

미세혈관문합시 헤파린의 국소 및 전신 투여가 혈전 형성에 미치는 영향

김성열 · 류승희 · 박홍주 · 오희균 · 유선열 · 김옥준*

전남대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, 구강병리학교실*, 치의학연구소

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2003;29:232-238)

EFFECTS OF TOPICAL AND INTRAVENOUS HEPARIN ON THROMBOSIS OF MICROVASCULAR ANASTOMOSES

Sung-Youl Kim, Seong-Hee Ryu, Hong-Ju Park, Hee-Kyun Oh, Sun-Youl Ryu, Ok-Joon Kim*

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Department of Oral Pathology*,
College of Dentistry, Dental Science Research Institute
Chonnam National University

This study was performed to evaluate the effect of topical and intravenous heparin on thrombosis and patency in the microvascular anastomosis of the traumatized veins. Nine white rabbits weighing about 2 kg were used. After exposure of both femoral veins, the veins were crushed by the jaws of smooth needle holder in order to create a thrombosis model. Transectional incision was made in the vein. The animals were then divided into 3 groups based on the administration method of heparin: 1) Experimental Group I, topical irrigation of lumen with heparin saline solution (n=6); 2) Experimental Group 2, topical irrigation of lumen with heparin saline solution and intravenous injection of heparin (0.75 mg/kg) via the marginal ear vein for 3 days; 3) Control Group, topical irrigation of lumen with saline solution (n=6).

The patency was evaluated with empty-and-refill test and thrombus formation was judged by surgical microscope. The results were as follows:

1. Thirty minutes after microvascular anastomosis, the patency of all Experimental Groups was better than Control group. However, there was no significant difference among groups.
2. Three days after anastomosis, the patency of all Experimental Groups was much more improved than that of Control Group (P<0.05). There was no significant difference between Experimental Group 1 and 2.
3. Three days after anastomosis, the amount of thrombus in all Experimental Groups was much less than that of Control Group (P<0.05).
4. In histologic findings a lot of luminal thrombus were observed around sutured area in Control Groups. Few luminal thrombus was observed in all Experimental Groups. Mild necrosis in the vessel wall was observed around sutured area in all specimens.

These results indicate that topical irrigation of heparin may improve the patency and inhibit the formation thrombus in the microvascular anastomosis of the traumatized veins.

Key words : Heparin, Patency, Thrombosis

I. 서 론

미세혈관 수술의 발달로 인해 결손된 악안면 조직의 재건술에

큰 진보를 가져오게 되었다. 미세혈관 수술은 미세수술기구와 각종 약물들이 개발되고 수술수기의 비약적 발전으로 임상에서 많이 시행되고 있다¹⁾. 미세혈관문합은 혈관경축, 혈전형성, 혈류 속도 감소 및 혈관 폐쇄 등으로 인해 실패 할 수 있으며²⁾ 이들 요인들 중에서 혈전증이 가장 주된 실패 원인이다³⁾.

혈전 형성 기전을 보면, 혈관 내의 내피가 손상되면서 교원질이 노출되고 여기에 혈소판이 부착되어 혈전작용이 시작되고⁴⁾ 혈소판의 중요한 생화학적 및 형태학적 변화들이 진행된다⁵⁾. 혈소판 내에서 ADP(adenosine diphosphate), serotonin 등의 인자가 유출되어 혈소판의 응집을 유도한다. 또한 교원질, 트롬빈

오희균

501-757, 광주광역시 동구 학동 5번지
전남대학교 치과대학 구강악안면외과

Hee-Kyun Oh

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Chonnam National Univ.
5 Hak-Dong, Dong-Ku, Gwangju, 501-757, Korea
Tel. 82-62-220-5439 Fax. 82-62-228-8712

E-mail : hkoh@chonnam.ac.kr

(thrombin), 세로토닌, ADP, 에피네프린(epinephrine) 등은 섬유소 원과 mucopolysaccharides 등과 반응하여 혈소판 응괴(platelet plug)를 만들어 혈전이 형성된다⁶⁾. 내피가 손상되면 혈소판들에 의해 강력한 혈관수축제와 혈소판 응집원인 트롬복산(thromboxane)을 생산하여 혈전증을 초래하게 된다⁷⁾.

미세혈관문합술 후 동맥에 비해 정맥에서 혈전증으로 인해 실패하는 경우가 많다⁸⁾. 정맥은 외상에 손상받기 쉬운 예민한 구조를 가지고 있어 미세혈관문합술시 가해지는 손상에 의해 조직부종이 발생되기 쉬우며 동맥에 비해 혈관벽이 얇고 혈관 내압이 낮아 혈전증이 발생하기 쉽다⁹⁾. 정맥 혈전은 압좌상에 의한 정맥 내막의 손상 이외에도 문합 정맥의 과도한 긴장, 외부 압력에 의한 혈류차단 및 문합기술의 실수 등으로 발생할 수 있다¹⁰⁾.

미세혈관문합시 정맥 손상이 심한 경우에서 혈전증으로 인한 실패를 예방하기 위하여 손상된 정맥을 절단 제거하고 자가정맥 이식 등을 시행할 수 있으나 이런 경우 부가적인 혈관문합이 필요하여 혈전증의 발생 위험은 더욱 증가한다⁹⁾. 혈전예방과 미세혈관 문합술의 실패율을 감소시키기 위해 혈관 이식술 대신에 다양한 항혈전제, 항혈소판제(antiplatelet agent) 및 혈관확장제들이 사용되고 있으나 대부분의 약제들은 전신적인 출혈 등 합병증을 유발할 수 있으므로 임상적 유용성에 대해서는 논란이 되고 있다^{8,11)}.

혈전 예방을 위해 비교적 널리 쓰이는 약제는 항혈전제인 헤파린이다¹²⁻¹⁴⁾. 헤파린은 분자량이 5,000-30,000으로¹⁵⁾ 트롬빈의 활성을 억제함으로써 항트롬빈의 작용을 촉진시키는 사당류(tetrasaccharide) 서열을 갖는 mucopolysaccharide이다¹⁾. 헤파린은 antithrombin III(ATIII)와 결합하여 이 결합체가 트롬빈(IIa) 및 응고인자 XIIa, XIa, IXa와 Xa 등의 효소를 억제하며 트롬빈의 억제로 인해 트롬빈에 의해 활성화되는 V 및 VIII 인자가 억제되어 항응고 효과를 나타낸다^{16,17)}. 헤파린은 혈액의 점도를 낮추고 혈관내피세포에 부착함으로써 음전하를 강화하여 혈소판의 부착력을 감소시키고 또한 섬유소원이 섬유소로 전환되는 것을 방해한다^{12,14)}. 혈관 내피면에 부착된 헤파린은 서서히 방출된다¹⁸⁾.

미세혈관문합시 혈전예방을 위해 헤파린을 이용하는 경우에 헤파린의 투여 방법은 크게 국소적 세척법, 정맥주사를 통한 전신적 투여 및 catheter를 통한 국소 적용법등이 사용되고 있다. 전신투여법은 투여량이 많을수록 항혈전 효과는 크지만 출혈 위험이 높다는 문제가 있다. 카테터를 통한 헤파린 국소 적용이 헤파린의 효과를 높이고 합병증을 최소화 할 수 있는 방법이라고 보고하고 있으나^{15,19)} 이 방법은 catheter를 제거하기 위한 이차적인 수술이 필요하다는 단점이 있다⁹⁾. 이들 문제점들을 해소시킬 수 있는 방법으로 헤파린을 혈관문합부의 혈관내에 세척하는 방법이 추천되고 있으나^{3,8,13)} 다른 학자들^{2,20)}은 국소적 세척법의 유용성에 대해 의문을 제기하고 혈관 내막 손상 위험 등의 단점에 대해 보고하고 있다. 지금까지 미세혈관문합술에서 혈전을 예방하는 헤파린에 대한 많은 연구들이 진행되고 있으나 투여방법에 따른 임상적 효과에 대해서 많은 연구가 필요하다. 본 연구는 헤파린의 투여 방법에 따른 혈전 예방 효과를 평가하기 위하여 손상받은 정맥에서 미세혈관문합시 헤파린을 국소 세척 및 전신

투여한 후 혈관의 개존과 혈전 형성에 미치는 영향을 검사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물로는 체중 2.0 kg 내외의 건강한 잡종 가토 9마리를 선택하여, 약 2주 동안 동일한 조건에서 사육하였다. 미세혈관수술에는 수술현미경(Karl Kaps., Germany), 미세수술기구 및 10-0 Ethilon®(Ethicon Ltd. U.K.) 문합사를 사용하였다.

2. 실험방법

본 연구에서 미세혈관문합시 헤파린 투여방법에 따라 실험동물을 3군으로 분류하였다. 즉, 미세혈관문합술시 절단된 정맥강 내에 멸균된 생리식염수로 국소 세척한 것을 대조군(n=6), 헤파린(100 U/ml)으로 국소 세척한 것을 실험 1군(n=6), 헤파린으로 국소 세척하고 문합 후 3일 동안 정맥내 주사를 시행한 것을 실험 2군(n=6)으로 분류하였다.

전신마취를 유도하기 위해 5 mg/kg의 Ketamine HCl(Ketalar®, Yuhan Inc., Korea)을 귀정맥에 주사하고, 기관을 절개하여 삽관한 다음 halothane-산소-아산화질소를 사용하여 전신마취하였다. Calcium tioglycollate 연고(Evacin®, Samgong Pharm. Co., Korea)를 양측 서혜부 주위에 도포하여 털을 제거하고 베타딘으로 소독하였다. 수술현미경을 사용하여 천하복벽동맥(superficial inferior epigastric artery)의 분지부에서 서혜인대까지 주위 조직을 박리하여 좌우측 대퇴정맥을 충분히 노출하였다. 대퇴정맥의 근위부 및 원위부에 double microvascular clamps를 장착하여 양단을 고정 후 clamps 사이에 위치한 정맥에 좌상을 가하기 위해 Smooth jaw needle holder로 세 번째 튜니바카까지 10초 동안 조인 후 3초 동안 푸는 방법으로 각각 3회 시행함으로써 인공혈전 모델을 형성하였다.

수술현미경하에서 microscissors로 손상된 혈관의 1/2 정도 횡절개를 가하였다. 실험 1군에서는 100 U/ml 농도의 헤파린으로 절개된 혈관 내강을 세척하여 혈액응고물질을 제거하고 30G needle을 이용하여 혈관강 내에 10분 동안 유지하면서 미세수술기구와 10-0 Ethilon을 사용하여 절개된 정맥에 대한 미세혈관문합술을 시행하였다^{17,21)}. 실험 2군에서는 실험 1군과 동일한 방법으로 100 U/ml 농도의 헤파린을 혈관강 내에 10분 동안 유지하면서 미세혈관문합술을 시행한 후 가토 귀의 중심정맥에 헤파린 200U (0.04 ml, 100U/kg)를 하루에 1회씩 3일 동안 정맥내 주사하였다¹⁶⁾. 대조군에서는 멸균된 생리식염수로 혈관강 내를 세척하면서 미세혈관문합술을 시행하였다. 문합 후 30분째에 empty-and-refill test를 이용하여 혈관 개존 상태를 평가한 후 3-0 Vicryl로 창상을 층별 봉합하였다. 수술 부위의 감염 예방을 위해 술 후 3일 동안 Peracillin®(Piperacillin, 삼성제약)을 근육주사하였다.

3. 실험동물의 희생 및 조직표본 제작

술 후 3일째에 실험동물을 전신마취한 다음 수술현미경하에서 좌, 우측 대퇴정맥 문합부를 주위 조직으로부터 박리하여 노출시키고 empty-and-refill test를 이용하여 개존 상태를 평가하였다. 수술현미경하에서 문합부로부터 약 5 mm 거리의 근원심부에서 대퇴 정맥을 절단하여 제거한 후 microscissors로 혈관의 장축에 평행하게 종절개하였다. 절개된 혈관을 생리식염수에 담근 후 수술현미경하에서 혈관 내벽에 부착된 혈전의 양을 평가하였다. 절개된 혈관을 10% formalin 용액에 고정 후 paraffin에 포매하고 5 μm 두께의 절편을 제작하여 HE염색을 시행하고 광학현미경으로 관찰하였다.

4. 평가

술 후 30분째와 3일째에 문합된 부위의 개존 상태를 empty-and-refill test로 평가하여 양호(0점), 약간 감소(1점), 심한 감소(2점) 및 비개존(3점)으로 분류하여 점수화하였다. 문합부 혈관 내강에 부착된 혈전의 양에 대해 수술현미경하에서 육안적 평가를 시행하여 관찰안됨(0점), 소량의 혈전(1점), 중등도의 혈전(2점) 및 다량의 혈전(3점)으로 분류하고 점수화하였다.

5. 통계

Kruskal-Wallis 검증법을 사용하여 hepatin이 혈관 개존과 혈전 형성에 미치는 영향을 평가하였다.

III. 결 과

1. 개존 상태

가. 문합 30분 후

실험 1군에서 양호한 개존은 1례, 약간 감소된 개존은 3례, 심하게 감소된 개존은 2례였다. 실험 2군에서 양호한 개존은 2례, 약간 감소된 개존은 2례, 심하게 감소된 개존은 2례였다. 대조군에서는 약간 감소된 개존은 3례, 심하게 감소된 개존은 3례였다.

Table 2. Patency score at 3 days after microvascular anastomoses

Groups	P0	P1	P2	P3	Total
1	5	1	0	0	1
2	5	1	0	0	1
Control	0	1	2	3	14

P0: good patency, P1: slightly reduced patency, P2: severely reduced patency, P3: no patency

즉, 문합 30분 후 개존 상태는 실험 2군(6점), 실험1군(7점) 및 대조군 (9점) 순으로 나타났으나 각 군간에 통계학적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1).

나. 문합 3일 후

실험 1과 2군에서 각각 양호한 개존은 5례, 약간 감소된 개존은 1례였다. 대조군에서는 약간 감소된 개존은 1례, 심하게 감소된 개존은 2례, 비개존은 3례였다. 또한 문합 3일째의 개존 상태는 문합 30분 후에 비해 두 실험군 모두에서는 개선된 반면에 대조군에서는 약간 악화되어 있었다. 문합 3일 후의 개존 상태는 두 실험군 모두가 대조군에 비해 양호한 상태를 나타냈다(P<0.05, Table 2).

2. 혈전 형성

실험 1군에서 혈전이 관찰되지 않은 경우가 5례, 소량의 혈전이 관찰된 경우가 1례였다. 실험 2군에서 혈전이 관찰되지 않은 경우가 4례, 소량의 혈전이 관찰된 경우가 2례였다. 대조군에서는 소량의 혈전이 관찰된 경우가 1례, 중등도의 혈전이 관찰된 경우가 2례, 다량의 혈전이 관찰된 경우가 3례였다. 즉, 문합 3일 후 혈전 형성은 두 실험군 모두에서는 혈전이 거의 관찰되지 않았으나 대조군에서 중등도 또는 다량의 혈전이 관찰되었다(P<0.05, Table 3). 대부분의 혈전은 문합부 주위에 불투명하고 노란빛을 띠는 겔 덩어리 양상으로 관찰되었다.

Table 1. Patency score at 30 minutes after anastomoses

Groups	P0	P1	P2	P3	Total
1	1	3	2	0	7
2	2	2	2	0	6
Control	0	3	3	0	9

P0: good patency, P1: slightly reduced patency, P2: severely reduced patency, P3: no patency

Table 3. Thrombus score at 3 days after microvascular anastomoses

Groups	P0	P1	P2	P3	Total
1	5	1	0	0	1
2	4	2	0	0	2
Control	0	1	2	3	14

T0: no thrombus, T1: small thrombus, T2: moderate thrombus, T3: large thrombus

3. 조직학적 소견

문합 3일 후 조직학적 소견에서 생리 식염수로 세척한 대조군에서는 대부분 혈관 내강에 혈전이 존재하였고 혈전이 형성된 부위는 혈관 확장이 관찰되었다(Fig. 1). 문합부를 중심으로 혈관벽의 괴사와 내강의 혈전이 관찰되었다 그리고 혈관을 둘러싸고 있는 외막에서도 괴사소견이 관찰되었다(Fig. 2).

실험 1군과 실험 2군 모두에서 혈전이 없는 깨끗한 내강이 관찰되었으며 봉합사 주변이나 외막의 부분적인 괴사가 나타났으며 일부에서는 염증세포가 관찰되었다 (Fig. 3-6).

IV. 고 찰

1960년 Jacobson과 Suratez²³⁾가 미세수술용 현미경을 이용한 미세혈관문합술을 보고한 이래 미세수술용 현미경과 미세수술기구, 봉합사 및 각종약물 등이 발달됨에 따라 근래에 들어 미세혈관문합술은 결손된 악안면부의 경조직 및 연조직을 재건하기 위해 많이 사용되고 있다. 그러나 이러한 비약적인 발전에도 불구하고 미세혈관 문합술은 혈전증 등으로 인해 10% 정도가 실패하고 있다^{23,24)}. 특히 동맥에 비해 혈류 속도가 느린 정맥은 외상에 민감하여 경미한 외상이라도 받을 경우에 혈전 발생위험이 높다^{15,19)}. 본 연구는 헤파린의 항혈전 효과를 구명하기 위하여 시행되었으며 혈전증을 유발시키기 위해 손상받은 정맥에서 미세혈관문합술을 시행하였다.

인공혈전모델을 형성하기 위하여 Hudson 등¹⁹⁾은 뒤집힌 정맥 이식(inverted vein graft)을 사용하였으나 본 연구에서는 Fu 등⁹⁾과 같이 가토의 대퇴정맥을 노출시킨 후 Smooth jaw needle holder를 이용하여 3회에 걸쳐 좌상을 가함으로써 실제 임상에서 정맥에 가해진 외상과 유사한 외상을 가하였다.

정맥 혈전증의 병인론(pathogenesis)은 동맥 혈전증과 다르다. 즉, 정맥 혈전증은 섬유소 응고(fibrin clotting)가 주된 요인이며 동맥 혈전증은 혈소판 응집(platelet aggregation)이 주된 요인이다²⁵⁾. 정맥 혈전은 울혈(stasis) 부위에 형성되며 다량의 섬유소와 적혈구(red cells) 및 소량의 혈소판으로 구성되어 있어 응고 기전이 혈소판 활성화보다 더 중요한 역할을 한다. 반면에 동맥 혈전은 혈류속도가 빠르거나 소용돌이치는 부위나 내막이 파열된 부위에서 대부분 형성되며 얇은 섬유소 섬유에 의해 결합된 혈소판 집합체로 주로 구성되어 있다. 이상적인 항혈전제는 국소적인 활성을 가지고 있어야 하고 전신적인 영향은 거의 없어야 하며 재내막화(re-endothelialization)가 일어나는 술 후 7~10일 동안 국소적 혈전 형성을 최소화할 수 있어야 한다. 그러나 이상적인 항혈전제는 아직까지 개발되지 못한 상태이며 헤파린 등 다양한 약제가 사용되고 있다⁹⁾.

헤파린은 혈관질환과 미세혈관문합술을 시행한 환자에서 항혈전 효과를 위해 가장 널리 쓰이는 약제로서¹¹⁻¹³⁾, 혈소판에 의한 동맥 혈전과 응고에 의한 정맥 혈전 모두 예방할 수 있으나^{16,21)} 동맥 혈전 보다는 정맥 혈전에 보다 효과적임 것으로 알려져 있다⁹⁾.

미세혈관문합시 혈전예방을 위해 사용하는 헤파린의 투여 방

법은 크게 국소적 세척법, 정맥주사를 통한 전신적 투여 및 catheter를 통한 국소 적용법등이 사용되고 있으나 투여방법에 대한 효능에 대해서는 논란이 되고 있다.

미세혈관문합술시 헤파린으로 국소적 세척을 시행할 경우 혈관개존을 증가시킨다고 보고되어 많은 술자들^{12-14,26)}은 헤파린의 국소적 도포 방법을 추천하고 있다. 실제 임상에서 미세혈관문합술시 혈관강 내에 존재하는 혈병이나 잔사들을 제거하고 혈전 형성을 예방하기 위해 10~100 U/ml로 희석된 헤파린을 사용되고 있다. Fu 등⁹⁾은 인공혈전모델을 가진 rat의 대퇴정맥에서 75 U/ml 헤파린 용액을 혈관강 내에 10분 동안 적용한 다음 술 후 7일째에 양호한 개존을 관찰하였다고 하였다. 한편 헤파린의 국소 적용에 대한 회의적인 의견도 있다. Wieslander와 Dougan²⁰⁾은 미세혈관문합시 혈관 양단을 세척하는 방법의 문제점들을 제시하였다. 즉, 세척 용액의 온도가 부적절하면 혈관 경축과 내피세포의 수축을 유발할 수 있고 세척시의 높은 압력으로 인해 내피손상을 초래할 수 있으며 주사침과 카테터에 의해 내막에 물리적 손상을 가할 수 있을 뿐만 아니라 세척액의 부적절한 조성으로 인해 내피와 혈관벽에 화학적 손상을 입힐 수 있고 헤파린의 국소 세척으로 혈류 속도를 변화시킬 수 있다고 하였다. Rumbolo 등²⁷⁾은 헤파린의 국소 세척이 미세혈관문합부의 개존을 향상시키지 못한다고 하였다.

몇몇 술자들^{11-13,18)}은 혈전 모델에서 헤파린의 전신적 투여로 혈관 개존을 증가시켰다고 하였다. 즉, 헤파린의 전신적 투여시 헤파린이 혈관 내막에 부착되어 혈관개존을 증가시킨다고 하였다. Glimelius 등¹⁸⁾은 tritium-labelled heparin을 사용하여 헤파린이 혈관 내막에 가역적으로 부착하며 내막에 부착된 헤파린이 항혈전 효과를 가지고 있다고 하였다. Samuels와 Webster²⁸⁾는 개의 정맥 혈전증에 대한 연구에서 혈전증은 혈관 내막에 존재하는 세포간 유대선(intercellular cement line)에 혈소판이 부착함으로써 시작되며, toluidine blue 염색법으로 헤파린이 이 세포간 유대선에 부착됨을 제시하여 헤파린의 전신적인 투여로 혈전을 방지할 수 있다고 하였다. Hiebert와 Jaques²⁹⁾은 정량적인 생화학법을 이용하여 백서에서 헤파린의 전신적인 투여 후 내막에 부착된 헤파린 농도가 혈중의 농도에 비해 30~7,500배 높았음을 관찰하고 내막에 부착된 헤파린이 항응고 효과와 항혈전 작용을 나타낸다고 하였다. Essien 등³⁰⁾은 수술전 헤파린의 투여로 손상 받은 토끼의 대정맥 내피세포에 대한 혈소판의 축적을 억제할 수 있음을 시사하였다. 그리고 Greenberg 등¹¹⁾은 실험적 혈전 모델에서 정맥내 주사로 헤파린을 투여시 혈관 개존율을 향상시켰다고 보고하였다. 헤파린의 전신적 투여시 미세혈관 문합부의 출혈, 혈종 등이 문제이며 특히, 전신적인 출혈성 경향 때문에 aPTT등을 측정, 추적관찰하면서 투약을 시행해야하고 이외에도 급성 가역성 혈소판감소증, 탈모증, 알러지, 신경장애 등의 합병증도 유발할 수 있으므로 실제 임상적용에는 많은 주의를 기울여야 한다²¹⁾.

본 연구는 헤파린의 투여 방법에 따른 혈전 예방 효과를 평가하기 위하여 손상받은 정맥에서 미세혈관문합시 헤파린으로 국소 세척한 것을 실험 1군, 헤파린으로 국소세척하고 문합 후 3일 동안 정맥내 주사를 병행한 것을 실험 2군, 그리고 멸균된 생리

식염수만으로 국소 세척한 것을 대조군으로 분류한 다음 헤파린의 투여 방법에 따른 혈관의 개존과 혈전 형성에 미치는 영향을 검사하였다.

혈전예방을 위한 이상적인 헤파린의 투여량은 아직까지 알려지지 않았다¹⁰⁾. 국소적 세척을 위한 헤파린의 투여량에 관하여 Johnson과 Barker¹⁵⁾는 최소한 50 U/ml 이상이어야 효과적이라고 하였다. Hudson 등¹⁶⁾은 정맥혈전모델에서 venous catheter를 통해 100 U/ml 농도의 헤파린을 주입한 결과 출혈 등의 전신적인 부작용 없이 양호한 개존과 혈전예방에 효과를 얻었다고 하였다. Braam 등²¹⁾은 좌상 받은 동맥에서 100 U/ml와 500 U/ml 헤파린으로 국소 세척한 후 혈관 개존과 출혈 경향을 평가한 동물실험에서 100 U/ml 헤파린으로 국소 세척시 혈장의 activated partial thromboplastin times(APTTs)의 증가 소견이 없이 양호한 개존을 얻었으나 500 U/ml 헤파린을 사용한 경우에서 APTTs 수치가 증가되었다고 하였다. Braam 등²¹⁾과 Cox 등²⁰⁾의 실험 결과에서 출혈 등 전신적 합병증 없이 혈전 예방 목적으로 사용되는 최적의 헤파린의 농도가 100 U/ml인 것으로 나타나 본 연구에서 100 U/ml 헤파린을 사용하였다. 본 연구에서 헤파린을 사용한 모든 실험군에서 문합부의 혈종 등 이상 소견은 관찰되지 않았다.

Acland³⁹⁾는 손상된 혈관에서 손상 후 처음 20분 동안에 혈전증의 발생위험이 가장 높은 시기라고 하였다. 임상적으로 문합 후 몇 일이 지나면 혈전은 잘 형성되지 않으며 문합부에서 부분적으로 초기 재내피화가 일어난다⁴⁰⁾. 본 연구에서 혈관문합 후 초기 개존에 대한 평가는 다른 연구들^{12,13)}과 동일하게 문합 30분 후와 Greenberg 등¹⁾과 같이 문합 3일 후에 empty-and-refill test로 혈관 개존과 혈전 형성을 평가하였다. 문합 30분 후 혈관 개존은 대조군에 비해 두 실험군 모두에서 보다 양호한 개존 상태를 나타냈으나 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 그러나 문합 3일 후 두 실험군 모두에서 대조군보다 훨씬 양호한 개존 상태를 나타냈다. 문합 30분과 3일 후 두 실험군 간의 혈관 개존의 차이는 없었다.

문합부에 형성된 혈전의 양에 대한 평가는 문합 3일 후 문합부에서 약 5 mm 거리의 근원심부에서 대퇴 정맥을 절단하여 제거한 후 microscissors로 혈관의 장축에 평행하게 종결개하고 절개된 혈관을 생리식염수에 담근 후 수술현미경하에서 혈관 내벽에 부착된 혈전의 양을 평가하였다. 대조군에서 봉합사 주위에 불투명하고 노란빛을 띄는 겔 양상의 혈전이 관찰되는 경우가 많았으나 실험 1군과 2군의 일부에서 봉합사 주위에 소량의 혈구성 물질들이 관찰되었고 대부분의 실험군에서는 혈전이 관찰되지 않았다.

본 연구의 조직학적 소견에서 대조군의 혈관 내강에 다량의 혈전이 존재하였고 문합부 주위 혈관벽의 괴사 소견을 관찰할 수 있었으며 이 괴사 소견은 혈전 모델을 형성하기 위해 가해진 좌상에 의해 초래된 것으로 생각된다. 두 실험군 모두에서 혈관의 막의 괴사 소견이 관찰되었고 혈관 내강은 혈전이 없는 깨끗한 상태였다.

본 연구에서 헤파린의 국소 세척을 시행한 실험 1군과 헤파린의 국소 세척 및 전신 투여한 실험 2군 모두 양호한 개존 상태와

혈전 예방 효과를 얻을 수 있었다. 그러므로 임상에서 헤파린의 국소 세척만을 시행함으로써 양호한 혈관 개존과 혈전 예방 효과를 얻을 수 있고 헤파린의 전신 투여로 인한 출혈 위험 등의 합병증을 피할 수 있을 것으로 생각된다. 향후 보다 양호한 항혈전 효과와 혈관 개존을 얻기 위하여 헤파린과 타 약제와의 병용 방법과 이상적인 항응고제 개발에 대해서 지속적인 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 헤파린의 투여 방법에 따른 혈전 예방 효과를 평가하기 위하여 손상받은 정맥에서 미세혈관문합시 헤파린을 국소 세척 및 전신 투여한 후 혈관의 개존과 혈전 형성에 미치는 영향을 검사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 문합 30분 후의 개존 상태는 두 실험군 모두에서 대조군보다 증가하였으나 유의한 차이는 없었으며, 문합 3일 후에는 대조군보다 유의하게 증가하였다($P<0.05$). 문합 30분 및 3일 후의 개존 상태는 두 실험군 간의 차이가 없었다.
2. 문합 3일 후 혈전 형성은 두 실험군 모두에서 대조군보다 감소되어 있었다($P<0.05$).
3. 문합 3일 후 조직병리학적 소견에서 대조군에서는 혈관강 내에 다량의 혈전이 관찰되었고 절개 부위를 중심으로 혈관벽의 괴사 소견을 보였다. 두 실험군 모두에서는 봉합사 주위에 혈관의 괴사 소견이 관찰되었고 혈전이 없는 깨끗한 내강이 관찰되었으며 두 실험군 간의 차이는 없었다.
4. 모든 실험동물에서 혈종 등 이상소견은 관찰되지 않았다.

이상의 결과는 손상된 정맥의 미세혈관 문합술시 헤파린의 국소 세척만으로 양호한 개존 상태와 혈전 예방 효과를 얻을 수 있음을 시사한다.

참고문헌

1. Greenberg BM, Masem M, May JW : Therapeutic value of intravenous heparin in microvascular surgery: An experimental vascular thrombosis study. *Plast Reconstr Surg* 82:463-469, 1988.
2. Acland R : Thrombus formation in microvascular surgery: An experimental study of the effects of surgical trauma. *Surg* 73:766-771, 1973.
3. Khouri RK, Cooley BC, Kenna DM, Edstrom LE : Thrombosis of microvascular anastomoses in traumatized vessels: fibrin versus platelets. *Plast Reconstr Surg* 86:110-117, 1990.
4. Stemerman MB, Spact TH : The subendothelium and thrombogenesis. *Bull NY Acad Med* 48:289-301, 1972.
5. Holmsen H, Day HJ, Stormorken H : The blood platelet release reaction. *Scand J Haematol Suppl* 8:3-26, 1969.
6. Colman RW, Hirsch J, Marder VJ, Salzman EW : Hemostasis and thrombosis: Basic principal and clinical practice. 2nd ed, Lippincott, Philadelphia, pp594, 1982.
7. Eddy CA, Lanfe L, Dunn RL, Gibson JW : The use of prostacyclin analogue-containing suture for the preventive venous thrombosis in the rat. *Plast Reconstr Surg* 78:504-510, 1986.
8. Kroll SS, Schuusterman MA, Reece GP, Miller MJ, Evans GR, Robb GL, Baldwin BJ : Timing of pedicle thrombosis and flap loss after free-tissue transfer. *Plast Reconstr Surg* 98:1230-1233, 1996.
9. Fu K, Izquierdo R, Hubbard T, Fareed J : Modified crush-avulsion

- anastomosis model on the rat femoral vein. *Microsurg* 16:536-541, 1995.
10. Cooley BC, Hansen FC : Microvascular repair following local crush and avulsion vascular injury. *Microsurg* 6:46-48, 1985.
 11. Greenberg BM, Masem M, Wang YX, Rubin P, May JW : Efficacy of intraarterial heparin in maintaining microvascular patency: An experimental model. *Plast Reconstr Surg* 87:933-940, 1991.
 12. Zinberg EM, Choo DI, Zotter DA : Effect of heparinized irrigating solutions on patency of experimental microvascular anastomoses. *Microsurg* 10:103-107, 1989.
 13. Li X, Cooley BC, Gould JS : Influence of topical heparin on stasis-induced thrombosis of microvascular anastomoses. *Microsurg* 13:72-75, 1992.
 14. Sinclair S : The importance of topical heparin in microvascular anastomoses: A study in the rat. *Br J Plast Surg* 33:422-426, 1980.
 15. Johnson PC, Barker JH : Thrombosis and antithrombotic therapy in microvascular surgery. *Clin Plast Surg* 19:799-807, 1992.
 16. Conrad MH, Adams WP Jr : Pharmacologic optimization of microsurgery in the new millennium. *Plast Reconstr Surg* 108:2088-2096, 2001.
 17. Fu K, Izquierdo R, Walenga JM, Fareed J : Comparative study on the use of anticoagulants heparin and recombinant hirudin in a rabbit traumatic anastomosis model. *Thromb Res* 78:421-428, 1995.
 18. Glimelius B, Busch C H k M : Binding of heparin on the surface of cultured human endothelial cells. *Thromb Res* 12:773-782, 1978.
 19. Hudson DA, Engelbrecht G, Duminy FJ : Another method to prevent venous thrombosis in microsurgery: An in situ venous catheter. *Plast Reconstr Surg* 105:999-1003, 2000.
 20. Wieslander JB, Dougan P : Washout of vessel with heparin does not improve patency following severe microarterial trauma: An experimental study. *Ann Plast Surg* 24:216-222, 1990.
 21. Braam MJ, Cooley BC, Gould JS : Topical heparin enhances patency in a rat model of arterial thrombosis. *Ann Plast Surg* 34:148-153, 1995.
 22. Jacobson JH, Suratez EL : Microsurgery in anastomosis of small vessels. *Surg Forum* 11:243, 1960.
 23. Romano JE, Biel MA : Thrombolysis in microvascular surgery using tissue-type plasminogen activator. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 115:1318-1321, 1989.
 24. Hergueter CA, Handren J, Kersh R, May JW Jr : Human recombinant tissue type plasminogen activator and its effect on microvascular thrombosis in the rabbit. *Plast Reconstr Surg* 81:418-424, 1988.
 25. Li X, Cooley BC : Effect of anticoagulation and inhibition of platelet aggregation on arterial versus venous microvascular thrombosis. *Ann Plast Surg* 35:169-170, 1995.
 26. Reichel CG, Puckett CL : A comparison of irrigation solutions for microanastomoses. *Am J Hand Surg* 13:33-36, 1988.
 27. Rumbolo PM, Cooley BC, Hanel DP, Gould JS : Comparison of the influence of intraluminal irrigation solutions on free flap survival. *Microsurg* 13:45-47, 1992.
 28. Samuels PB, Webster DR : The role of venous endothelium in the inception of thrombosis. *Ann Surg* 136:422-438, 1952.
 29. Hiebert LM, Jaques LB : The observation of heparin on endothelium after injection. *Thromb Res* 8:195-204, 1976.
 30. Essien EM, Cazenave JP, Moore S, Mustard JF : Effect of heparin and thrombin on platelet adherence to surface of rabbit aorta. *Thromb Res* 13:69-78, 1978.
 31. Rooks MD, Rodriguez J, Blechner M, Zusmanis K, Hutton W : Comparative study of intraarterial and intravenous anticoagulants in microvascular anastomoses. *Microsurg* 15:123-129, 1994.
 32. Cox GW, Runnels S, Hsu HSH, Das SK : A comparison of heparinised saline irrigation solutions in a model of microvascular thrombosis. *Br J Plast Surg* 45:345-348, 1992.
 33. Acland R : Prevention of thrombosis in microvascular surgery by the use of magnesium sulphate. *Br J Plast Surg* 25:292-299, 1972.

사진부도

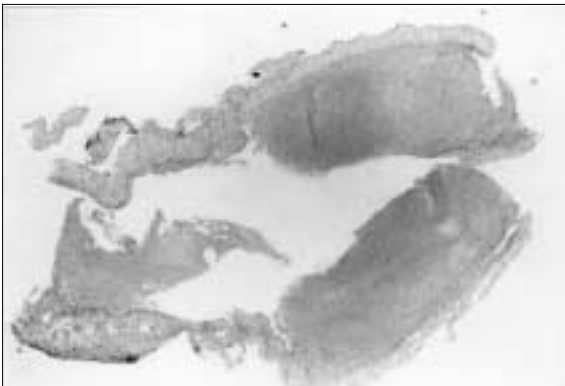


Fig. 1. Photomicrograph of Control Group 3 days after microvascular anastomosis. Large thrombus and hematoma are attached to the enlarged femoral vein (H-E stain, x40).



Fig. 2. Photomicrograph of Control Group. Large thrombus is adherent to the intima of vein. The necrotic change is observed in the media of vein (H-E stain, x200).

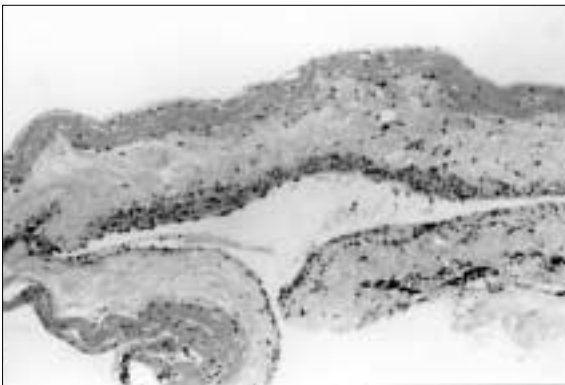


Fig. 3. Photomicrograph of Experimental Group 1. The clear lumen is observed without thrombus. The necrotic change is observed in the media of vein (H-E stain, x40).

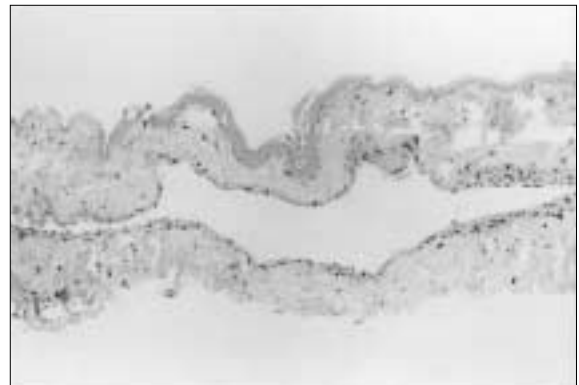


Fig. 4. Photomicrograph of Experimental Group 1. The vessel shows clear lumen. The necrotic change is observed in the media and adventitia (H-E stain, x100).



Fig. 5. Photomicrograph of Experimental Group 2. No thrombus is observed in the lumen (H-E stain, x20).

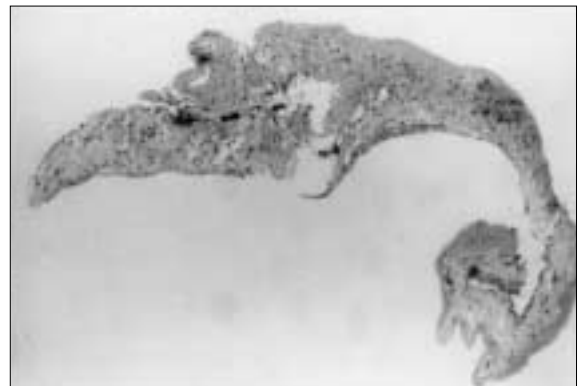


Fig. 6. Photomicrograph of Experimental Group 2. The vessel shows clear lumen. The necrotic change is observed in the media and adventitia (H-E stain, x100).