

개의 상피에 있어서 정상구조와 기능적 성분, 염증질환 상태에서의 성분 및 치료용 규정식 성분으로서의 다불포화 지방산의 역할(7)

(The Role of Polyunsaturated Fatty Acids In the Canine Epidermis: Normal Structural and Functional Components, Inflammatory Disease State Components, and as Therapeutic Dietary Components)

M.P. Schick, DVM*, Robert O. Schick, DVM, DACVD*
 Gregory A. Reinhart, PhD**,
 조영웅***, DVM, MPH, PhD, MBA

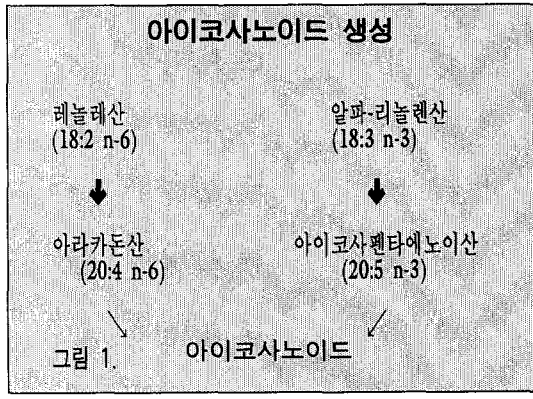
정상상피의 구조와 기능면에서의 다불포화 지방산(Polyunsaturated Fatty Acids in Normal Epidermal Structure and Function)

식이성 지방산(Dietary fatty acids)들은 여러가지 방법으로 신체에 의해 활용되어지거나 장관에서 흡수되어지는 것으로 나타나고 있다. 그것들은 에너지원으로써, 세포막화 되거나 또는 콜레스테롤 또는 에스트로겐과 같은 스테로이드의 제조용으로 대사성 합성경로의 기질로 되도록 즉각 대사되어질 수가 있다. 세포막 지질-단백질 이중층으로 되기 위하여는 지방산들이 20개의 탄소로 배열되어야 하며 인산 글리세롤(glycerol phosphate)과 결합되어 세포막 인지질로 되어야 한다. 이러한 지방산들은 세포막이 염증상태로 될 때에야 추후로 풀어지게 되는 것이다¹⁻³.

상피지질조성에 있어서의 다양성은 피부의 각질세포 증식-표피탈락과정에서 영향을 주며 더욱이 피부의 정상 수분 삼투 불투과성의 기능(normal water permeability barrier function)을 유지시킨다⁴. 다불포화지방산들은 수분 삼투 불투과성의 가장 중요한 구성성분으로 고려되고 있는 상피지질층의 세라마이드 성분으로 된다. 지방산들의 오메가-6 계열은 특히 정상적

인 각질세포막 구조와 기능 및 특별하게 피부의 완전한 세라마이드 삼투 불투과성(개에서 건강한 모피일 때)이 유지되도록 요구되어 진다⁵. 세라마이드들은 세포간 지질층에 고농도로 존재하며 진피층내에 각질세포쪽에 양쪽으로 부착된다.

인체에서 ; 세라마이드 구조속의 분자구조의 병변은, 만성 필수지방산 결핍이 정상피부 불투과성 기능을 붕괴시키는 원인이 되어 임상적인 질환을 야기시킨다. 흥미로운 것은 식이성 필수지방산 결핍이 있을 때는 만성으로 되는데 상피세포중에 필수지방산들을 손실하게 되는 것을 비필수 오메가-9 다불포화계통(올레산 유래) 구성원으로 되어 결국 임상적인 질환으로 되는 것이다. 이러한 오메가-9 비필수지방산들은 혈액에서 각질세포에 의해 직접 흡수하도록 또는 간에 의하여 포도당으로 합성될 수도 있도록 규정식에 풍부하게 존재한다^{6,7}.



* Atlanta Animal Allergy and Dermatology, Roswell, Georgia
 ** Research and Development, The Iams Company, Lewisburg Ohio
 *** 조영웅(역자) 대한수의사회

다불포화지방산의 두개의 다른 과(Two other families of polyunsaturated fatty acids)인 오메가-6 지방산들과 오메가-3 지방산들은 정상 피부구조와 기능을 유지하는데 있어서 매우 중요한 것들이다. 델타-5와 델타-6 탈포화효소의 결핍표피의 각질세포일 경우에는 표피는 장쇄오메가-6 다불포화지방산들(리놀렌산 유래 아라키돈산과 같은 것) 또는 오메가-3 다불포화지방산들(알파-리놀렌산 유래 아이코사펜타에노이산과 같은 것)을 직접 합성할 능력이 없다. 식이성 전구물질들(Dietary precursors)은 흡수되어져서 간장에서 반합성되어 대부분 지방산으로 되며 그후 혈류를 타고 운반되어 표피각질세포들로 전달되어진다⁸⁻¹¹(그림 1).

개에서 한 오메가-6 필수 다불포화지방산은 Cis-리놀렌산이 "필수"로 분류되어진다. 리놀렌산의 Cis-이성체(trans-형은 생물학적으로 불활성임)는 신체내에서 전구물질들로부터 간에서 합성되어질 수가 없으며 직접 흡수용인 사료(규정식)로부터 본래의 구조를 독립적으로 제공되어지며 각질 세포막으로 된다¹¹. Cis-리놀렌산은 건강한 표피세포내에 정상적인 기초대사작용을 유지시키도록 요구되는 영양수준으로 흡수되게 되어 있다^{12,13}. 알파-리놀렌산의 영양학적 요구는 이론은 있으나 아직 입증되지는 않은 상태에 있다¹³.

아라키돈산은 리놀렌산에서 합성되는 다불포화지방산의 하나로 개의 표피중에서 세포막들의 인지질 부분에 결합된다. 아라키돈산은 어떤 불투과성 방어 효과(barrier protection effects)들을 제공하지는 않지만 세포막의 유동성과 안정성에 중요한 역할을 한다¹⁴.

표피의 염증질환상태에 있어서 다불포화지방산(Polyunsaturated Fatty Acids in Inflammatory Disease States of the Epidermis)

세포막-결합 아라키돈산(Membrane-bound arachidonic acid)은 아이코사노이드의 생성에 있어 가장 중요한 전구물질이다. 아이코사노이드는 하나의 군(group)으로 autocoids와 호르몬으로 되는 물질로 고려되어지고 있으며 국소적인 생물학적 영향을 높이고 그후 빠르게 대사된다.

아이코사노이드들이 리폭시제네이스(lipoxygenase)와

사이클로옥시제네이스(cyclooxygenase)효소 다단계의 대사산물들로 염증반응이 진행되는 동안 아라키돈산과 다른 다불포화지방산으로 화학반응을 일으키며 세포막 중에는 20-탄소 다불포화지방산들이 대략 270여개의 대사이도체의 큰 군이 존재하는데 이는 놀랄일이 아닌 것이다.

염증은 극도의 복합반응의 하나로 그것중 아라키돈산 대사산물이 주요 역할을 하나 단독원인체의 역할을 하는 것은 아니다. 연구 노력들로 알레르기 또는 염증성 피부증상들은 표피와 혈구세포 손상과 연관이 되어 키닌, 히스타민 및 아이코사노이드(특히 프로스타글란딘)들의 관여로 혈관변화를 일으키는 아라키돈산 대사를 시작할 뿐만아니라 보체절편(complement fragments, 면역복합체 및 아이코사노이드 특히 류코트라이인 B₄)에 의한 화학주성반응이 조정되어 진다^{8,15,16}.

염증성 피부질환에서 세포막 인지질의 가수분해가 아라키돈산 다단계 작용을 촉진시킨다. 아라키돈산은 면역학적 자극 또는 세포손상 후에 인산부가 가수분해효소(포스포릴레이스, Phosphorylase)에 의해서 각질세포, 비만세포, 대식세포, 백혈구, 혈소판, 섬유아세포 또는 혈관내피 세포막에서 방출되어 진다. 아라키돈산 대사 사이클로옥시제네이스 대사산물(프로스타글란딘 E₂, 트롬복세인 A₂)과 리폭시제네이스 대사산물 {류코트라이인 B₄, 12-Hydroxyeicosatetraenoic(12-HETE), 15-HETE}들은 매우 높은 친염증성으로 되어진다고 생각되고 있다¹⁷.

아이코사노이드들은 다양한 작용을 나타내는데 그것은 프로스타글란딘 E₂의 친염증성 작용; 백혈구 화학주성(leukocyte chemoattraction), 용해소체 효소의 자극, 및 류코트라이인 B₄에 의한 맥관삼투압 증가; 그리고 친염증성, 강력한 중호구 및 단핵세포 화학주성, 15-Hydroxyeicosatetraenoic acid(15-HETE)에 의한 항염증 작용이다¹⁷. "세포성 다단계 효과"(cellular cascade effect)의 한 형태는 류코트라이인 B₄ 수용체들이 중호성(그리고 아마 다른 세포형들도) 세포표면에 자극을 주게 된다. 이러한 결합과정을 중호성 백혈구 보충, 화학주성, 탈과립 및 더 많은 류코트라이인 B₄ 합성을 하여 염증반응을 연속시키게 된다¹⁸.

지방산들이 세포막들에 의해 방출되어질 때 그것들의 효소경로는 그들이 오메가-6 또는 오메가-3 지방산

들이나에 따라 대사되는 것이 결정되어 진다. 오메가-6 지방산들은 먼저 사이클로옥시지네이스로 친염증성인 대사산물을 생산하며 이것으로 대사되어 진다. 오메가-3 지방산들은 리폭시지네이스 경로에 의해 먼저 대사되어지고 훨씬 적은 염증작용을 갖는 조정자(mediators)를 형성한다. 그 경로는 세포막의 지방산 조성에 의해 영향을 받을 뿐만아니라 코르티코스테로이드(corticosteroid)와 비스테로이드성 소염제 같은 억제제의 존재유무와 효소들의 조직농도에 의해서도 영향을 받는다¹⁹.

세포막 결합 오메가-6과 오메가-3 지방산들의 변화의 상관용량은 아이코사노이드 조정자들의 상관용량들은 또한 변화를 유발시켜 준다¹⁹. 오메가-3 지방산의 증가는 친염증성 아이코사노이드들의 생산을 저하시키는 일과 약염증성 대사물질들의 양을 증가시켰다.

치료용 규정식(식이성) 첨가물로서의 다불포화지방산(Polyunsaturated Fatty Acids as Therapeutic Dietary Supplements)

아이코사펜타에노이산(도코사헥사에노이산, docosahexaenoic acid의 조절자)를 포함하는 규정식 첨가제들과 감마-리놀렌산(디호모-감마-리놀렌산, dihomo-gamma-linolenic acid의 조절자)은 Type 1 과민성 반응과 연관된 염증을 조절할 수 있다²⁰. 델타 탈포화효소계 결핍 표피 각질세포들에 있어서는 디호모-감마-리놀렌산은 더 이상 아라키돈산으로 대사되지 않고 오히려 표피 각질세포막화 되어진다. 창상 또는 면역학적 손상이 세포막들에 생길 때, 아이코사펜타에노이산들과 디호모-감마 리놀렌산은 리폭시지네이스와 사이클로옥시지네이스 효소(이러한 효소 기질들에 대해 아라키돈산과 직접 경쟁하고 있음)에 의해 대사되어 진다. 이것이 아라키돈산-유도 아이코사노이드들에 상관적으로 감소된 용량과 약염증성 아이코사노이드(프로스타글란딘 E₁, 트롬복세인 A₁ 및 15-HETE)의 증가된 용량의 결과를 야기시키게 된다. 이론적으로 15-HETE의 항염증 작용은 아이코사노이드 류코트라이인 B₄의 강력한 친염증성 작용을 차단시키는 그 능력에 있으며 게다가 프로스타글란딘 E₁은 경쟁적으로 손상된 세포막들로부터 방출되는 아라키돈산을 억제시킨다.

오메가-3 다불포화지방산과(Omega-3 polyunsaturated fatty acid family)에 관하여, 알파-리놀렌산은 아이코사펜타에노이산(냉수 해산어유 같은 식이 성원에서 직접 얻을 수 있는 것)과 도코사헥사에노이산과 같이 중요한 표지대사물로 흡수 및 대사되는 조절자이다. 아이코사펜타에노이산 대사물질들은 Type 1 과민성 반응과 연관된 염증을 감소시키는 것으로 발견된 바 있다^{21,22}. 아이코사펜타에노이산은 5-리폭시지네이스와 15-리폭시지네이스 효소와 결합하는데 있어서 아라키돈산과 경쟁하여 그 결과로 류코트라이인 B₅와 15-하이드록시 아이코사펜타에노이산(15-HETE)의 생산을 증가시켜 준다. 이러한 대사성 이성체들은 경쟁적으로 류코트라이인 B₄(류코트라이인 B₅보다 30~100배나 더 강력한 염증성 대사물질)의 생성을 억제한다. 아이코사펜타에노이산은 또한 약염증성 대사물질인 프로스타글란딘 E₁의 생성을 증가시켜 프로스타글란딘 E₂의 생성을 제한하도록 사이클로 옥시지네이스와 결합한다. 도코사헥사에노이산은 류코트라이인 B₄ 생성의 강력한 억제제의 하나이다¹⁹.

델타-6-탈포화효소(Delta-6-desaturase)는 리놀렌산에서 아라키돈산으로 전환하는 대사에서 속도제한 효소이다. 조사연구에서는 아토피성 피부염을 앓는 사람에서 델타-6-탈포화효소의 저하된 작용을 나타낸 바 있다²³. 아이코사펜타에노이산 또는 감마-리놀렌산을 첨가한 규정식은 소양증, 홍반 그리고 인체와 개들에 있어 아토피성 피부염과 연관된 염증이 임상적 증상이 감소되는 것으로 나타났다²²⁻²⁴.

조사연구들에서는 감마-리놀렌산, 하나의 오메가-6 지방산을 함유한 80% 이브닝 앵초유(80% evening primrose oil)와 아이코사펜타에노이산, 하나의 오메가-3 지방산 처방제품(Efa Vet Regular[®]; Efamol Vet)을 포함한 20% 냉수해산어유의 다량용법이 개에서 아토피와 연관된 임상증상을 경감시켜주는데 필요한 것으로 나타났다²⁵. 다른 조사연구에서 단독 고농도 해산어유 규정식 첨가가 개의 알레르기성 피부질환의 증상을 단기간 구제하는데 있어 유효하고 명백하게 안전한 것으로 발견되었다²⁶.

이러한 연구들은 오메가-6 대 오메가-3 지방산의 상관비율들의 치료적 중요성을 평가하도록 설계된 것이 아니라는 것은 분명하게 되었다. 조정된 오메가-6 : 오

메가-3 지방산 비율 보강 규정식을 사용하는 이론상의 타당성(rationale)은 몇개의 선결조건에 기초를 두었다. 리놀레산은 개에서 하나의 필수 식이성 요구물질이기 때문에 기초리놀레산 요구량의 적정비율을 결정하기 위해서나 더욱이 강력하게 약-염증성 지방산 대사성 프로필을 생산하는데 필요하였다. 또한 보강규정식은 경구첨가제와 연관된 축주의 불만제기 문제없이 개가 지방산을 적정량 공급받도록 하는 것을 보장할 수 있게 될 것이다.

과학적인 연구가 개에서 생체내 아이코사노이드 생산(*in vivo* eicosanoids production)에서 결정적인 규정식 비율안에서 오메가-6과 오메가-3 지방산들의 배합에 대한 효과(영향)를 측정하기 위해 연구자들에 의해서 수행되었다¹⁹. 실험사료는 멘하덴 청어유(아이코사펜타에 노이산, 20:5n-3과 도코사헥사노이산, 22:6n-3의 농축원료), 아마(알파-리놀레산, 18:3n-3의 농축원료) 및 잇꽃유(리놀레산, 18:2n-6의 농축원료)로 구성되었다¹⁹. 장기사양시험(12주간)에 건강한 실험용 비글견의 5개군을 사용하여 오메가-6:오메가-3의 비율을 5:1, 10:1, 25:1, 50:1 및 100:1로 하여 급여시켰다. 아이코사노이드는 피부, 혈장 및 중호구에서 0, 6 및 12주에 측정하였다.

기준 아이코사노이드들의 성적은 오메가-6 대 오메가-3 지방산 비율이 5:1과 10:1의 비율인 규정식을 급여시킨 개들에서는 친염증성 류코트라이인 B₄의 농도는 떨어졌고 약염증성 류코트라이인 B₅의 농도는 증가된 것으로 나타났다. 개 표피내에서의 류코트라이인 B₄의 변경은 규정식 시험기간내인 12주까지 발생하지 않았다⁴. 그 당시에 오메가-6 대 오메가-3 지방산의 비율이 5:1과 10:1의 규정식 두 종류 모두에서 혈청과 피부표면 샘플(표본)에서 류코트라이인 B₄의 현저한 감소와 류코트라이인 B₅의 현저한 증가가 일어났다. 이론적으로 피부내에서 류코트라이인 B 합성은 피부의 염증성 질환을 야기하기 위해서는 각종 정지세포(예, 각질세포)와 순환혈구(예, 비만세포, 중호구, 대식세포 등)의 세포막 인지질 조성의 변화에 따른 결과이다.

이 자료는 균형잡힌 오메가-6:오메가-3 지방산 비율들로 된 처방규정식들을 장기간 급여시키도록 하여 직접 임상적으로 적용한 것이다. 이 자료는 개에서 염

증상태(알레르기 흡입성피부염과 벼룩 알레르기성 피부염과 같은 것)의 구제에 도움이 되도록 피부내에서 아라키돈산대사의 친염증대사물을 감소시키는 것을 제시한다¹⁹.

어떤 연구자들은 임상적인 개선이 피부지방산 수준의 변화를 선행할 수 있도록 표피와 다른 조직들(HPLC 분리기술에 의한 검출)의 세포막 인지질 "새로운 지방산"화 되기 위하여는 연장된 기간이 필요하다는 선결조건을 제시한다²⁷.

소양증이 있는 개들에서 오메가-6:오메가-3 다불포화 지방산 조절 규정식의 효능
(Efficacy of an Omega-6:Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Adjusted Diet in Pruritic Dogs)

이 임상시험의 목적은 ; (1) 개의 소양증이환견의 오메가-3 다불포화 지방산 첨가(보강 수의치료용 규정식을 통해 제공)의 단계별 즉 전단계, 투여기간중 투여후의 임상증상을 평가하는 것 ; (2) 시험과정동안 혈청지방산프로필 변화를 검사하는 것 ; 그리고 (3) 환견에서 치료용 규정식을 사용할 때 기호성, 어떤 곤란한 위장계 부작용이나 축주의 불만여부를 평가하는 것이다.

확인된 흡입성 알레르기, 사료의 부작용 또는 이러한 질환들의 합병증을 가진 것들중 31마리의 임상적으로 환견이라고 판명된 개들에게 Eukanuba® Veterinary Diets® Response Formula FP™ For Dogs를 급여시켰다(표 1).

임상적으로 인정된 환견(Clinical patient dogs)들이 오메가-6 대 오메가-3 다불포화지방산 비율이 5:1인 모두 규정식들을 섭취하도록 하는 8주간의 보강 사료 시험에 참여시켰다. 동시에 전 시험기간을 통해 철저한 벼룩구제가 이루어졌다. 저감작용요법 주사프로토콜, 목욕계획 또는 추가적인 항소양제에서 무변화를 원칙으로 하였다. 모든 알레르기성 흡입견들에서 저감작용요법이 최소한 일년동안 시행되었고 최근에도 강제로 실시하였다. 시험급여기간동안 경구치료는 하지 않았다. 각각의 환견들은 임상시험에 들어간 후 0, 4 및 8주에 검사를 실시하였다. 각각의 방문 때마다 피부와 모피증세에 있어서 소양증, 홍피증, 탈모증

표 1. 8주간의 임상시험에서 사용된 Eukanuba Veterinary Diets Response Formula FP의 지방산프로필

지방산 (Fatty Acid)	이성체 (Isomer)	기호 (Symbol)	백분율(Percentage) (체중별:by Weight)
Caprylic	none	8:0	0.0
Capric	none	10:0	0.0
Lauric	none	12:0	0.0
Myristic	none	14:0	1.4
Myristoleic	cis	14:1n-5	0.0
Pentadecanoic	none	15:0	0.1
Palmitic	none	16:0	13.5
Palmiteladic	trans	16:1n-7	0.5
Palmitoleic	cis	16:1n-7	2.8
Hexadecadienoic	unkn.	16:2	0.1
Hexadecatetraenoic	unkn.	16:4	0.1
Margaric	none	17:0	0.1
Margaroleic	cis	17:1	0.1
Stearic	none	18:0	3.7
Elaidic	trans	18:1n-9	0.0
Oleic	cis	18:1n-9	37.8
Vaccenic	trans	18:1n-7	1.9
Octadecenoic	cis	18:1n-7	0.1
Linoleic	cis	18:2n-6	19.9
gamma-Linolenic	cis	18:3n-6	0.2
alpha-Linolenic	cis	18:3n-3	1.0
Stearidonic	cis	18:4n-3	0.2
Arachidic	none	20:0	0.2
Gondoic	cis	20:1n-9	2.6
Eicosaenoic	cis	20:1n-7	0.2
Eicosadienoic	cis	20:2n-6	0.6
Eicosatrienoic	cis	20:3n-6	0.5
Eicosatrienoic	cis	20:3n-3	0.1
Arachidonic	cis	20:4n-6	0.4
Eicosatetraenoic	cis	20:4n-3	0.1
Eicosapentaenoic	cis	20:5n-3	1.2
Behenic	none	22:0	0.1
Cetoleic	unkn.	22:1n-11	2.4
Erucic	cis	22:1n-9	0.3
Docosatetraenoic	cis	22:4n-6	0.1
Docosapentaenoic	cis	22:5n-3	0.3
Docosahexaenoic	cis	22:6n-3	2.3
Lignoceric	none	24:0	0.1
Nervoric	cis	24:1n-9	0.2
오메가-3 지방산(Omega-3 Fatty Acids)			5.2
오메가-6 지방산(Omega-6 Fatty Acids)			21.7

또는 다른 변화를 평가하도록 완벽한 임상검사를 하였다. 매 임상적 방문시마다 채혈되어 전혈계산(Complete Blood Counts)을 하도록 제출되었고 더욱이 혈청지방산 평가도 하였다. 추가적으로 개 소유주들은 소양증, 기호성 및 분변밀도(Stool consistency), 형태 또는 어떤 위장 계부작용들과 같은 다른 임상징후의 평가를 위해 매일 매일 실험의 기록을 유지하도록 요구하였다.

세마리의 개들이 기호성 또는 소유주의 불만제기(owner compliance issues) 문제로 제외되어 28마리의 개들이 이 규정식 시험을 마쳤다. 45%인 14마리의 개들이 개 주인과 피부전문수의사 양자에 의해 평가된 바 규정식(식이성) 변화에 대해 양호 내지는 우수한 반응을 갖는 것으로 판단 내려졌다. 8주간의 시험동안 규정식의 변화는 전혈계산(CBC, 혈소판 계수를 포

함하였고 모두 숫자적으로 정상범위내였음), 또는 산호구계산에 어떤 영향도 끼치지 않았다. 혈청오메가-3 지방산내 증가는 오메가-3 지방산 조정 사료를 급여시킨 후 관찰되었다.

이 실험자료는 개들의 소양성 피부질환들의 치료용

으로 치료적 항정상태수준(therapeutic steady state levels)이 결과로 나타나기 위하여는 수주간 오메가-3 지방산 투여를 하여야 된다는 것을 가르키는 생화학자료에 대한 보충을 제공하는 것이다.

참 고 문 헌

1. Fly AD, Johnston PV. Tissue fatty acid composition, prostaglandin synthesis, and antibody production in rats fed com, soybean, or low erucic acid rapeseed oil(canola oil). *Nutr Res*, 1990; 10:1229-1310.
2. Lands WEM, Biochemistry and physiology of n-3 fatty acids. *FASEBJ*, 1992; 6:2530-2536.
3. Hwang D. Essential fatty acids and the immune response. *FASEBJ*, 1989; 3:2052-2061.
4. Downing DT, Stewart ME, et al. Lipids of the epidermis and the sebaceous glands. In: Fitzpatrick, TB, Eisen, AZ, et al.(ed). *Dermatology in General Medicine*, 4th ed. New York: McGraw-Hill, 1933; 210-221.
5. White PD. Essential fatty acids: use in management of canine atopy. *The Compend of Small Ani Med*, 1993; 3:451-457.
6. Hou SYE, Mitra AK, et al. Membranes structures in normal and essential fatty acid-deficient stratum corneum: characterization by ruthenium tetroxide staining and X-ray diffraction. *J of Invest Dermatol*, 1991; 96:215-223.
7. Lands WEM. Renewed questions about polyunsaturated fatty acids. *Nutr Rev*, 1986; 44:189.
8. Ziboh VA, Chapkin RS. Biological significance of polyunsaturated fatty acids in the skin. *Arch of Dermatol*, 1987; 123:168a-190a.
9. Ziboh VA, Cohen KA, Ellis CN, et al. Effects of dietary supplementation of fish oil on neutrophil and epidermal fatty acids: modulation of clinical course of psoriatic subjects. *Arch Dermatol*, 1986; 122:1227.
10. Horrobin DF. Essential fatty acids in clinical dermatology. *J Amer Acad of Dermatol*, 1989; 20:1045-1053.
11. Lloyd DH, Thomsett LR. Essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopy: a preliminary study. *Vet Dermatol*, 1989; 1:41-44.
12. National Research Council. Nutrient Requirements of Dogs. Washington DC; *National Academy Press*, 1985:7.
13. Simpson JW, Anderson RS, Matkwell PJ. Clinical nutrition of the dog and cat. Oxford: *Blackwell Scientific Publication*, 1993; 22-23.
14. Elias PM, Brown BE, Ziboh VA. The permeability barrier in essential fatty acid deficiency; evidence for a direct role for linoleic acid in barrier function. *J Invest Dermatol*, 1980; 74:230-233.
15. Kojima T, Terano T, Tanabe E, et al. Long term administration of highly purified eicosapentaenoic acid provides improvement in psoriasis. *Dermatologica*, 1991; 182(4):225-230.
16. Ziboh VA, Miller CC. Essential fatty acids and polyunsaturated fatty acids: significance in cutaneous biology. *Ann Rev Nutri*, 1990; 10:433-450.
17. Kwochka KW, Review article. The structure and function of epidermal lipids. *J Vet Derm*, 1993; 4(4):151-159.
18. Charleson S, Evans JE, Zamboni RJ, et al. Leukotriene B₃, leukotriene B₄ and leukotriene B₅; binding to leukotriene B₄ receptors on rat and human leukocyte membranes. *Prostaglandins*, 1986; 32(4):503-516.
19. Vaughn DM, Reinharr GA, Swaim SF, et al. Evaluation of dietary n-6 to n-3 fatty acid ratios on leukotriene B synthesis in dog skin and neutrophils. *J Vet Derm*, 1994; 5(4):163-173.
20. Lands WEM, Biochemistry and physiology of n-3 fatty acids. *FASEBJ*, 1992; 6:2530-2536.
21. Ziboh VA, Biochemical basis for the anti-inflammatory action of gamma-linolenic acid. In: Horrobin, DF.(ed) Omega-6 essential fatty acids. Pathophysiology and roles in clinical medicine. New York: *Alan R. Liss*, 1990:55-65.
22. Logas D, Beale KM, Bauer JE. Potential clinical benefits of dietary supplementation with marine-life oil. *JAVMA*, 1991; 199: 1631~1636.
23. Bordoni A, Biagi PL, Masi M, et al. Evening primrose oil in the treatment of children with atopic eczema. *Drugs and Exper Clin Res*, 1988; 14: 291~297.
24. Wright, S. Atopic dermatitis and essential fatty acids: a biochemical basis for atopy? *Act Dermato-Vener Stockholm*, 1985; 114: 143~145.
25. Bond R, Lloyd DH. A double blind comparison of olive oil and a combination of evening primrose oil and fish oil in the management of canine atopy. *Vet Rec*, 1992; 131: 558~560.
26. Logas D, Kunkle GA. Double-blind crossover study with marine oil supplementation containing high-dose eicosapentaenoic acid for the treatment of canine pruritic skin disease. *Vet Derm*, 1994; 5(3): 99~104.
27. Campbell KL. Review article: Clinical use of fatty acid supplements in dogs. *Vet Derm*, 1993; 4(4): 167~173.