용이하도록 1 cm 간격으로 격자 표지 문신하였다. 피부, 피하조직 및 피부 근층을 포함한 피판을 근막층으로부터 완전히 거상한 후, 다시 원위치 시킨 다음 4-0 nylon을 이용하여 1 cm 간격으로 표지 문신 된 지점을 각 단순 봉합하였다(Fig. 1).

2) 실험군의 분류

총 40 마리의 실험동물을 10마리씩 4군으로 나누어 각 군당 10마리씩 사용하였다. 멜라토닌을 투여하지 않고 운반체 용액(10% ethanol 12.5 mL/kg)만 복강 투여한 군(n=10)을 정상 대조군으로 하였고, DMSO를 복강 투여한 군(n=10), 멜라토닌을 복강 투여한 군(n=10), 멜라토닌을 복강 투여하고 수술 부위에 멜라토닌을 도포한 군(n=10)으로 분류하였다.

3) 약물의 투여

정상 대조군은 10% ethanol을, DMSO군은 1.5 gm/kg의 DMSO와 10% ethanol을, 멜라토닌 투여군과 멜라토닌 투여 및 국소 도포군은 10 mg/kg의 멜라토닌을 각각 수술 30분 전에 한차례, 그리고 수술 당일부터 수술 후 7일간 하루에 한차례씩 복강 주사하였다. 국소도포를 추가적으로 시행한 군에서는 수술 후 봉합 부위에 7일간 국소적으로 1% 멜라토닌을 하루에 한차례 2 cc씩 도포하였다.

4) 피판의 생존 면적 측정

수술 후 7일째 실험동물(Fig. 2)을 CO₂가스를 이용하

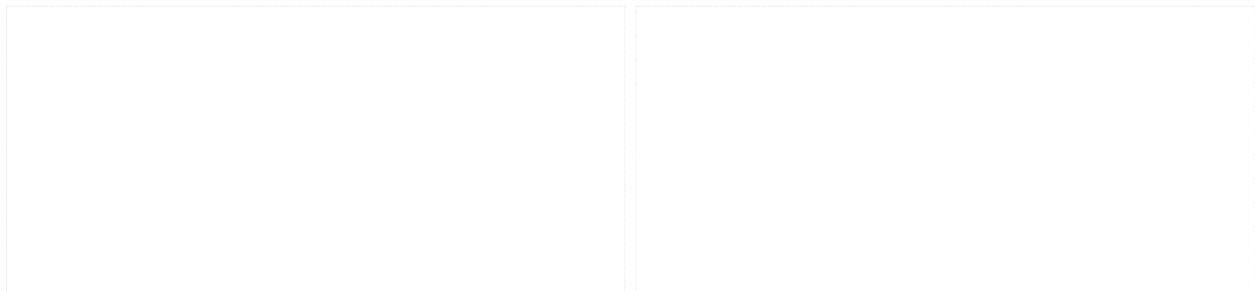


Fig. 1. (Left) The caudally based random pattern skin flap(3 × 10 cm) was elevated on the dorsum of rat and (Right) sutured to its original position.

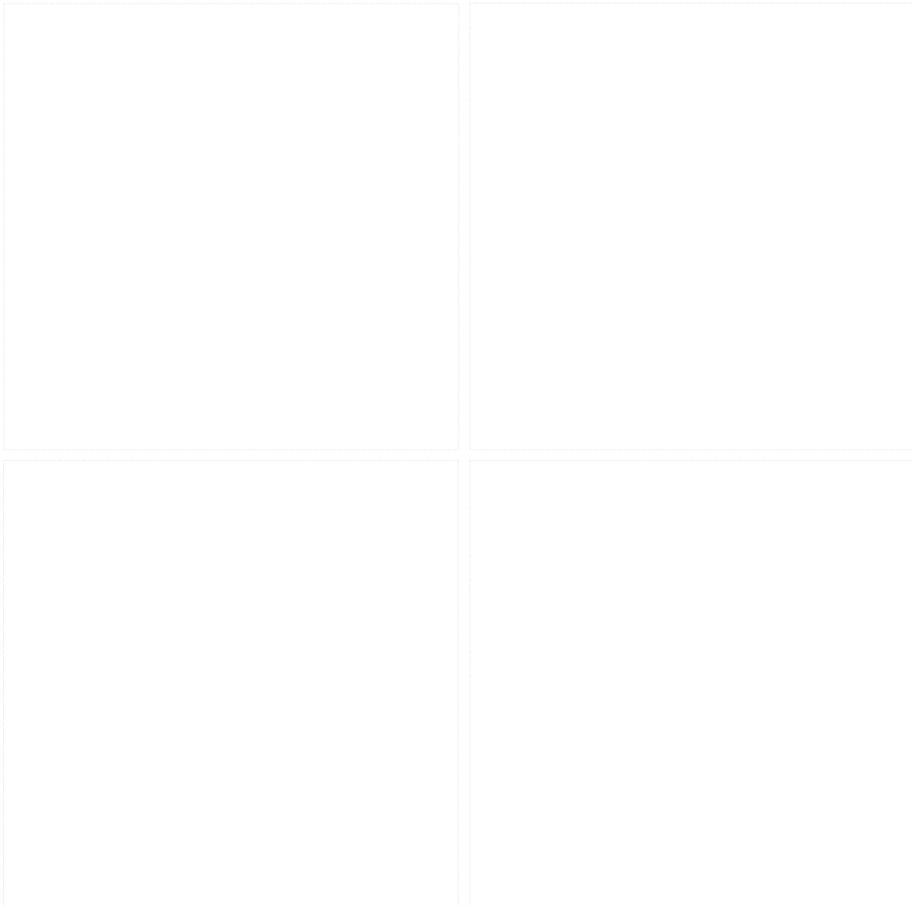


Fig. 2. The gross observation of the ischemic flaps on the 7th postoperative day. (Above, left) Control group, (Above, right) DMSO group, (Below, left) Melatonin group, (Below, right) Melatonin group (intraperitoneal plus topical).

여 안락사 시킨 다음, 피관 생존 면적을 측정하였다. 부드럽고, 혈색이 돌며 촉진 시 따뜻하고, 털이 다시 자라는 부위를 생존 부위로 평가하였고, 검게 변색되어 가고 있거나 딱딱해진 부위, 또는 가피가 형성된 부위를 괴사 지역으로 판정하였다. 투명한 그래프용지를 이용하여 생존 면적을 측정하였고(paper template method), 전체 피관 면적에 대한 생존 면적의 백분율을 구하였다(생존율(%)=생존면적 / 전체면적 × 100).

5) 조직학적 검사

피관의 괴사 부위의 조직학적 소견 비교를 위해, 수술 후 7일째 피관의 원위부 괴사 부위에서 정상 조직 포함하여 1×2 cm 크기의 진피 하층을 포함한 조직을 채취하였다. 또한 상처치유 상태를 확인하기 위해서, 괴사되지 않은 피관의 근위부 부위와 정상 부위의 봉합 부위도 채취하였다. 검체의 변형을 방지하기 위해 마분지에 검체를 고정한 다음 24시간 동안 10% 포르말린 용액을 이용하여 고정하였다. 파라핀 조직절편을 제작한 후 Hematoxylin-Eosin 염색을 시행하고 각 군 간의 조직학적 차이를 광학현미경 하에서 비교 관찰하였다.

6) 통계분석

분석하고자 하는 변수의 표본수가 적어(n=10) 이론적인 분포를 가정할 수 없기 때문에 비모수 검정법을 이용한 통계 분석을 시행하였다. Kruskal-Wallis 검정을 이용하여 정상 대조군과 각 실험군들의 결과치가 유의한 차이를 보이는지 확인하였고, 각 실험군들 간의 결과 비교를 위해서는 Mann-Whitney 검정을 시행하였다(p < 0.05). 모든 결과는 평균 ± 표준편차로 표시하였다.

III. 결 과

가. 육안관찰(Gross observation)

수술 후 매일 육안관찰을 시행하였다. 수술 후 첫날에는 모든 그룹에서 명백한 변화를 관찰할 수 없었고, 수술 후 3일째부터 피관의 원위부에서 피부박탈(epidermolysis) 소견이 나타나기 시작했다. 수술 후 4일째 피부박탈 현상이 피관의 근위부 쪽으로 진행되어 가고 있는 소견을 확인할 수 있었다. 수술 후 5일째 피부피관의 원위부 괴사부와 근위부 생존부의 경계가 조금 더 근위부로 이동되었고, 괴사부는 회색빛을 띠기 시작하며 뚜렷

하게 나타나기 시작했다. 수술 후 6일째 피사가 진행되면서 피사부의 검은색이 짙어지며 딱딱해지는 것이 관찰되었다.

나. 피관의 생존 면적

정상 대조군, DMSO 투여군, 멜라토닌 투여군, 멜라토닌 투여 및 국소 도포군에서는 각각 피관 면적 30 cm² 중 평균 13.42 ± 2.77 cm², 8.91 ± 2.24 cm², 5.59 ± 1.21 cm², 4.14 ± 1.43 cm²가 피사되었다. 또한 생존율은 각각 평균 55.26 ± 9.2%, 70.29 ± 7.47%, 81.45 ± 4.14%, 86.1 ±

1.52%으로 측정되었다(Table I). 각 실험군의 생존면적은 정상 대조군에 비해 현저히 증가하였다(*p* < 0.05). 또한 멜라토닌 투여군과 멜라토닌 투여 및 국소 도포군을 각각 정상 대조군과 DMSO 투여군의 생존율을 비교한 경우 유의한 수준에서 생존율을 차이를 보였다. 하지만 멜라토닌 투여군과 멜라토닌 투여 및 국소 도포군 간의 생존률은 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

다. 조직학적 소견

피사되지 않은 피관 부위와 정상 피부의 봉합 부위에

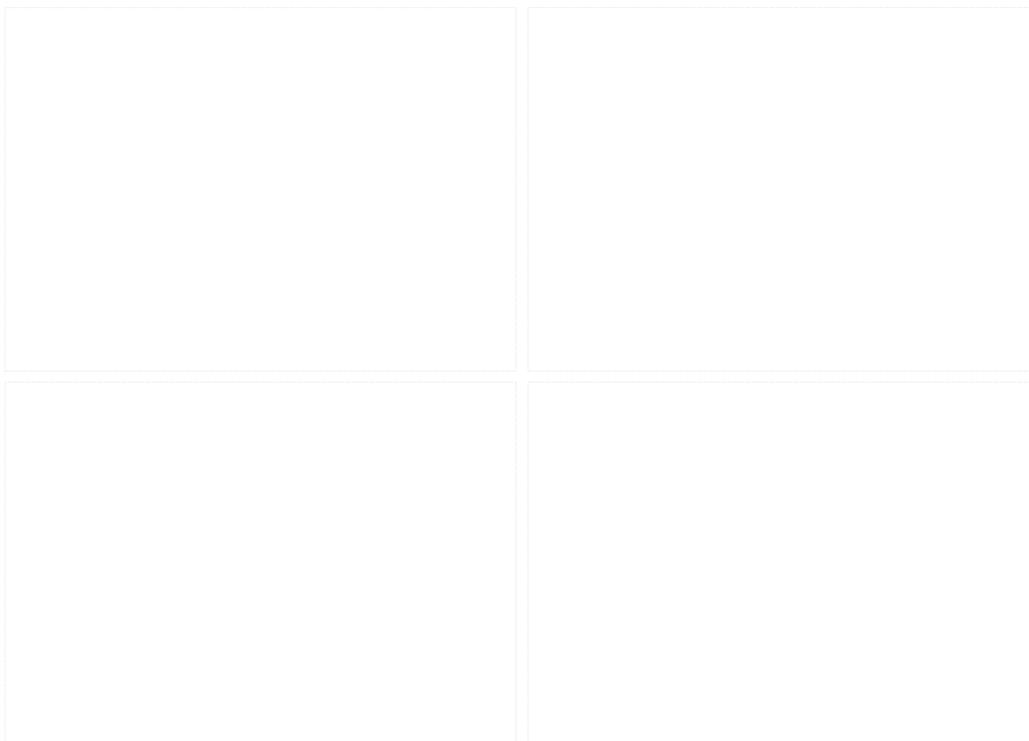


Fig. 3. Light microscopic findings of an interface between normal skin and the proximal flap margin(arrow) on the 7th postoperative day. (Above, left) Control group; Significant fibroblast proliferation compared to melatonin group. (Above, right) DMSO group; The number of fibroblast is decreased. Collagen density is slightly decreased. (Below, left) Melatonin group; The number of inflammatory cells are decreased. (Below, right) Melatonin group(intraperitoneal plus topical); The number of inflammatory cells and fibroblasts, and the density of collagen fibers are lower than the control and DMSO group (Hematoxylin and eosin stain, × 40).

Table I. Necrotic Areas and Survival Rates in Each Group of the 7th Postoperative Day

Group	n	Necrotic areas(cm ²)	Survival rates(% of total area)
		Mean ± SD [†]	
Control (IP*)	10	13.42 ± 2.77	55.26 ± 9.25
DMSO (IP)	10	8.91 ± 2.24	70.29 ± 7.47
Melatonin (IP)	10	5.59 ± 1.21	81.45 ± 4.14
Melatonin (IP plus topical)	10	4.14 ± 1.43	86.10 ± 4.82

*IP, intraperitoneal; [†]SD, standard deviation.

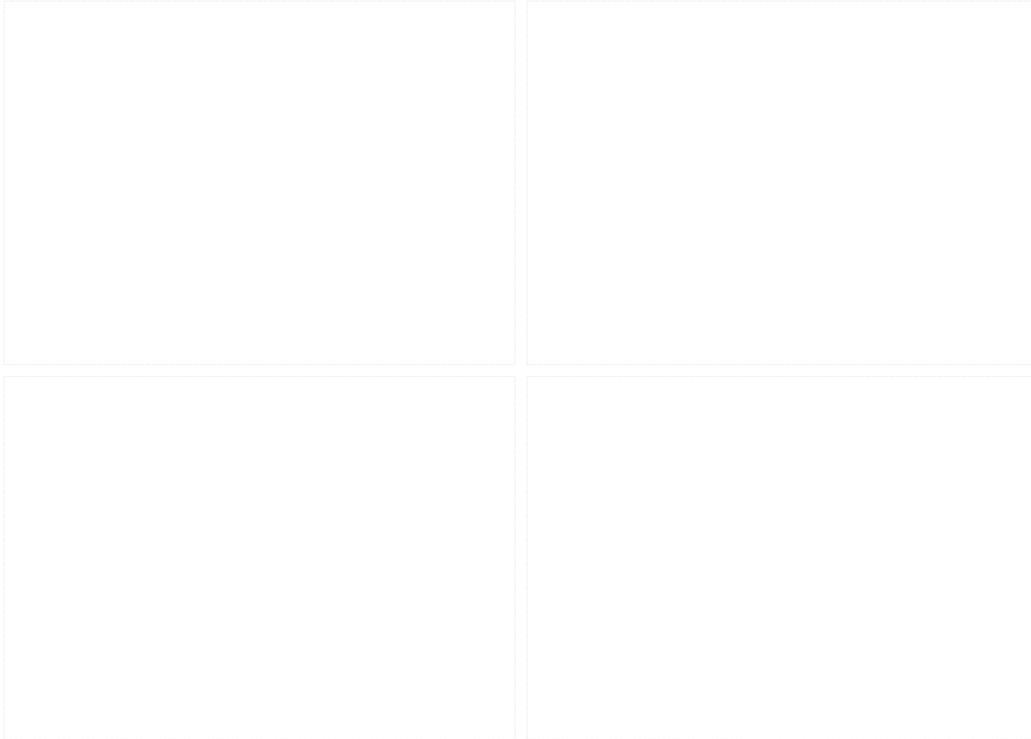


Fig. 4. Microscopic findings of the damaged distal end of the flap on the 7th postoperative day. (Above, left) Control group; Advanced tissue necrosis is evident. (Above, right) DMSO group(Below, left) Melatonin group(Below, right) Melatonin group(intraperitoneal plus topical); The number of inflammatory cell is decreased(Hematoxylin and eosin stain, × 40).

서 상처치유 상태를 확인한 결과, 정상 대조군의 경우 섬유모세포의 침윤과 콜라겐 침착 범위가 모든 실험군 중에서 가장 넓게 형성되어 있었으며, DMSO군, 멜라토닌 투여군, 멜라토닌 투여 및 국소 도포군 순으로 그 면적이 감소하였다(Fig. 3). 또한 피사 부위의 조직 소견을 관찰한 결과, 정상 대조군의 경우 피부의 전층 피사와 함께 피부 근막층의 변성(degeneration)이 관찰되었으며, 정상 피부에서는 관찰할 수 없었던 다핵구, 호중구 같은 급성 염증세포의 광범위한 침윤이 확인되었다(Fig. 4, above, left). DMSO 투여군의 경우 부분적으로 근섬유의 소실과 국소적 염증세포 침윤이 확인되었지만, 일부에선 신생 모세혈관이 관찰되었다(Fig. 4, Above, right). 멜라토닌 복강 투여군과 복강 투여 및 국소 도포군에서는 염증세포의 분포가 경미하였으며(Fig. 4, Below, left and right), 신생 모세혈관이 더욱 증가되어 있었다.

IV. 고 찰

임의형 피관 수술을 시행하는 경우 공급 혈관의 물리적 특징인 혈관 내 저항과 관류 압력(perfusion pressure)에 따라 생존 면적이 결정되게 된다. 진피하 혈관총

(subdermal plexus)에서 관류 압력이 세동맥의 폐쇄 압력보다 낮아지는 경우, 원위부 지역으로의 혈류가 부족하게 되어 원위부 조직은 허혈 상태가 된다. 허혈 상태가 되면 세포내 산소 분압이 떨어지게 되어 호기성 호흡을 하는 미토콘드리아에서는 미토콘드리아 호흡 사슬을 통한 산화적 인산화가 감소되고 반응성 산소기가 과도 생산되며, 산소는 빠른 속도로 고갈되게 된다. 결국 혐기성 대사로 전환되고, 독성 과산화기(toxic superoxide radicals)의 생산은 뚜렷하게 증가된다. 독성 산소기로 인한 세포막 성분의 지질 과산화(lipid peroxidation)와 hyaluronic acid 분해로 인해 혈관 기저막과 내피세포는 손상되고 혈관의 투과도는 증가되어 미세 순환계통이 무너지게 된다. 뿐만 아니라 산소 대사물질은 화학주성(chemotactic) 성질을 가지고 있어 중성구 등의 염증세포를 이동시켜, 결과적으로 조직을 파괴시킨다.

피관의 허혈 원위부에서 발생하는 자유기는 짝이 맞지 않는 전자를 함유하는 분자로 개방성 결합(open bond) 또는 절반의 결합(half bond)을 가지고 있기 때문에 화학적으로 반응성을 띄게 된다. 따라서 이러한 자유기들이 단백질, 핵산, 막의 지질, DNA 등과 반응하게 되고, 결과적으로 비가역적 손상을 일으키며 직접적인 세

포 독성 효과를 발생시킨다.⁶ 뿐만 아니라, 유산소 대사 시 발생하는 활성 산소를 중화시키는 역할을 하던 SOD, catalase와 같은 항산화 효소들이 피관의 허혈성 원위부에서 과산화기를 산소로 전환 시키는 역할을 하게 되면서 급격히 소모되고, 결국 세포는 점차 독성 물질로부터 보호받지 못하게 되어 반응성 산소기에 의한 세포의 손상이 증가하게 된다. 공격받은 세포에서는 결과적으로 세포의 이온 농도차가 발생하게 되어, 세포질로의 칼슘 유입이 증가되고 ATP, ATPase의 감소로 인한 나트륨 펌프의 기능 장애로 세포종창이 발생하게 된다. 결국 에너지 고갈과 독성 대사물의 축적으로 세포는 죽게되며, 조직은 괴사된다.

원위부 피관괴사의 주된 원인은 부족한 동맥혈의 공급 때문이지만, 혈행이 유지되는 피관의 근위부와 관류가 부족해서 허혈이 발생한 피관의 원위부 경계부(transition zone)에서는 허혈 후 재관류로 인한 조직손상이 발생하게 된다. 재관류가 되면 과산화기(superoxide anion)가 급속도로 생성되고, 이는 다른 산소기의 형성을 유도하고 직접적인 세포손상을 일으킨다. 또한 재관류 시 arachidonic acid 부산물로 인한 조직의 손상이 일어나고, leukotriene B₄가 생성되어 과산화 음이온 발생과 중성구의 탈과립(degranulation)을 유도한다. 또한 미토콘드리아에서의 반응성 산소기의 생산이 증가된다. 이처럼 산소 유래 자유기와 중성구가 재관류 시 조직손상의 중요한 역할을 하게 된다.

멜라토닌은 송과선(pineal gland)의 주요 생산물로, 기분, 수면, 망막 생리, 성적 활동, 계절별 재생산 생리와 행동, 24시간 생체 리듬 그리고 면역 기능의 중요한 생리학적 조절인자(biological modulator)로 알려져 있다. 뿐만 아니라 노화, 나이 관련 변화 그리고 병적 상태에도 멜라토닌이 영향을 미친다는 실험적 근거들이 있다.² 이는 멜라토닌이 효과적인 자유기 탐식자의 작용을 하는 항산화 물질임을 알려준다.

멜라토닌과 그 대사물들은 직접적인 자유기 탐식자의 기능과, 대사 또는 효소 조절 작용을 한다. 첫 번째, 멜라토닌은 허혈 그리고 재관류기 모두에서 발생한 자유기를 중화시키는 기능을 한다. 즉 수산화(OH[•]), 단관체 산소(singlet oxygen), 초산기(peroxyl radical), 과산화 음이온(superoxide anion) 등의 호전자성(electrophilic) 물질에게 전자를 공여함으로써 독성 자유기를 제거하게 되므로,⁷ 반응성 산소기의 형성이 억제되고, 자유기가 세포 파괴 활동을 시작하기 전에 탄수화물 지방 단백질, DNA와 같은 고분자를 보호⁸할 수 있게 된다. 두 번째, 멜라토닌은 항산화 효소계(SOD, glutathione peroxidase, glutathione reductase)의 활성을 증가시키고,⁹ Mn-SOD 등의

항산화 효소의 유전자 발현을 증가시킨다. 과산화기 탐식 효소인 SOD를 투여함으로써 허혈성 손상을 입은 백서의 등피관 생존율을 의미 있게 증가시켰다는 보고처럼¹⁰ 항산화 효소계의 증가는 자유기의 생성을 강하게 억제시킨다. 특히 SOD는 과산화 음이온의 중성구를 이동시키는 화학주성 효과를 억제 한다. 세 번째, 멜라토닌은 항세포자멸 물질(antiapoptotic agent)로서 작용을 한다. UV로 인한 세포의 손상을 의미 있게 감소시켰다는 보고를 통해 이를 확인할 수 있으며,¹¹ 대뇌 허혈 모델을 이용한 실험에서도 멜라토닌이 apoptotic DNA fragmentation을 억제하여 허혈성 손상을 감소 시켰다는 보고가 있다.¹² 네 번째, 멜라토닌은 항유전자독성(antigenotoxic) 그리고 항돌연변이(antimutagenic) 기능을 가진다. 암 유발 인자 투여로 인한 암의 진행과 DNA의 손상을 멜라토닌 투여로 억제할 수 있다.¹¹ 다섯 번째, 멜라토닌은 미토콘드리아로부터 세포질로의 calcium 유리를 직접 억제하여 미토콘드리아 막의 전위차를 유지시키고, 지질 과산화를 억제하여 미토콘드리아를 안정화 시킨다. 지질 과산화는 산소 자유기 공격의 주된 메커니즘으로 oxidative stress와 반응성 산소기 발생의 표지자이다. 또한 산화적 인산화의 효율을 증가시켜 미토콘드리아의 전자 전달 사슬로부터 전자의 누출을 감소시켜 자유기 생성을 감소시킨다. 즉 세포의 에너지 요구량을 줄여 허혈 그리고 재관류기 모두에서 미토콘드리아의 기능을 유지시켜주고 독성 물질의 생성을 감소시키며, 염증 유발 물질의 생성을 억제한다. 마지막으로 멜라토닌은 염증의 병인에서 중요한 역할을 하는 arachidonic acid 대사물의 작용과 prostaglandin의 합성을 억제시키고, 전사 인자(transcription factor) NF- κ B의 활성 억제를 통해 nitric oxide의 생산을 억제한다. 뿐만 아니라 중성구의 침윤을 억제하며 혈소판 응집과 섬유모세포의 증식과 또한 억제 하는 것으로 알려져 있다.¹³ 멜라토닌은 강한 지용성이기 때문에 외부에서 투여를 하는 경우에도 쉽게 세포 안 구역으로 확산되어 항산화 물질로서 작용 할 수 있다.¹⁴

실험결과를 통해 멜라토닌을 복강 투여한 경우 피관의 생존율이 대조군과 DMSO에 비해서 유의하게 증가한 것을 확인할 수 있었다. 또한 조직 검사 상 멜라토닌을 투여한 군의 피관 원위부 괴사 부위에서 다른 실험군에 비해 가장 경미한 조직괴사와 염증세포의 침윤이 관찰 되었다. 이는 멜라토닌이 유리기 탐식자와 항산화제 기능으로 직접 독성 물질 매개 손상을 최소화 할 뿐만 아니라, 중성구 등 백혈구의 침윤과 활성화를 억제하여 화학 유인 물질 분비를 감소시키고, 반응성 산소기의 생성 억제하여 간접적으로도 허혈성 손상으로부터 조직을

보호해 주고 있음을 보여 준다. 뿐만 아니라 허혈 시 가장 먼저 영향을 받는 세포 미토콘드리아의 산화적 인산화 효율을 증가시켜 세포의 에너지 요구량을 감소시키며, 반응성 산소기의 생성을 억제하는 등의 세포를 안정화시키는 역할을 함으로써 세포가 허혈성 환경에 비교적 강하게 저항할 수 있게 해주는 것으로 생각된다. 앞으로 치료적 의미가 있는 멜라토닌 농도 조건에 관한 연구가 뒷받침 된다면, 멜라토닌의 임상적 적용에 관한 근거를 마련할 수 있을 것이다.

추가적으로 멜라토닌을 수술 부위에 국소적으로 도포했던 군과 멜라토닌을 복강으로만 투여하였던 군에서는 통계학적으로 유의한 피관 생존률의 차이를 보이지는 않았다. 하지만 평균 4.65%의 생존율이 증가하였고, 조직학적 소견 또한 멜라토닌 투여군 보다는 추가적으로 멜라토닌을 국소 도포한 군에서 조직의 괴사와 염증반응 정도가 경미하였기 때문에, 멜라토닌의 국소 도포가 의미를 가질 수 있을 것으로 생각된다. 또한 이미 멜라토닌의 국소 도포의 효용성에 대한 보고가 있고,¹⁵ 피부의 병적 상태 진행에 산소 유래 자유기가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있기 때문에 멜라토닌 국소 도포의 방법이나 그 효용성에 대한 추가적인 연구가 더욱 필요할 것이라고 생각한다.

또한 피관의 생존 부위와 정상 피부의 봉합 부위의 조직 검사 결과, 대조군과 DMSO 군에 비해 멜라토닌 투여군에서 섬유모세포 및 콜라겐 기질의 분포가 경미하였다. 이것은 멜라토닌이 혈소판의 응집과 분비, prostaglandin의 합성 억제, 섬유모세포의 증식 억제 기능 등을 통해 상처치유 부위에서의 신생 조직인 섬유모세포, 콜라겐 기질의 형성을 억제하는 것으로 생각된다. 이는 멜라토닌이 상처치료 및 흉터 치료에도 사용될 수 있음을 시사한다.

결과 비교를 위해 사용하였던 DMSO는 히스타민 분비를 통해 혈관을 이완시키며, prostaglandin E₁의 증가와 prostaglandin F_{2α}의 억제를 통하여 혈소판 응집을 감소시킨다. 즉 진피하 동맥층에서 혈관 확장작용과 혈소판 응집 억제 기능 그리고 자유기 탐식자의 기능을 통해 피관을 허혈성 손상으로부터 보호한다. DMSO는 투여하는 대부분의 경우 안정하고 특별한 부작용이 없어 우수한 항산화 물질로 알려져 있지만, 드물게 고농도로 정맥 투여한 경우 용혈 현상(hemolysis)이 발생할 수 있으며 안과적 독성의 가능성이 있다는 단점이 있다고 알려져 있다.

효과적인 항산화제 물질은 독성이 없으며, 형태생리학적 장벽을 쉽게 통과하여 세포 안 구조로 침투할 수 있어야 할 것이다. 따라서 지용성 물질로 안전하며, 경구

투여 시 뛰어난 흡수율과 생체 이용률을 보이는 멜라토닌을 피관 작성 직전부터 투여함으로써 고농도의 멜라토닌이 피관에 함유되어 있게 된다면, 피관 생존을 향상에 크게 기여할 수 있으리라고 생각한다.

V. 결 론

임의형 피관은 재건 또는 상처 회복을 위해 널리 사용되는 유용한 방법이지만, 사용 가능한 피관 길이에 한계가 있어 피관의 생존율을 높일 수 있는 방법의 개발이 요구된다. 피관 원위부 허혈로 인한 조직 손상을 줄이기 위해서는, 허혈 조직 내의 독성 대사물을 제거하는 것이 하나의 방법이 될 수 있을 것이다.

최근 항산화제로 널리 소개되고 있는 멜라토닌이 백서의 임의형 피관의 생존을 증가시킬 수 있는지 알아보 고자 3 × 10 cm 크기의 피관을 백서의 등 부위에서 거상한 후 멜라토닌을 수술 30분 전 한 차례와 수술 후 7일간의 차례씩 복강 투여하였다. 결과비교를 위해 운반제 용액(10% ethanol)과 DMSO를 사용하여 같은 방법으로 실험하였다. 또한 멜라토닌의 국소 도포 효용성 연구를 위해 복강 주사와 함께 국소 도포를 시행한 군에서는 수술 후 봉합 부위에 7일간 1% 멜라토닌 용액을 하루에 한 차례 2 cc 씩 도포하였다. 수술 후 7일째 피관의 생존 면적 및 조직 소견을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

정상 대조군, DMSO군, 멜라토닌 군, 멜라토닌 투여 및 국소 도포군은 각각 피관 면적 30 cm² 중 평균 55.26 ± 9.2%, 70.29 ± 7.47%, 81.45 ± 4.14%, 86.1 ± 1.52%의 생존율을 보였다. 정상 대조군에 비해 각 실험군의 생존면적은 95% 유의수준에서 현저히 증가하였다. 하지만 멜라토닌 복강 투여군과 멜라토닌 복강 투여 및 국소 도포군 간의 생존률은 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

본 실험에서 백서의 등 부위에 피관술을 시행한 후 멜라토닌을 투여하여 피관의 생존율을 증가시킬 수 있었다. 조직학적 검사에서도 멜라토닌을 투여한 군의 피관 원위부 괴사 지역에서는 조직의 괴사와 염증세포의 침윤 정도가 가장 적었으며, 일부에서 모세혈관의 재혈관화 및 신생 교원질의 침착 소견이 관찰되었다. 뿐만 아니라 피관의 생존 부위와 정상 피부의 봉합 부위를 조직 검사한 결과 멜라토닌을 투여한 군에서 섬유모세포 및 교원질의 침착이 가장 적게 나타났다.

이는 멜라토닌이 강력한 유리기 탐식자, 산소기 탐식자의 기능뿐만 아니라 세포를 안정화시키고 보호하는 기능을 통해 피관 원위부의 허혈 상태에 있는 중등도 손상 부위의 생존을 향상시킬 수 있음을 시사한다. 또한

멜라토닌은 독성이 없으며, 형태생리학적 장벽을 쉽게 통과하여 세포 안 구조로 침투할 수 있기 때문에, 기존의 약물에 비해 피관의 허혈 손상을 최소화 하는데 효과가 있을 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Hijjawi J, Mogford JE, Chandler LA, Cross KJ, Said H, Sosnowski BA, Mustoe TA: Platelet-derived growth factor B, but not fibroblast growth factor 2, plasmid DNA improves survival of ischemic myocutaneous flaps. *Arch Surg* 139: 142, 2004
- Beyer CE, Steketee JD, Saphier D: Antioxidant properties of melatonin - an emerging mystery. *Biochem Pharmacol* 56: 1265, 1998
- Nordlund JJ, Lerner AB: The effects of oral melatonin on skin color and on the release of pituitary hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 45: 768, 1977
- Park HJ, Burm JS: The effect of melatonin on morphological changes of rat skeletal muscle after ischemia-reperfusion injury. *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* 33: 31, 2006
- Reiter RJ, Tan DX, Leon J, Kilic U, Kilic E: When melatonin gets on your nerves: its beneficial actions in experimental models of stroke. *Exp Biol Med* 230: 104, 2005
- Walker PM: Pathophysiology of acute arterial occlusion. *Can J Surg* 29: 340, 1986
- Poeggeler B, Saarela S, Reiter RJ, Tan DX, Chen LD, Manchester LC, Barlow-Walden LR: Melatonin-a highly potent endogenous radical scavenger and electron donor: new aspects of the oxidation chemistry of this indole accessed *in vitro*. *Ann N Y Acad Sci* 738: 419, 1994
- Tan DX, Poeggeler B, Reiter RJ, Chen LD, Chen S, Manchester LC, Barlow-Walden LR: The pineal hormone melatonin inhibits DNA-adduct formation induced by the chemical carcinogen safrole *in vivo*. *Cancer Lett* 70: 65, 1993
- Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS: Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res* 29: 363, 1997
- Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, Bulkely GB, Hoopes JE: The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 198: 87, 1983
- Fischer TW, Scholz G, Knoll B, Hipler UC, Elsner P: Melatonin suppresses reactive oxygen species in UV-irradiated leukocytes more than vitamin C and trolox. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 15: 367, 2002
- Andrabi SA, Sayeed I, Siemen D, Wolf G, Horn TF: Direct inhibition of the mitochondrial permeability transition pore: a possible mechanism responsible for anti-apoptotic effects of melatonin. *FASEB J* 18: 869, 2004
- Carossino AM, Lombardi A, Matucci-Cerenic M, Pignone A, Cagnoni M: Effect of melatonin on normal and sclerodermic skin fibroblast proliferation. *Clin Exp Rheumatol* 14: 493, 1996
- Reiter RJ, Tan DX, Poeggeler B, Menendez-Pelaez A, Chen LD, Saarela S: Melatonin as a free radical scavenger: implications for aging and age-related disease. *Ann N Y Acad Sci* 719: 1, 1994
- Bangha EP, Elsner P, Kistler GS: Suppression of UV-induced erythema by topical treatment with melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine). A dose response study. *Arch Dermatol Res* 288: 522, 1996