

소양막이식편이 개의 전층 피부 창상치유에 미치는 효과

황경택 · 권오경 · 우홍명 · 김대용 · 남치주

서울대학교 수의과대학
(1999년 3월 15일 접수)

Effects of bovine amniotic membrane graft on healing of full-thickness skin wound in dogs

Kyeong-teak Hwang, Oh-kyeong Kweon, Heung-myung Woo, Dae-young Kim, Tchi-chou Nam

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

(Received Mar 15, 1999)

Abstract : The purpose of the present study was to investigate the effect of bovine amniotic membrane grafts on healing of full-thickness skin wound in dogs.

Two 3cm×3cm area-matched full-thickness skin wounds were induced bilaterally on the dorsolateral aspect of the trunk of 15 dogs. Chlorhexidine-treated amnion, dried amnion, silver sulfadiazine and 0.9% sterile saline solution were applied on the wound area and examined grossly and histopathologically.

Beginning 14 days after wounding, amnion applied group had appreciably less amount of inflammatory exudate and hemorrhage than sulfadiazine and saline treated groups.

From 14 days after wounding, the degree of wound contraction in amnion groups, especially in the dried amnion group was greater than that of the sulfadiazine and saline treated groups. The percentages of wounds completely healed on 28 days after wounding in saline treated group, chlorhexidine-treated amnion group, dried amnion group and sulfadiazine treated group were 33%, 50%, 83% and 50%, respectively.

Microscopically neovascularization and fibrosis were first noticed on 5 days after wounding in the dried amnion group and sulfadiazine treated group, on 7 days in the chlorhexidine-treated amnion group and on 14 days in the saline treated group. Epithelialization in the dried amnion and sulfadiazine treated groups was first noticed on 9 days after wounding, which was faster than that in the other groups.

The present study suggests that bovine amniotic membrane, especially dried bovine amnion is effective on healing of full-thickness skin wound in dogs through both wound contraction and epithelialization.

Key words : bovine amniotic membrane, full-thickness skin wound, wound healing, dogs.

서 론

개에서 대부분의 전층 피부창상은 의상성으로서 오염 및 감염되어 내원하므로 개방창으로 하여 치유를 유도한다. 개방성 전층 피부창상은 창상부의 크기가 작아지는 연축과 창연의 기저세포가 창상부로 이동하는 상피화를 통해 치유된다¹.

여러 창상 보호제가 개방창에 대한 적합성에 관해 검토되어 왔으나 최근에는 폐쇄성 포대(Occlusive wound dressing)가 감염원에 대한 장벽², 교원섬유 자극³ 그리고 체액소실 억제역할을 하여 창상치유시간을 단축시킨다고 하였다⁴. 생물학적 폐쇄성 포대가 합성 폐쇄성 포대보다 우수하며 생물학적 폐쇄성 포대로서 양막은 자가 이식물이나 동종이식물보다 구하기 쉬울 뿐만 아니라 면역원성이 적어 피부이식물로 널리 이용되어 왔다⁵.

Bigbie *et al*⁶은 말의 사지원위부에 적용한 말양막이 창상연축율과 상피화율을 유의적으로 촉진시키지는 않지만 창상치유시간을 유의적으로 감소시켰다고 하였으나 Howard *et al*⁷은 말의 사지원위부에 적용한 양막이 일반포대와 비교하여 창상치유에 유의성이 없다고 하였다. Ramsey *et al*⁸은 개의 체간 배외측에 유발한 전적출창에 말양막의 적용은 연축율과 상피화율을 증가시켰으며 창상부의 세균수도 유의적으로 감소시켰다고 하였다.

Gruss *et al*⁹은 피부의 조직손상에 미치는 양막의 효과에 대한 연구에서 사람양막이 사람의 장, 복막, 심낭, 혈관, 건, 신경 그리고 뼈 등 다양한 조직의 일반요법에 반응하지 않는 창상에 반응한다고 하였다.

Norris *et al*¹⁰은 glutaraldehyde 처리 사람양막을 토끼의 상부방광삼각 절제후 적용하면 상피화에 좋고 창상치유로 인해 방광과 신장기능에 유의적인 손상을 입히지 않았다고 하였다. Gray *et al*¹¹은 glutaraldehyde 처리 사람양막으로 도관을 만들어 사람의 대퇴동맥과 대동맥에 이식한 결과 개통성은 60-90% 였고 술후 3-4주에 상당한 내피화를 관찰하였다. 사람의 혈관폐양시 사람양막을 이식함으로써 재래방법보다 유의적인 증상완화가 있었다고 하였다¹².

Badaway *et al*¹³은 사람양막을 랫드의 복막에 적용하였을 때 양막이식편에 섬유아세포, 형질세포가 침입하고 맥관화가 이루어져 양막이식편은 복막대체물로 이용

될 수 있다고 하였다. Barlas *et al*¹⁴은 토끼 장에 사람양막을 적용하여 양막이식편에 신생점막 형성을 관찰하고 원주상피세포와 용모가 생성됨을 보고하였다.

각막손상시 양막을 적용한 김과 정¹⁵은 실험적으로 유발한 각결막연접부 stem cell 부족 토끼를 대상으로 한 연구에서 전각막절제술을 실시한 군은 각막에 결막상피 표현형이, 양막처리군에서는 각막상피 표현형이 나타났다고 하였다. Shimazaki *et al*¹⁶은 사람의 손상된 안구표면에 사람양막을 이식해 정상 결막상피화를 촉진시켰으며 섬유화를 억제하였다고 했다.

Rao와 Chandrasekharan¹⁷은 사람을 대상으로 사람 신선 및 건조양막과 소 건조양막을 사람의 창상에 적용한 결과 이들 양막은 생물학적 포대로서 효과적이며 안전하다고 하였으며 건조양막과 신선양막 사이에 차이는 없다고 하였다.

이에 본 연구는 소양막이식편이 개의 전층 피부창상에 미치는 효과를 알아보기 위해 개의 전층 피부창상에 여러가지 처리를 한 양막이식편을 적용하여 술후 삼출물 정도, 창상연축, 상피화 및 창상 치유율을 육안 및 병리조직학적으로 조사하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 임상적으로 건강한 잠종견 15마리를 대상으로 하였다. 5마리는 병리조직학적 관찰을 위해 배정하였고 10마리는 육안적 관찰을 위해 배정하였다. Cage에 사육하면서 사료(Purina Co.)와 물은 자유로이 급여하였다. 각각의 창상부는 건조양막군, chlorhexidine(히비탄[®], 대웅제약(주))처리 양막군, silver sulfadiazine(실바딘[®], 동화약품공업(주))를 거즈에 도포해 적용한 설파군 및 생리식염수를 거즈에 적서 적용한 대조군으로 나누었다.

양막처리 : 정상분만한 소양막을 획득하여 점액 및 혈병을 제거한 후 6cm×6cm 크기로 절단하여 각각 건조와 chlorhexidine 처리하여 용기에 보관하였다.

Chlorhexidine 처리 양막은 양막을 0.05% chlorhexidine에 1시간동안 침지하고 0.05% chlorhexidine으로 세번 세척하고 증류수로 세척한 후 0.02% chlorhexidine에 침지해서 냉장보관하였다. 양막 적용시에는 0.9% 생리식염수로 세척한 후 사용하였다⁸.

건조처리된 양막을 세척한 후 실온에서 건조시키고 자외선으로 멸균하였다¹⁷.

창상유발 : 실험견 개간 좌우 배외측을 삭모하고 atropine(황산 아트로핀[®], 제일제약(주))과 propionyl promazine(콤벨렌[®], 바이엘코리아(주))을 각각 피하 및 근육주사한 후 ketamine(염산케타민[®], 유한양행(주)) 30mg/kg을 근육 주사하여 마취하였다. 좌우 배외측 각각에 3cm×3cm 크기의 전적출창을 2곳씩 4곳에 만들었다.

창상부 처치 : 무작위로 배정한 창상부에 양막, silver sulfadiazine 및 0.9% 멸균생리식염수로 술후 1주일간은 매일, 2주째에는 이틀에 한번, 3주째에는 나흘에 한번, 4주째에는 일주일에 한번씩 적용하였다. Chlorhexidine 처리 양막군 및 건조양막군은 창상부에 적용한 후 거즈로 덮었으며 silver sulfadiazine과 0.9% 멸균 생리식염수는 거즈에 도포하거나 적셔서 적용하였다. 탄력붕대와 점착성 탄력포대(Coban[®], 3M, USA)를 사용하여 창상부를 고정시켰다.

삼출물 정도 : 삼출물은 포대 교체일마다 창상부의 삼출물 성장과 분비정도를 관찰하였다.

창상부 면적측정(육안적 관찰) : 창상유발후 0, 7, 14, 21 및 28일째에 멸균 OHP film(PC82-T1[®], SKC)에 창상부 면적을 그린 후 그 면적을 영상분석장치(Color Image Analyzer Q520, Cambrige Instrument, UK)로 측정하여 창상연축율, 상피화율 및 창상치유율을 아래의 공식에 의해 산출하였다.

창상연축율, $100 \times [(W_o - W_i) / W_o]$:

상피화율, $100 \times [(W_i - U_i) / W_o]$:

창상치유율, $100 \times [(W_o - U_i) / W_o]$

W_o: 술후 0일째 창상부면적, W_i: 측정일 창상부면적,

U_i: 측정일 미상피육아조직 면적.

병리조직학적 관찰 : 창상유발후 1, 3, 5, 7, 14, 21 및 28일째 창상부에서 biopsy puncher(BIOPSY PUNCH[®], Miltex, USA)로 조직편을 2개씩 적출하여 10% 중성 포르말린에 고정시키고 파라핀 포매후 조직절편을 만들어 hematoxylin & eosin으로 염색하였다. 창상부의 염증정도(호중구를 대상으로), 신생혈관 출현시기 및 정도, 상피재생시기 및 정도 그리고 섬유화 정도를 관찰하였다.

통계처리 : 각 군간의 연축율, 상피화율 및 치유율의 차이에 대한 유의성을 알아보기 위해 ANOVA 검정을 하였다.

결 과

창상부 삼출물의 변화 : 삼출물 성상은 각 군 모두 술후 2일째부터 심한 혈액장액성, 농성분비물 형태를 나타내었다. 삼출물 분비는 양막적용군(chlorhexidine 처리 양막군, 건조양막군)에서는 술후 14일째부터 삼출물양이 현저히 감소하였으나 대조군과 설파군에서는 술후 21일까지 서서히 감소하는 경향을 나타내었다.

창상부의 육안적 소견 : 창상 연축율은 14일째부터 양막처리군 특히 건조양막군이 타군에 비해 높은 경향을 보였으며 설파군은 낮은 증가율을 나타내었다. 그러나 각 군간의 유의적인 차이는 없었다(Fig 1).

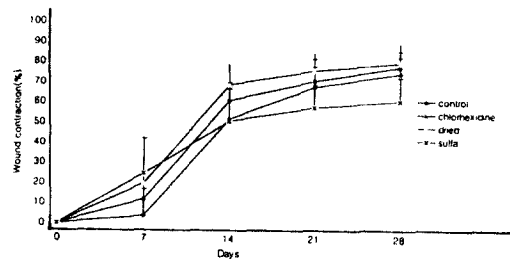


Fig 1. Mean percentage of wound contraction.

상피화율은 설파군이 다른 군에 비해 높은 증가율을 보였다. 7일째에 chlorhexidine 처리 양막군($27.62 \pm 6.10\%$)이 대조군($15.80 \pm 6.13\%$)보다, 21일째에는 설파군($37.52 \pm 7.87\%$)이 건조양막군($23.05 \pm 8.53\%$), chlorhexidine 처리 양막군($22.49 \pm 4.37\%$) 및 대조군($23.02 \pm 6.77\%$)보다 유의적으로 높았다($p < 0.05$, Fig 2).

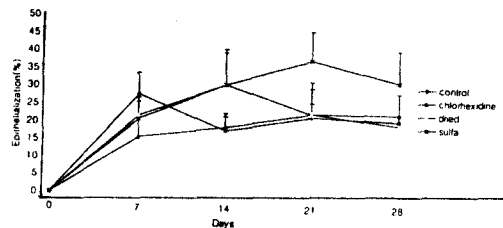


Fig 2. Mean percentage of epithelialization.

* $p < 0.05$

창상치유율은 7일째에 건조양막군($42.09 \pm 11.51\%$), 설파군($45.79 \pm 13.86\%$) 및 chlorhexidine 처리 양막군($39.36 \pm 8.11\%$)이 대조군($20.90 \pm 15.30\%$)보다 유의적으로 높았고 14일째에는 건조양막군($89.43 \pm 6.29\%$)이 대조군($71.87 \pm 14.97\%$)보다 유의적으로 높았다($p < 0.05$, Fig 3).

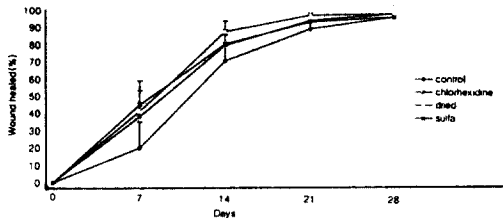


Fig 3. Mean percentage of wound healing.

*p < 0.05

창상유발 28일째에 완전치유된 창상은 대조군, chlorhexidine 처리 양막군, 건조양막군 및 설파군별로 각각 33%, 50%, 83% 및 50% 였다.

창상부의 병리조직학적 소견 : 창상유발후 28일까지 각 처리군별 염증반응, 섬유아세포, 신생혈관 및 상피화의 정도를 Table 1에 나타내었다. 술후 3일째까지 각 군 모두 심한 출혈과 화농성 염증반응을 보였으며(Fig 4) 술후 5일째에는 각 군간 출혈과 염증정도는 비슷하였으나 건조양막군과 설파군은 창상부 변연에서 창상부쪽으로 신생혈관의 출현 및 방추상의 섬유아세포 증식이 관찰되었다(Fig 5).

술후 7일째에 대조군은 여전히 출혈 및 괴사가 심하였으나 건조양막군과 설파군은 5일째에 비해 조직재생이 더욱 진행되어 창상심부에서도 관찰되었다. Chlorhexidine 처리 양막군은 창상부 변연에서 신생혈관 출현이 섬유아세포의 증식이 관찰되었다.

술후 14일째에 대조군에서 신생혈관 출현 및 섬유아

세포 증식이 관찰되었고 건조양막과 설파군은 상피화가 더욱 진행되었다. Chlorhexidine 처리 양막군은 조직재생이 창상심부에서 관찰되었다.

술후 21일째에 대조군은 조직재생이 다소 진행되었으며 건조양막과 설파군은 술후 14일째에 비해 염증반응이 현저히 감소하였으며 섬유화가 거의 완전히 진행되었고 재생상피는 얇아짐을 관찰하였다. Chlorhexidine 처리 양막군은 섬유화가 상당히 진행되었으며 상피화는 아직 미미하였다.

술후 28일째에 양막적용군과 설파군은 염증반응이 완전히 사라지고 피부 부속기관을 제외한 조직재생이 완료되었으나 대조군은 출혈과 염증반응이 있으며 조직재생이 진행중이었다(Fig 6, 7).

고 찰

양막적용군이 대조군과 설파군보다 조기에 삼출물 분비정도가 감소하였다. Ramsey *et al*⁸은 양막을 적용할 경우 창상부의 폐쇄, allantoin 및 용균 단백질인 lysosome 그리고 양막 자체의 고유한 항균작용으로 인한 감염억제로 인해 염증반응이 감소한다고 하였다. 삼출물 분비의 감소는 염증이 완화됨을 나타내는 지표의 하나로서 양막적용에 의해서 염증반응이 조기에 완화된을 알 수 있었다.

술후 5일째에 건조양막군과 설파군은 창상변연부에서 신생혈관 및 섬유아세포의 증식이 관찰되었으나 대조군

Table 1. The degree of histopathological findings after full-thickness skin wounding

Days	Inflammation				Proliferation of fibroblast				Neovascularization				Epithelialization				
	C	H	D	S	C	H	D	S	C	H	D	S	C	H	D	S	
1	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+++	+++	++	++	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
7	+++	+++	+	+	-	±	++	++	-	±	++	++	-	-	-	-	-
14	+++	+	±	±	±	+±	+++	+++	±	+±	+++	+++	-	±	+	++	++
21	+	±	-	-	+±	++	+++	+++	+±	++	+++	+++	-	+	+++	+++	+++
28	+	-	-	-	+++±	+++	+++	+++	+++±	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

C: control group, H: chlorhexidine group, D: dried group, S: silver sulfadiazine.

-: none, +: slight, ++: moderate, +++: complete or severe.

은 출혈과 염증반응만을 보였다. 이러한 병리조직 소견은 양막이 채액, 단백질, 전해질 손실을 막아주며 동통감소, 운동성 조기회복 등 포대로서 이상적인 성질을 가지고 있으며 양막에 함유된 혈관촉진인자 및 성장촉진인자에 기인하는 것으로 사료된다¹⁷.

Faulk *et al*⁸은 사람의 제양에 양막을 적용하기 전 그리고 적용한 후를 비교한 연구에서 양막적용후 현저한 육아조직 형성, 박막결합조직 형성 및 혈관형성 등을 보고하였으며 Subramanyam¹⁹는 미세피부이식편에 대한 포대로서 양막을 적용한 결과 이식편이 15배 팽창을 보였는데 이는 양막의 혈관 및 성장촉진 인자의 방향에 따른 상피화에 기인한다고 하였다. 또한 Bigbie *et al*⁶은 말의 사지원위부에 적용한 양막이 창상연축율과 상피화율을 유의적으로 촉진시키지는 않지만 창상치유시간을 유의적으로 감소시켰으며 이는 치유초기에 양막이 창상부 변연의 확장을 막는 부속역할 때문이라 하였다.

술후 14일째에 대조군에서 신생혈관과 섬유아세포의 증식이 관찰되었으며 건조양막군과 설파군에서는 창상 변연부에서 상피화가 관찰되었다. Ramsey *et al*⁸은 폐쇄성 포대가 개의 전층 피부창상치유에 미치는 효과를 비교한 실험에서 말양막이식편을 적용한 군의 상피화율은 술후 14일째에, 연축율과 치유율은 14, 21, 28일째에 유의적으로 높다고 하였으며 이는 양막에 고유한 창상치유촉진 물질이 존재함을 지지한다고 하였다. 또한 Egan *et al*²⁰은 사람의 후지만성 제양에 양막을 적용하여 조직을 관찰한 결과 혈관벽이 얇아지고 내강이 확장되는 소견을 특징적으로 보이면서 정상 혈관상으로 회복되는 변화를 보인다고 하였다. 이러한 연구결과로 보아 양막 적용군이 대조군보다 빠른 창상치유를 유도하는 것은 양막이식편이 육아조직 형성을 촉진할 뿐만 아니라 그에 따른 신속한 상피화를 유도하기 때문이라 사료된다.

설파군에서 연축율은 낮은 경향을 보였으나 상피화율은 타군에 비해 높은 증가율을 나타내었다. 이러한 결과는 돼지를 대상으로 여러 창상 보호제가 창상치유에 미치는 효과를 창상 연축율, 상피화율을 측정하여 비교한 Watcher와 Wheeland²¹의 실험결과와 일치하였다.

Ward *et al*³²은 40명의 사람의 만성 정맥성 다리궤양을 대상으로 조직배양, 동결, 신선 및 동결건조 처리한 사람양막의 창상치유에 대한 효과를 비교한 실험에서 동결건조한 양막은 저장과 사용에 편리하고 치유기간을 단축하였으나 신선 및 동결양막은 준비하기는 편리하지

만 치유기간이 동결건조에 비해 느리다고 하였으며 조직배양한 양막은 감염과 기술적인 문제로 폐기했다고 하였다. Onerici²³는 동결건조 토끼양막이 토끼의 구강점막의 창상치유를 촉진한다고 하였다. 본 실험에서 각기 다른 양막처리군(건조 및 chlorhexidine 처리)간에 창상연축율, 상피화율 및 치유율에서 유의적인 차이는 없었다. 이러한 창상부의 육안적 소견은 건조양막과 신선양막은 물리적, 생물학적 성질에서 차이가 없으며 이종양막과 동종양막은 효과에서도 차이가 없다는 Rao *et al*¹⁷의 결과와 일치하였다.

연축율과 치유율은 건조양막군이 chlorhexidine 처리 양막군에 비해 높은 경향을 보였는데 이는 건조양막군이 창상부에 적용될 때 타양막군에 비해 수분을 많이 흡수하여 양막이식편의 변위가 적기 때문인 것으로 사료된다.

이상의 결과로 보아 소양막이식편이 개의 창상치유를 촉진시키는 기전은 명확하지 않으나 양막적용군, 특히 건조양막은 연축과 상피화를 통해 창상치유를 촉진한다고 사료된다.

결 론

개의 좌우 배외측에 3cm×3cm 크기의 전적출창을 만들어 각각의 창상부에 생리식염수, chlorhexidine 처리 양막, 건조양막 및 silver sulfadiazine을 적용하여 얻은 육안 및 병리조직학적 검사결과는 다음과 같다.

삼출물은 각 군 모두 혈액장액성, 농성이었으며 양막 적용군이 대조군과 설파군보다 일찍 감소하였다.

창상 연축율은 14일째부터 양막처리군 특히 건조양막군이 타군에 비해 높은 경향을 보였으나 설파군은 낮은 증가율을 나타냈다.

상피화율은 전체적으로 설파군이 다른 군에 비해 높은 증가율을 보였으며 7일째에는 chlorhexidine 처리 양막군이 대조군보다 21일째에는 설파군이 건조양막군, chlorhexidine 처리 양막군 및 대조군보다 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$).

창상치유율은 7일째에 건조양막군, 설파군, chlorhexidine 처리 양막군이 대조군 보다 유의적으로 높았고 14일째는 건조양막군이 대조군보다 유의적으로 높았다.

병리조직학적 소견에서 창상 변연부의 신생혈관 출현 및 섬유아세포의 증식은 건조양막군과 설파군이 술후

5일째, chlorhexidine 처리 양막군이 슬후 7일째 그리고 대조군은 슬후 14일째에 관찰되었다.

이상의 결과로 보아 개에서 전층 피부창상에 소양막

이식편 특히 건조양막의 적용은 연축과 상피화를 통해 창상치유를 촉진하는 것으로 사료된다.

Legend for figures

- Fig 4. Light microscopic findings of the skin of a dog 3 days after 0.9% sterile saline solution application. Note diffuse severe neutrophilic infiltration and hemorrhage in the dermis and subcutis. H & E, $\times 200$.
- Fig 5. Light microscopic findings of the skin of a dog 5 days after dried amnion application. Neovascularization and proliferation of fibroblast were noted in the margin. H & E, $\times 200$.
- Fig 6. Light microscopic findings of the skin of a dog 28 days after dried amnion application. Epidermal regeneration and fibrosis were completed. H & E, $\times 100$.
- Fig 7. Light microscopic findings of the skin of a dog 28 days after 0.9% sterile saline solution application. Note infiltration and hemorrhage in the dermis were remained. H & E, $\times 100$.

참 고 문 헌

1. Swaim SF. Surgery of Traumatic Skin : Manegement and Reconstruction in the Dog and Cat. 1st ed. Philadelphia. WB Saunders Co, 77-97, 1980.
2. Mertz PM, Marshall DA, Eaglstein WH. Occlusive wound dressing to pervent bacterial invasion and woud infection. *J Am Acad Dermatol* , 12:662-668, 1985.
3. Alvarez OM, Mertz PM. Eaglstein WH. The effect of occlusive dressings on collagen synthesis and re-epithelialization in superpicial wounds. *J Surg Res* , 35:142-148, 1983.
4. Wolf DL, Capozzi A, Pennisi VR. Evaluation of biological dressing. *Ann Plast Surg* , 5:186-190, 1980.
5. Peter WJ. Biological dressings in burns-a review. *Ann Plast Surg* , 4:133-137, 1980.
6. Bigbie RB, Schumacher J, Swaim SF. Effects of amnion and live yeast cell derivative on second-intention healing in horses. *Am J Vet Res* , 52:1376-1382, 1991.
7. Howard RE, Stashak TS, Baxter GM. Evaluation of occlusive dressing for manegement of full-thickness excisional wounds on distal portion of the limbs of horses. *Am J Vet Res* , 54:2150-2154, 1993.
8. Ramsey DT, Pope ER, Wagner-Mann C, Berg JN, Swaim SF. Effects of three occlusive dressing materials of full-thickness skin wounds in dogs. *Am J Vet Res* , 56:941-949, 1995.
9. Gruss JS, Jirsh DW. Human amniotic membrane : a versatile wound dressing. *Can Med Assoc J* , 118: 1237-1246, 1978.
10. Norris MA, Cohen MS, Warren MM. Bladder reconstruction in rabbits with glutaraldehyde-stabilized amniotic membrane. *Urology* , 19:631-635, 1982.
11. Gray KJ, Shenaq SM, Engelmann UH. Use of human amnion for microvascular interpositional grafts. *Plast Reconstr Surg* , 79:778-785, 1986.
12. Henandez Cante CM. Amniochorial membrane in the treat of vascular ulcer. *Angiologia* , 45:112-116, 1993.
13. Badaway SZ, Baggish MS, ElBakry MM. Evaluation of tissue healing and adhesion formation after an intraabdominal amniotic membrane graft in the rat. *J Repro Med* , 41:198-202, 1989.
14. Barlas M, Gokcora H, Erekul S. Human amniotic membrane as an intestinal patch for neomucosal growth in the rabbit model. *J Pediatr Surg* , 27:597-601, 1992.
15. Kim JC, Tseng SC. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea* , 14:473-484, 1995.
16. Shimazaki J, Yang HY, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology* , 104:2068-2076, 1997.
17. Rao TV, Chandrasekharam V. Use of dry human and bovine amnion as a biological dressing. *Arch Surg* , 116:891-896, 1981.
18. Faulk WP, Matthews R, Stevens PJ. Human amnion as an adjunct in wound healing. *Lancet* , 1:1156-1158, 1980.
19. Subrahmanyam M. Amniotic membrane as a cover for microskin grafts. *Br J Plast Surg* , 48:477-478, 1995.
20. Egan TJ, O'Driscoll J, Thakar DR. Human amnion in the manegement of chronic ulceration of the lower limb : a clinicopathological study. *Angiologia* , 34:197-203, 1983.
21. Watcher MA, Wheeland RG. The role of topical agents in the healing of full-thickness wounds. *J Dermatol Surg Oncol* , 15:1188-1195, 1989.
22. Ward DJ, Bennett JP, Burgos H. The healing of chronic venous ulcers with prepared amnion. *Br J Plast Surg* , 42:463-467, 1989.
23. Onerici M. The effects of lyophilized homograft amniotic membrane on wound healing on rabbits. *Acta Otorhinolaryngol Ital* , 11:491-496, 1991.