

Tourniquet Ischemia에 있어서 골격근의 미세 조직학적 변화

경북대학교 의과대학 정형외과학교실

김익동 · 이수영 · 김풍택 · 박병철 · 안면중

= Abstract =

Ultrastructural Changes of Skeletal Muscle in Tourniquet Ischemic

Ik Dong Kim, M.D., Su Young Lee, M.D., Poong Taek Kim, M.D., Byung Cheol Park, M.D. and Myun Jung Ahn, M.D.

Department of Orthopaedic Surgery, College of the Medicine, Kyung Pook National University, Taegu, Korea

Muscles from three patients were obtained during continuous ischemic periods and were investigated ultrastructural changes to know the reversible tourniquet time.

Tourniquet was applied for periods lasting between 60 minutes and 90 minutes in the human and muscle biopsies were taken from 10 minutes to 90 minutes ischemic period and at the same periods after release of the tourniquet.

All specimens were investigated with electron microscopy and the results were as follows:

In 10 minutes tourniquet period, loss of cristae in few mitochondria were observed.

In 30 minutes tourniquet period, partial swelling, loss of cristae and myelin figure in many mitochondrias and vacuolar dilatation in T-tubule and sarcoplasmic reticulum were observed.

In 60 minutes tourniquet period, above change were observed in nearly all mitochondrias and total number of mitochondrias were decreased.

In 90 minutes tourniquet period, above changes were more distinct.

20 minutes after release of 90 minutes tourniquet period, small sized new mitochondria were appeared and abundant electron dense granule in their matrix and sarcoplasmic reticulum were visible.

60 minutes after release of 90 minutes tourniquet period, the majority of damaged mitochondrias were replaced by small sized new mitochondrias and electron dense granule were abundant in sarcoplasmic reticulum.

In human, the changes on the ultrastructure were reversible for at least a succeeding 90 minutes ischemic periods.

Key Words: Tourniquets, effect on ultrastructure, of skeletal muscle.

I. 서 론

지혈대(Tourniquet)를 임상적으로 사용하게 된 역사는 오래 되었지만 1873년 Esmarch가 고무 붕대(rubber bandage)로써 exanguination을 시도하기 이전에는 원시적인 방법에 지나지 않았다. 1877년 Martine 이 넓은 고무 붕대를 울체성 궤양(stasis ulcer)의 치료에 이용하였으며 1904년 Cushing이 처음으로 공기 지혈대(pneumotourniquet)를 개두술(craniotomy) 환자에 사용하였다. 1944년 Bunnell이 수부의 atraumatic reconstructive surgery에는 필수적으로 공기 지혈대가 필요하며 이의 역할이 수술 결과

본 논문은 1984년 대한정형외과 추계 학술대회에서 발표 되었음.

에 지대한 영향을 준다고 강조하였다. 현재에는 상하지의 재건 수술에는 보편적으로 지혈대를 사용하고 있으며 수술 조작에는 큰 도움을 얻는 반면 사용 기간이 길어지면 허혈(ischemia)로 인한 부작용이 나타나게 된다. 지혈대로 인한 부작용은 허혈의 시간과 cuff의 직접적인 압력 때문에 생긴다. 지혈대 허혈의 영향에 관하여서는 임상적, 해부학적, 생화학적 및 생리학적으로 많이 연구되고 있다. 골격근에 있어서도 허혈의 시간이 길어지면 해부학적 구조에 변성을 일으키므로 조직 변성이 회복될 수 있는 안전한 사용 기간에 대하여 학자들 사이에 의견의 차이를 나타내고 있다. Flatt⁹⁾는 1500명의 수술 환자에서 한시간 미만에서 두시간 이상까지 사용하였던 경우를 검토한 결과 두시간 이내가 적당한 시간이란 결론지었다. Parks⁷⁾는 약 3 시간까지는 사용해

Table 1. Data on three patients

Case	Age (yr)	Sex	Diagnosis	Operation	Duration	Muscle
Suh G.B.	25	M	Rt knee med. colla. lig. rupture	Ligament repair	60 minutes	Med. head of gastrocnemius
Jung W.Y.	37	M	Lt. volar Barton's fx.	Wrist fusion	90 minutes	E.C.R.B.*
Park Y.S.	42	M	Lt. forearm both bone fx.	OR/IF**	90 minutes	Palmaris longus

* E.C.R.B.: Extensor carpi radialis brevis

** OR/IF: Open reduction and internal fixation

Table 2. Method of observation in human

Anesthetic agents: Ravonal anesthesia with Ethrane
 Anesthetic methods: I.V. with circle system
 Tourniquet: Zimmer Co. Model No. 2000, pneumo-tourniquet
 Tourniquet pressure: In upper extremity-300 mmHg
 In lower extremity-500 mmHg

도 된다고 하였다. 또한 허혈의 영향에 대한 조직학적 연구결과가 우리들에게 많은 도움을 주고 있다. Solonen과 Hjelt¹¹⁾는 골격근의 구조적 변화가 1 시간 30분 내지 2 시간 사이에 일어나지만 그 변화를 가진 근섬유의 경과에 대하여서는 분명하지 않다고 하였다. Dahlback 와 Rais¹⁾는 비슷한 소견을 관찰하였으며 2 시간 이내의 구조적 변화는 나중에 integrity를 회복할 수 있다고 하였다. Tountas와 Bergman¹²⁾은 전자 현미경 검색에서 2 시간까지는 별다른 변화가 없으나 3~4 시간 이후에는 정도의 변성이 세포내에서 일어난다고 하였다. Patterson과 Klennerman¹³⁾은 세포내의 소기관의 병적인 변화는 3 시간이 상한선이라 하였다. Scully, Shanon 및 Dickerson¹⁴⁾은 근육의 허혈은 4~6 시간 동안 비가역적인 변화가 없이 지탱할 수 있다고 하였으나 Kikuchi¹⁵⁾는 4 시간의 허혈 후에는 비가역적 변화가 초래된다고 하였다. 이에 저자는 인체에서 지혈대 허혈로 인한 골격근의 경시적인 미세 조직학적 변화와 지혈대 제거 후 시간 경과에 따른 골격근의 미세 조직학적 회복 소견을 관찰하고자 하였다.

II. 관찰대상 및 방법

본 대학병원 정형외과에 입원하였던 환자중 25세의 남자 슬관절 인대 봉합수술시 비복근을, 37세의 남자 완관절 유합술시 extensor carpi radialis longus

muscle을 그리고 42세의 남자 요골및 척골 골절 내 고정 수술시 palmaris longus muscle을 선택하여 조직을 절취하였다. 환자는 전신마취하에서 Zimmer 회사 공기 지혈대를 사용하였으며 상지에는 300mm Hg 하지에는 500mmHg의 압력을 가하였다. 지혈대에 압력을 가한 후 10분, 30분, 60분 및 90 분에 각각 근육을 절취하였으며 지혈대 제거후에는 10분 20분, 60분에 걸쳐 근육을 절취하였다(Table 1,2).

절취한 근육은 1 mm 크기로 세절한 후 aldehyde-glutaraldehyde 용액으로 4℃에서 1 시간 동안 고정시켜 cacodylate 완충용액 (0.1M, pH 7.2)에 수세하고 acetate-veronal 완충용액 (pH 7.2)에 희석된 1% OsO₄ 용액에 2 시간 동안 후고정을 하였다. 탈수는 계열 Ethanol로 하였으며 침투는 propylene oxide로 하였다. 포매는 Luft 방법에 의한 Epon 혼합물로 하였으며, 포매 후 lu 두께로 박절하고 Methylene blue로 염색하여 관절 부위를 결정한 다음 ultramicrotome MT-2B로 DUPONT diamond knife를 사용하여 두께 40~60nm 정도의 초박절을 한뒤 Reynolds 방법에 의한 uranyl acetate 및 lead citrate 염색을 하고 Hitachi H-600 전자 현미경으로 관찰하였다.

III. 성 적

지혈대 착용 10분 후에는 근섬유가 속을 이루어 같은 방향으로 주행하고 Z-disc 그리고 A. I 및 M band 들은 잘 유지되어 있었다. 이들 근섬유속 사이사이에는 mitochondria가 섬유속의 주행 방향과 나란히 위치하며 어떤 mitochondria는 cristae의 일부가 소실되어 빈 공간을 이루고 있으나 종창은 인정되지 않으며 대부분의 mitochondria는 정상 구조를 유지하고 있었다. sarcoplasmic reticulum은 근섬유속 사이에서 간혹 관찰되고 Z-disc 근처에서는 T-tubule 및 terminal cisternae가 인정되나 별다른 변화가 없는 것으로 관찰되었다. mitochondria 주변의

Fig. 1. Longitudinal section through the E. C. R. B. after 30 minutes ischemic period. The mitochondria (M) are not changed but a few myelin figure formation in some mitochondrias (arrow). Muscle fiber change is not visible. The Z disc is intact(x23000).

Fig. 2. Longitudinal section through the palmaris longus after 60 minutes ischemic period. The most of mitochondria(M) are swollen and their cristae are disorganized(x23000).

Fig. 3. Longitudinal section through E. C. R. B. after 90 minutes ischemic period. The mitochondria(M) are marked swollen, their cristae disorganized and myelin figure formation.(arrow) The number of mitochondria are decreased(x12000).

Fig. 4. Cross section through the palmaris longus 10 minutes after release of 90 minutes tourniquet period. The number of small new mitochondria(M) are increased and sarcoplasmic reticulum (SR) are present vacuolar dilatation(x23000).

공간에는 간혹 지방적(fat droplet)의 존재도 인정되었다. sarcolemma는 비교적 건전하며, 변연에 위치한 핵은 heterochromatin의 상을 보이며 미세형태학적 변화는 없었다. 지혈대 착용 30분 후에는 일부의 mitochondria는 부분적 종창을 보이고 cristae가 소실된 상을 보였다. 종창된 mitochondria의 부분에는 간혹 myelin like figure를 한 구조물이 보이나 primary lysosome과의 관계는 분명하지 않았다(Fig. 1).그러나 상당수의 mitochondria는 정상적으로 보이고 이들 주변에는 당원 과립도 많이 볼 수 있었

다. sarcoplasmic reticulum과 T-tubule도 군데군데에서 확장상을 볼 수 있었다. 핵 근처에는 간혹 primary lysosome을 관찰할 수 있었으며 근섬유는 별다른 이상을 인정할 수 없었다. 지혈대 착용 60분 후 상당수의 mitochondria는 cristae의 소실, 종창 및 파괴상을 보이고 myelin like figure의 구조물도 훨씬 증가하였다. 일부의 mitochondria는 비교적 건전하였으나 전체적으로 mitochondria의 수가 감소된 것으로 인정되었다. sarcoplasmic reticulum은 경한 종창이 있었다(Fig. 2).

지혈대 착용 90분 후에는 mitochondria의 수가 감

Fig. 5. Longitudinal section through the palmaris longus 20 minutes after release of 90 minutes tourniquet period. The number of new small mitochondria (M) are marked increased. Sarcoplasmic reticulum(SR) are present typical vacuolar dilatation. There are many glycogen(G) particles between the myofibrils(x23000).

소되었으며 대부분의 mitochondria의 변화는 더욱 심해지는 경향을 보였다. 일부의 stellate cell내에도 myelin like figure를 인정할 수 있었다(Fig. 3).

90분간 지혈대를 착용한 채 수술이 끝난후 지혈대를 release하여 10분이 경과한 다음의 전자현미경 조직 소견에 크기가 작은 mitochondria가 많이 나타났으며 sarcoplasmic reticulum은 vacuolar dilatation을 나타내며 강내에는 곳에 따라 전자밀도가 높은 과립상 물질로 충만되어 있었다(Fig. 4).

지혈대 제거 20분 후에는 새로 생성된 작은 mitochondria의 수가 더욱 증가하였으며 sarcoplasmic reticulum은 전형적인 vacuolar dilatation을 나타내었고 이들 작은 mitochondria의 내부에는 cristae의 발달이 비교적 성글고 기질에는 과립상의 물질이 불규칙하게 충만되어 있었다. 이들 mitochondria는 대체로 원형내지 난원형이었으며 일부 종창을 나타낸 mitochondria 내부에는 파괴된 cristae가 부분적으로 남아있었다. 또한 근섬유 사이에는 glycogen granule이 많이 나타나 있었다(Fig. 5).

지혈대 제거 60분 후에는 종창된 mitochondria는 거의 소실되고 대소 부동의 비교적 다양한 형태를 가진 mitochondria들이 근섬유속 사이에 다수 출현하였다. sarcoplasmic reticulum은 이들 mitochondria 주위에 많이 볼 수 있었고 이들의 내강은 과립상 물질로 충만되어 있었다. 핵은 euchromatin의 상태이며 핵주변에서 secondary lysosome을 관찰할 수 있었다(Fig. 6).

Fig. 6. Cross section through the palmaris longus 60 minutes after release of tourniquet. Many small new mitochondrias(M) appear between muscle fibrils and swollen, disorganized mitochondrias disappear. The nucleus(N) is euchromatic state(x12000).

IV. 고 찰

사람에게 지혈대를 착용시키고 난 후 시간에 따른 골격근의 형태학적 변화는 mitochondria, sarcoplasmic reticulum과 T-tubule 등에서 볼 수 있었는데 주된 변화는 mitochondria에서 볼 수 있었다. mitochondria의 변화를 요약하면 지혈대 착용후 10분에 극히 소수의 mitochondria에서 이미 cristae가 소실되기 시작하였으며 30분후에는 일부의 mitochondria에서 부분적 종창, cristae의 소실 및 myelin like figure를 한 구조물을 보였으며 60분 후에는 이들 변화가 상당수의 mitochondria에 과급되었으며 전체적으로 mitochondria의 수도 감소되었다. 지혈대 착용 90분 후에는 mitochondria의 수가 더욱 감소되고 남아있는 대부분의 mitochondria는 종창 및 cristae의 소실 등을 보여 주었다. 그리고 sarcoplasmic reticulum과 T-tubule의 변화는 지혈대 착용 30분부터 볼 수 있었는데 시간의 경과에 따라 vacuolar dilatation이 증가하였으며 강내에는 곳에 따라 전자밀도가 높은 과립상 물질이 나타났다.

저자들의 실험 결과에 의하면 mitochondria의 상해의 형태학적 변화의 순서는 cristae의 소실, 부분적 종창 및 전체적 종창의 순으로 일어나며, 이러한 변화들이 초기에는 일부의 mitochondria에서 야기되고 시간이 경과함에 따라 차츰 전체 mitochondria에 과급되는 단계적 변화를 볼 수 있었다. 그러나 Jennings와 Ganote의 연구에 의하면 심근세포의 허혈성 손상상에는 종창과 cristae의 소실이 거의

동시에 발견된다고 하였다⁴⁾. 이것은 심근 세포는 허혈성 손상이 있음과 동시에 왕성하게 활동하는 상태에 있음으로 ATP의 절대적 부족이 동반되며 ATP의 부족은 세포의 대사 활동에 심한 타격을 주게 되므로 상해의 시작이 주는 과급 효과가 매우 빠를 것으로 생각된다. 그러나 저자들의 실험 조건은 비록 허혈성 손상을 주더라도 골격근 세포는 왕성한 활동을 하지 않는 거의 정지 상태에 있으므로 ATP의 부족이 주는 이차적 손상은 비교적 경한 것으로 생각되었다. 따라서 손상의 속도도 비교적 느릴 것으로 예상되었으며 cristae의 소실과 종창의 순서적 변화가 시간적 간격을 두고 일어날 것으로 판단되었다.

저자들의 실험에서 지혈대 제거 후 골격근의 변화는 지혈대 제거 후 20분경에 mitochondria의 수가 훨씬 증가되었으며 일부 종창 내지는 cristae가 소실된 큰 mitochondria가 있는 반면 대부분의 증가된 mitochondria는 비교적 크기가 작았고 cristae는 비교적 발달하지 않은 것들이었으며 기질에는 과립상 물질이 충만되어 있었다. 또한 sarcoplasmic reticulum은 vacuolar dilatation을 나타내며 강내에는 전자밀도가 높은 과립상 물질로 가득 차 있었다. 60분 후에는 종창 내지 cristae의 소실이 있는 mitochondria는 완전히 사라지고 대부분의 모든 mitochondria는 작은 크기를 가지고 다양한 형태를 하며 cristae는 미발달된 형태를 가지고 있었다. 이상과 같은 실험 결과에 의하면 회복기에 손상 또는 감소된 mitochondria는 de novo 생성된다는 것을 알 수 있었다. mitochondria의 생성은 기존 mitochondria의 분열 및 de novo 생성 등 2가지 방법이 있는데 본 실험에서는 종창된 mitochondria는 감소함과 동시에 작고 cristae의 발달이 미약한 mitochondria가 다수 나타나는 것과 이들 근처의 sarcoplasmic reticulum의 강내에 단백질 과립 물질이 충만된 것으로 미루어 볼 때 mitochondria는 de novo 생성되는 것으로 판단하였다.

mitochondria 상해의 시간은 본 실험 결과에 의하면 지혈대 착용 10분 후부터 시작되는 것으로 인정되며 최초의 변화는 cristae의 소실이고 이어서 부분적 종창 내지 전체적 종창이 일부의 mitochondria에서 시작하여 시간이 경과함에 따라 대부분의 mitochondria에 파급되는 것으로 인정된다. 그러므로 허혈 후 mitochondria에 형태적으로 인정되는 변화가 나타나는 최초의 시기는 10분보다 이전이며 또한 지혈대를 제거 후 20분경 부터는 신속히 회복되며 mitochondria를 생성하는 것을 볼 수 있었다.

이상과 같은 두가지 소견은 상해에 의한 형태적

변화는 기능적인 변화에 뒤이어 온다는⁵⁾ 점을 상기하여 볼 때 이는 매우 흥미있는 소견으로 이에 대해 지금까지의 연구는 미흡한 편이다. Tountas 및 Bergman은¹⁾ 여기에 언급이 없이 원숭이에서 4시간째 일어난 변화에 대해서만 기술하고 있고 Patterson 및 Klennerman⁶⁾ 등은 1시간 후 부터의 변화를 기술하면서 이때 일부의 근세포에서 종창 및 전자밀도의 large contraction band 형성, mitochondria 종창 및 mitochondria 기질내 calcium phosphate 침착이 된다고 하였다⁷⁾.

저자들의 실험 결과에 의하면 근육의 손상 및 회복은 mitochondria의 변화로 가장 빨리 파악할 수 있었으며 mitochondria의 상해는 지혈대 착용 10분 후부터 시작되었으며 지혈대 제거 20분 후부터는 신속히 회복되는 것으로 밝혀졌다. 이는 지금까지의 참고 문헌에서는 찾아 볼 수 없는 소견으로 이에 대해 앞으로 더 세밀한 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 요 약

수술시 지혈대 착용 후 경시적인 골격근의 변화와 지혈대 제거 후 골격근의 회복 소견을 알고져 사람에서 지혈대를 착용시키고 골격근의 변화를 미세조직학적으로 관찰하였다. 지혈대 착용 후 10분, 30분, 60분 및 90분에 그리고 지혈대 제거 후 10분, 20분 및 60분에 골격근을 생검하여 전자 현미경으로 관찰하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

사람에서는 지혈대를 90분까지 착용하여도 골격근의 변화는 미세 조직학적 검색으로 가역적이었으며 지혈대 착용 10분 후부터 이미 극소수의 mitochondria에 cristae의 소실을 볼 수 있었으며 30분 후에는 부분적 종창, cristae의 소실 및 myelin figure 형성을 보였으며 sarcoplasmic reticulum 및 T-tubule의 vacuolar dilatation이 나타났다. 60분 후에는 모든 mitochondria에서 상기 변화를 보였으며 전체적인 mitochondria의 숫자도 감소하였다. 90분 후에는 더욱 변화가 심해지고 mitochondria의 숫자의 감소와 sarcoplasmic reticulum 및 T-tubule의 vacuolar dilatation이 더욱 저명하였다.

90분간 지혈대를 착용하고 release 후 20분만에 새로운 mitochondria가 생성되기 시작하였으며 기질내 과립상 물질이 충만되어 있었다. 또한 sarcoplasmic reticulum의 강내에도 전자밀도가 높은 과립상 물질을 함유하고 있었다. 지혈대 release 후 60분에는 완전히 새롭게 형성된 mitochondria로 대체되었다.

REFERENCES

- 1) Dahlbaeck, L.O. and Rais, O.: *Morphologic changes in striated muscle following ischemia. Acta Chir. Scand.*, 131:430-440, 1966.
- 2) Flatt, A.E.: *Tourniquet time in hand surgery. Arch. Surg.*, 104:190-192, 1972.
- 3) Herson, P.B., Sommers, H.M. and Jennings, R.B.: *A comparative study of the fine structure of normal and ischemic dog myocardium with special reference to early changes following temporary occlusion of a coronary artery. Am. J. Pathol.*, 46:367-387, 1965.
- 4) Jennings, R.B. and Ganote, C.: *Structural changes in myocardium during acute ischemia. Circ. Res.*, 34 & 35 (Suppl 3):156-168, 1974.
- 5) Kikuchi, T.: *Electron microscopic observation of experimental ischemia of muscle. Orthop. Surg., (Tokyo)* 20:1385-1405, 1969.
- 6) Kloner, R.A., Ganote, C.E., Whalen, D.A. and Jennings, R.B.: *Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells. Am. J. Pathol.*, 74:399-420, 1974.
- 7) Parks, A.: *Ischemic effects of external and internal pressure on upper limb.*, 5:105-114, 1973.
- 8) Patterson, S. and Klenerman, L.: *The effect of pneumatic tourniquets on the ultrastructure of skeletal muscle. J. Bone Joint Surg.*, 61-B:178-183, 1979.
- 9) Robbins, S.L. and Cortran, R.S.: *Pathologic basis of disease, W.B. Saunders com. Philadelphia.*, 2:23-48, 1979.
- 10) Scully, R.E., Shannon, J.M. and Dickerson, G.R.: *Factors involved in recovery from experimental skeletal muscle ischemia produced in dogs. Histologic and histochemical patterns in ischemic muscle. Am. J. Pathol.*, 39:721-735, 1961.
- 11) Solonen, K.A. and Hjelt, L.: *Morphological changes in striated muscle during ischemia. Acta. Orthop. Scand.*, 39:13-9, 1968.
- 12) Tountas, C.P. and Bergman, R.A.: *Tourniquet ischemia. Ultrastructural and histochemical observation of ischemic human muscle and of monkey muscle and nerve. J. Hand Surgery.*, 2:31-37, 1977.