

개의 피부 결손창에서 창상수축에 대한 Chitosan, Aloevera, Fucidin Natrium 및 Premycin Ointment의 효과

최인혁 · 고재진 · 김남수¹

전북대학교 수의과대학

The Wound Contractive Effects of Chitosan, Aloe Vera, Fucidin Natrium and Premycin Ointment on Skin Defect Wound in Dogs

In-hyuk Choi, Jae-jin Ko and Nam-soo Kim¹

College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University

Abstract : This study was carried out to investigate the effects of the wound contraction of chitosan, aloe vera, fucidin natrium, and premycin ointment on defected wound from full-thickness skin defects(1 cm×1 cm). Twelve dogs were designed in 5 different positions on the dorsal thoracolumbar. We examined the effects of wound contraction every four other day 16 for days. Percentage of wound contraction based on epithelial overall area of defected wound which calculated by image analyzer and computer. Four to 8 days after wound contraction in wound defected dogs, the epithelial overall rate were the most high presented by 48.1% in the chitosan group and were the lowest by 26.8% in the premycin group. In 16 days, chitosan group were the most heigh presented by 94.4% and premycin group were the lowest by 76.5% compare to saline group of 85.9%. Thus, we conclude that the chitosan is a possible role for improvement of wound contraction by wound defected dogs.

Key word : wound, chitosan, aloe vera, fucidin natrium, premycin ointment

서 론

창상수축은 피부결손창의 치유과정에서 중요한 요소의 하나로 창연의 상피증식과 육아조직의 수축작용에 의해서 결손부가 축소 되어가는 현상이다. 육아조직의 수축에 기전에 대해서는 많은 이론들이 있었으나 myofibroblast의 수축력에 의하여 기인한다는 이론이 가장 유력하게 인정되고 있다^{5,6,16,25}. 창상의 수축은 창상주위의 피부장력에 영향을 받으며 창상의 부위에 따라서 생체에 장-단점이 될 수 있다.

따라서 창상치유에 사용되는 약제들이 창상수축에 어떤 영향을 미치는가를 충분히 이해하고 창상부위에 따라 약제가 선택되어야 할 것이나 아직 창상부위에 따라 약제가 선택되는 일은 없는 것으로 알고 있다. 이러한 원인은 창상의 수축기전이 명확하게 밝혀지지 못하고 있기 때문이라고 생각된다.

창상치유에 관한 많은 연구들은 결손창의 충전 조직인 육아조직세포의 형성이나 collagen의 형성에 관하여 이루어져 왔으나 상피세포의 피복율에 관련된 연구는 미흡한 실정이다. 근래에 창상의 치유효과를 증진시킬 수 있는 약제들이

많이 개발되고 있으나 이들 약제들이 창상의 수축에 미치는 영향이나 상피의 피복율에 대해서는 잘 밝혀져 있지 않으며 특히 상품화 되어 있는 창상 치료약제들에 대한 창상수축력이나 상피 피복율에 대한 자료를 접하기 어렵다.

따라서 본 연구에서는 최근에 창상치유효과에 대한 많은 연구가 이루어지고 있는 chitosan^{18,24,31}과 aloe^{14,16} 그리고 현재 감염의 예방과 치료 및 창면보호를 목적으로 이용되고 있는 항생제를 주성분으로 하는 fucidin ointment^{15,25}와 premycin ointment에 대한 상피의 피복율을 비교 검토하여 창상부위에 따른 약제의 선택에 기여하기 위하여 본 연구를 수행하게 되었다. 또한 본 연구에서는 창상의 수축면적이나 상피의 피복율을 측정하는데 있어서 과거에 사용하던 창상면의 최장거리와 최단거리를 측정하여 산정하던 방법이나 방안선을 이용하던 방법을 개선하기 위하여 최근에 개발된 image analyzing과 digitized and analyzed soft ware로 상피의 피복면적을 산정하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 임상적으로 건강한 성견 12두를 사용하였으며 이들의 체중은 평균 7 kg (7±1.8)이었고 평균 연령은 17개월(17.5±5.5)이었으며 성별과 품종은 고려하지 않았다.

실험견은 구충을 하고 종합백신으로 예방접종과 케이지에

¹Corresponding author.

E-mail : namsoo@chonbuk.ac.kr

이 논문은 2003년도 전북대학교 생체안전성연구소 학술연구비의 일부지원으로 이루어졌음

서 2주간 예비사육을 한 후에 실험에 사용하였다.

결손창의 유발과 처치

창상수축에 영향을 주는 피부의 장력을 동일하게 하기 위하여 개의 배측 제 5흉추에서 제 3요추사이에 정중선을 중심으로 좌우측에 가로 1 cm 세로 1 cm의 정사각형의 피부를 진피까지 적출하여 결손창을 무균상태에서 유발시켰다(Fig 1). 각 결손창은 2 cm의 간격을 두었으며 좌측에 3개 우측에 2개를 만들었다. 피부의 적출은 xylazine HCl과 ketamine HCl의 합병마취하에서 이루어졌다.

각 결손창의 출혈은 압박법으로 지혈하고 생리식염수로 세정한 후 chitosan(sunfive Co, Ltd. Japan), 겔 성상을 띤 99% 함량의 aloe vera(Aloe X, 남양알로에), fusidic acid가 주성분으로 된 fucidin ointment(Fucidin, 동화약품), 그리고 penicilline G와 streptomycin sulphate 및 prednisolone을 주성분으로 하는 premycine ointment(프레마이신, 삼우화학)를 각각의 결손창에 도포하고 건성포대를 하였으며 대조군으로는 생리식염수를 창면에 동일한 조건으로 사용하였다. 각 약제의 1일 1회씩 실험종료일까지 도포하였으며 포대는 약제 도포시 매일 교환하였다.

창면의 측정

각 결손창은 4일 간격으로 16일까지 4기로 나누어 1기는 4일째, 2기는 8일째, 3기는 12일째, 4기는 16일째 측정하였으며 창면의 측정은 창면 양측에 계측기를 대고 촬영한 사진을 영상분석장치(Color Image Analyzer, Leica Q502, Germany)를 이용하여 창상의 면적을 측정하였다.

측정된 자료는 mean ± SD로 표시하였고 각 군 간의 통계 처리는 student's t-test를 하였다.

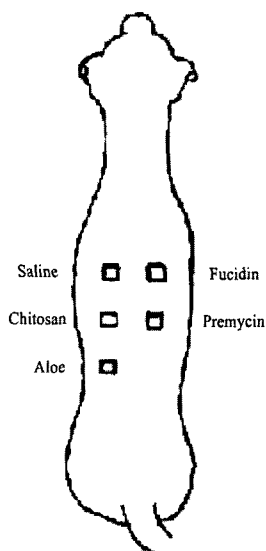


Fig 1. Diagram of experimental defected wound. Full-thickness skin defects (1 cm×1 cm) were designed in 5 positions on the dorsal thoracolumbar.

결 과

결손창의 기간별 상피 피복율은 Fig 2에 나타난 바와 같이 2기인 5-8일째에 가장 활발하게 나타났으며, 4기인 13-16일째에 가장 낮게 나타났다. 창상유발 후 4일째 까지의 1기에는 fucidin이 대조군에 비하여 다소 높은피복율을 나타내고 있었으나 유의적인 차이는 아니었다. 창상유발 후 4-8일 사이인 2기에는 chitosan의 상피피복율이 48.1±3.9%(mean ±SD)로 대조군의 39.2±5.6%에 비하여 8.9%가 증가하였으며(p<0.05), premycin 군에서는 26.8±7.1%로 12.4%가 감소(p<0.05)하였다. 창상유발 후 9일에서 12일째까지의 3기에는 대조군의 13.0±1.8%에 비하여 aloe vera 군이 19.2±1.4%로 6.2%가 증가하였으나 유의적인 차이는 아니었다. 창상을 유발한 후 13일에서 16일 가지의 4기에는 각 군 모두가 대조군의 14.7±2.3%보다 낮게 나타났으며, chitosan 군과 aloe vera 군이 8.8±1.2%, 8.4±0.9%로, 각각 5.9%와 6.3%가 낮게(p<0.05) 나타났다.

Fig 3에 나타난 것과 같이 16일 째에 측정된 각 군의 상

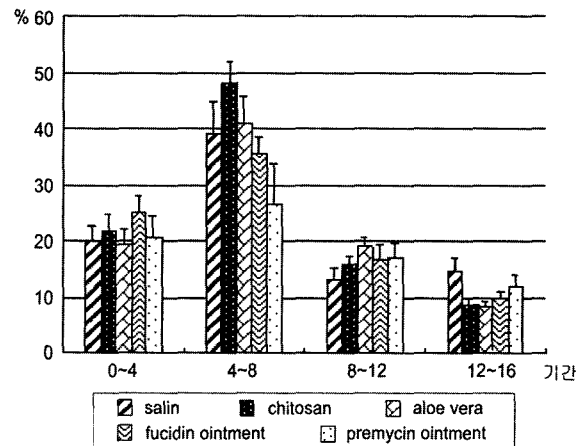


Fig 2. The percentage of epithelial overall rate according to time proceeding of each groups per period in defected wound. †Mean±SD(n=12) *P<0.05

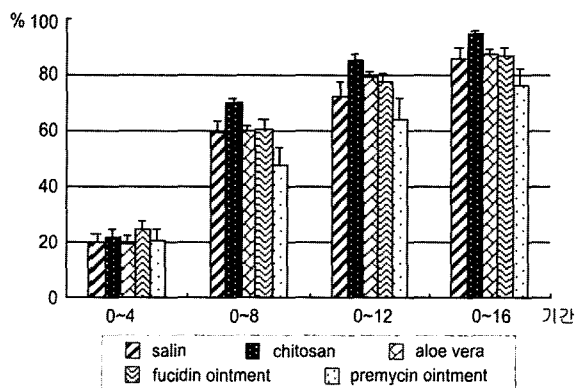


Fig 3. The percentage of epithelial overall rate according to time proceeding of each groups in defected wound. †Mean±SD(n=12) *P<0.05

피 회복율은 대조군의 $85.9 \pm 3.8\%$ 에 비하여 chitosan 군이 $94.4 \pm 1.7\%$ 로, 8.5%가 증가한 가장 높은 회복율을 나타냈으며 Premycin 군이 $76.5 \pm 5.8\%$ 로, 대조군보다 9.4%가 감소한 낮은 상피 회복율을 나타냈다($p < 0.05$).

고 찰

본 실험에서 측정된 상피의 회복율은 창면에 있는 상피세포의 증식과 이동 및 육아조직의 수축력과 장력의 영향이 복합된 결과로서 나타난 현상이다.^{2,14,18,25} 이들 현상은 독립적으로 일어나기도 하지만 상호간에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.^{14,15,18,22} 상피세포의 증식과 이동은 절개창이나 봉합된 상태에서는 24시간 이내에 창상을 덮을 수 있으나^{14,24} 개방창이나 결손창에서는 상피세포가 이동할 수 있는 가교 역할로서 육아조직이 형성되어야 하며,¹³ 육아조직이 형성되는 동안 상피세포는 증식되면서 4-5일간의 잠복기를 가지게 된다고 보고 되어 있다.²⁹ 섬유아세포에 의한 collagen의 침착은 수창 후 4일째부터 시작되는 것으로 알려져 있다.³³ 상피의 증식은 초기 8일까지 증가되고 5 mm까지는 매우 활발하게 이동이 일어난다고 보고 되어 있다.³⁶ 상피의 이동은 접촉유도인자에 의해서 일어나고 접촉억제에 의해서 상피이동이 정지되거나 회복해야 할 창면이 큰 경우나 중심부 상피의 파열 및 감염 등에 의해서 정지되는 것으로 알려져 있다.²⁹ 창상의 수축은 5-9일의 잠복기가 요구되나¹³ 실험적으로는 3일에서 49일까지 일어난다고 주장하는 학자도 있다.¹⁴ 피부의 장력과 육아조직의 구심성 수축력이 균형을 이룰 때 수축현상이 정지되는 것으로 알려져 있다.^{2,14,18,25}

본 연구의 대조군에서 창상유발 후 4일째 까지 평균 20% 전후에서 상피의 회복율을 나타낸 것은 구심성 수축력과 창면에 있는 상피의 증식으로 인한 수축현상으로 생각된다. 이것은 수창 후 6일째까지는 구심성 수축작용과 창강내 물질의 수축작용 때문에 창강의 섬유방향이 종으로 배열된다는 보고와 일치 된다.³³ 본 실험에 적용된 약제들 사이에 유의적인 차이를 나타내지 않은 것은 이들이 구심성 수축작용이나 창액의 수축에 크게 영향을 미치지 않은 것으로 생각된다.

수창 후 4-8일째에는 다른 기간보다 높은 상피의 이동을 관찰할 수 있었다. 대조군에서 다른 기간에 비하여 39.2%의 높은 수축율을 나타낸 것은 상피세포가 증식과 이동이 가장 활발한 것으로 간주할 수 있다. 이러한 상피의 이동은 육아조직의 가교 역할 없이 이루어질 수 없기 때문에 이 시기에 이미 상당한 육아조직이 형성된 것으로 생각된다. 상피세포의 증식과 이동은 수창 후 24시간 이내에 이루어질 수 있으나 결손창이나 개방창에서는 섬유아세포에 의한 collagen의 합성이 수창 후 4일째부터 일어난다는 연구의 결과들을³³ 적용한다면 이 시기에 육아조직의 수축이 일어났다고 보기는 어렵다. 그러나 상피의 이동을 위해서는 필연적으로 창강내 육아조직의 형성과 가교 역할이 이루어져야 하기 때문에 이 시기에 육아조직이 가교 역할을 할 만큼 형성되었다고 생각할 수 있다. 따라서 이 시기의 높은 창상 수축을 또는 상피 피

복율은 상피세포의 증식과 이동이 주도한 것으로 생각되며 초기에 5 mm까지 활발한 상피이동이 일어난다는 주장과 일치된다.³⁶ 각 약제를 비교한 결과에서 제 2기에 대조군의 39.2%의 수축율에 비하여 chitosan군에서는 48.1%로 22.9%가 증가한 유의적인 높은 차이를 나타낸 것은($p < 0.05$) chitosan이 상피세포의 증식과 이동이 활발하였음을 알 수 있으며 또한 이 시기에 가교 역할 할 만큼의 육아조직이 형성되었음을 인정할 수 있었다. 또한 16일까지의 관찰에서 chitosan은 94.4%의 높은 상피회복율을 나타내고 있었다. 이러한 상피 이동율은 aloe vera나 fucidine 및 premycin 보다 현저히 증가되고 있었다.($p < 0.05$) Chitosan이 상피의 재생율이나 육아조직의 형성이 증가한다는 것은 이미 여러 연구자들에 의해서 보고 된 바 있으며^{34,37,38} chitin과 chitin 유사물질이 *in vitro* 상태에서는 섬유아세포의 증식을 유발하지 않았으나 *in vivo*에서는 섬유아세포에 간접적으로 관여하며 세포의 분화를 촉진한다고 보고한 바 있다.³⁴

Aloe vera가 창상치유에 유효하다는 많은 연구가 있었으나^{8,21,22,30} 본 연구의 상피의 회복율에서는 대조군과 유의성있는 차이를 발견할 수 없었으며 이와 같은 사실은 Melissa A. W.²⁰등의 연구에서도 결손창에서 aloe의 피부수축율에 영향을 미치지 않는다고 보고한 바 있다.

본 실험에 적용한 fucidin은 2% fusidic acid를 주성분으로 하는 연고제이며 steroid와 유사한 구조를 가지고 침투력이 높은 항생제로 알려져 있다.^{13,32} 상피의 증식이나 육아조직이 형성에 영향을 미친다는 문헌을 접할 수 없었다. 본 연구결과에 있어서도 기간별 상피의 회복율이 대조군과 매우 유사함이 관찰되었다.

Premycin은 penicillin과 streptomycin 및 prednisolone을 주성분으로 하는 ointment이다. penicilline이나 streptomycin이 창상의 치유나 수축에 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있으나²⁸ steroids는 상피재생의 억제^{4,18,25}, 창상수축의 지연^{25,29}, collagen 합성의 장애, 모세혈관증식의 억제^{4,14,16} 등으로 창상치유나 상피의 재생을 억제하는 것으로 잘 알려져 있다. 본 실험의 결과에서 제2기에 대조군의 39.2%에 비하여 Premycin 군이 26.8%로 12.4%가 낮은 것이나 16일째의 회복율에서도 대조군의 85.9%보다 9.4%가 낮은 76.5%의 상피 회복율을 나타낸 것은 prednisolone의 영향 때문인 것으로 생각된다.

결 론

개의 피부에 1 cm×1 cm 결손창을 유발하여 chitosan, aloe vera, fucidin ointment, premycin ointment를 16일간 도포하고 생리식염수를 도포한 대조군과의 비교에서 상피의 회복율을 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조군에서 창면의 상피 회복율이 가장 높은 시기는 수창 후 4-8일째로 39.2%를 나타냈으며 가장 낮은 시기는 12-16일째로 14.7%를 나타내고 있었다.

2. 수창 후 4-8일 사이의 상피회복율은 chitosan이 48.1%

로 가장 높았으며 Premycin ointment는 26.8%로 가장 낮았다.

3. 전 기간의 상피 피복율은 aloe vera와 fucidin은 생리식염수군에 비하여 유의적인 차이가 없었다.

4. 수창 후 16일째에 상피의 피복율은 chitosan군이 94.4%로 가장 높았고 premycin군이 76.5%로 가장 낮았으며 생리식염군의 85.9%에 비하여 aloe vera군은 87.9%, fucidin 군은 87.3%로 유사하게 나타났다.

참 고 문 헌

1. Archibald, J., and Blakely, C. L.: Basic procedures and preoperative consideration, in Archibald, J. :Canine Surgery, ed. 2. Santa Barbara, Calif., American Veterinary Publication, Inc. 1974; pp. 22-24.
2. Bryant, W. M.: Wound healing. Clin. Symp. 1977; 29: 2.
3. Ehrlich, H. P., and Hunt, T. K.: The effects of cortisone and vitamine A on wound healing. Ann. Surg. 1968; 167: 324.
4. Gabbiani, G., Hirschel, B. J., Ryan, G. B., et al.: Granulation tissue as a contractile organ: A study of structure and function. J. Exp. Med. 1972; 135: 719.
5. Gabbiani, G., and Majno, G.: Dupuytren's contracture: Fibroblast contraction Am. J. Pathol. 1972; 66: 131.
6. Gabbiani, G., Ryan, G. B., and Majno, G.: Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. Experientia 1971; 27: 549.
7. Gerard C. Bodeker, EdD, Terence J. Ryan, DM, FRCP, Chi-Keong Ong, PhD. Traditional Approaches to Wound Healing. Clin Dermatol. 1997; 17: 93-98.
8. Graeme I. Howling, Peter W. Dettmar, Paul A. Goddard, Frank C. Hampson, Michael Dornish, Edward J. Wood. The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and keratinocytes in vitro. Biomaterials 2001; 22: 2959-2966.
9. Guillermo Avila, David Segura, Bruno Escalante et al. Antiinflammatory activity of extracts from Aloe vera gel. J Ethnopharmacol. 1996; 55: 69-75.
10. Hiroshi U., Takashi M., Toru F. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. Adv Drug Deliv Rev. 2001; 52: 105-115.
11. Hiroshi U., Haruo Y., Naoki K., Mitsunobu M., Masahiro O., Tsuyoshi K., Toru F. Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs. Biomaterials 1999; 20: 1407-1414.
12. John Turnidge. Fusidic acid pharmacology, pharmacokinetics and pharmacodynamics. Int. J Antimicrob. Agents. 1999; 12: 23-34.
13. Johnston, D. E.: The processes in wound healing. J.Am. Anim. Hosp. Assoc. 1977; 13: 186.
14. Johnston, D. E.: Wound healing arch. Am.Coll. Vet. Surg. 1974; 3: 30.
15. Keryn C. Fusidic acid non-antibacterial activity. Int J Antimicrob Agents.1999; 12: s73-s78.
16. Linna Zhang, Ian R. Tizard. Activation of a mouse macrophage cell line by acemnan : The major carbohydrate fraction from Aloe vera gel. Immunopharmacology 1996; 35: 119-128.
17. Madden, J. W.: Wound healing: Biologic and clinical features, in Sabiston, D. C. :Davis-Christopher: Textbook of Surgery, ed. 11. Philadephia, W. B. Saunders Co. 1977.
18. Majeti N.V. Ravi Kumar. A review of chitin and chitosan applications. Reactive & functional Polymer 2000; 46: 1-27.
19. Melissa A. W. M.D., Ronald G. W. M.D., FACP.Role of Topical Agents in the Healing of Full-Thickness Wound. J Dermatol Surg Oncol 1989; 15: 1188-1195.
20. P. Chithra, G. B. Sajithlal, Gowri Chandrakasan Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. J Ethnopharmacol 1998; 59: 195-201.
21. P. Chithra, G. B. Sajithlal, Gowri Chandrakasan. Influence of Aloe vera on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats.J Ethnopharmacol 1998; 59: 179-186.
22. Peacock, E. E.: Repair and regeneration, in Converse, J. M. (ed.): Reconstructive Plastic Surgery: Principles and Procedures in Correction, Reconstruction, Transplantation, ed. 2. Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1977, vol 1.
23. Peacock, E. E.: and Van Winkle, W.: Wound Repair, ed. 2. Philadelphia, W. B. Saunders Co. 1976.
24. Peh, K.; Khan, T.; Ch'ng, H. Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound. J Pharm Pharm Sci 2000; 3: 303-311.
25. Peter C., John T. Fusidic acid in vitro activity. Int J Antimicrob Agents.1999; 12: s45-s58.
26. Russell, P. s., and Billingham, R. E.: Some aspects of the repair process in mammals. Prog. Surg. 1962; 2: 1.
27. Robert H. Davis, PhD., Glenn M. Hartman, BS. et al. Anti-inflammatory and Wound healing Activity of a Growth Substance in Aloe Vera. J Am Podiatr Med Assoc 1994; 84(2): 77-81.
28. Spelman D. Fusidic acid in skin and soft tissue infections. Int J Antimicrob Agents. 1999; 12: s59-s66.
29. Steven F. Swaim,;surgery of traumatized skin. W.B. Saunders Co. 1980. p79.
30. Takashi M., Masahiro O., Mitsunobu M., Keisuke U., Seiichi T., Yoshiharu O., Saburo M. and Toru F. Effects of chitin and its derivatives on the proliferation and cytokine production of fibroblasts in vitro. Biomaterials 1997; 18: 947-951.
31. Valerie Dodane, M. Amin Khan, June R. Merwin. Effects of chitosan on epithelial permeability and structure. Int J Pharm 1999; 182: 21-342.
32. Yoshiharu O., Kenji S., Saburo M., Akira M., Shin-ichiro T., and Yoshihiro S. Evaluation of Chitin and Chitosan on open Wound Healing in Dogs. J Vet Med Sci 1995; 57(5): 851-854.
33. Yoshiharu O., Tamotsu T, Saburo M., Akira M., Norichika H. K., Shin-ichiro T., and Yoshihiro S. Effects of Chitosan on Experimental Abscess with Staphylococcus aureus in Dogs. J Vet Med Sci 1995; 57(4): 765-767.