

## 맥동성 초음파가 흰쥐 창상치유에 미치는 조직학적 변화

김계엽, 김태열, 나수영, 김경윤, 김기도  
동신대학교 물리치료학과

김종만  
서남대학교 물리치료학과

### Abstract

### The Histological Observation of the Effects of Pulsed Ultrasound on Wound Healing of Rats

Kim, Gye-yeop, Ph.D., D.V.M.

Kim, Tae-youl, Ph.D., P.T.

Na, Soo-young, M.Sc., P.T.

Kim, Kyung-yoon, M.Sc., P.T.

Kim, Gi-do, M.Sc., P.T.

Dept. of Physical Therapy, Dongshin University

Kim, Jong-man, Ph.D., P.T.

Dept. of Physical Therapy, Seonam University

The purpose of this study was to evaluate the effects of pulsed ultrasound on wound healing and observe during the wound healing process the distribution of mast cells according to histopathologic findings. Eighty Sprague Dawley rats which were divided into 4 groups received full thickness skin wounds on the back. Each of the 5 animals was sacrificed immediately and then sacrificed again 1, 3, 6, and 12 days after injury. Specimens from the wounds were removed during healing and routinely processed with a hematoxylin-eosin stain and a toluidine blue stain. The authors then observed the distribution of mast cells under a light microscope. The results of this study were as follows: The rate of wound healing and the length of the wounds of the pulsed ultrasound group II was significantly faster than group I on day 6 and day 12 ( $p < .001$ ). Group III showed the most significant effect after 12 days ( $p < .001$ ). Group IV also showed a significant effect at 12 days ( $p < .01$ ). A low-intensity ultrasound  $.5 \text{ W/cm}^2$  resulted in a fast healing rate. During the wound healing process mast cells had a tendency to decrease in the acute inflammatory phase. During the wound healing process mast cells were thought to contribute to the healing of the wound.

**Key Words:** Histopathology; Mast cell; Ultrasound; Wound healing.

### I. 서론

창상은 인간의 삶에서 매우 중요한 부분으로 창상 및 치유과정에 관해 그 동안 많은 연구가 수행되어 왔으나

물리치료 영역에서 창상치유과정은 연구가 매우 미진한 실정이다. 창상치유과정은 유해물질로부터 신체를 보호하는 방어기전의 하나로서(Woodley 등, 1985), 응괴형성 (clot formation), 재상피화(reepithelialization), 혈관형성 (angiogenesis), 섬유증식(fibroplasia), 창상수축(wound

이 논문은 한국과학재단지정 동신대학교 산업용가속기이용생물연구센터의 지원을 받았음

통신저자: 김계엽 kykim@dsu.ac.kr

contraction), 결합조직 재형성(connective tissue remodeling) 등을 수반하는 신체의 정상 염증반응이다(Clark, 1985). 손상 후 24시간 이내에 섬유소성 응괴가 손상부위에 채워지고 그 주위에 중성구(neutrophil)가 출현하며, 24~48시간 사이에는 가장자리에서 상피세포가 자라 나와 창상 표면을 덮게 된다. 3일째에는 중성구가 탐식세포(macrophage)로 대체되고 육아 조직이 창상 안으로 증식되어 들어간다. 5일째에 창상 공간이 육아조직으로 완전히 채워지고 혈관신생이 최고조에 달하며 고원섬유의 양이 많아져 창상부위를 연결하게 된다(유근주, 1988).

창상치유에 관련된 인자에는 여러 요인이 알려져 있으며 특히, 지연시키는 요인들에는 감염, 혈액 공급 장애, 불충분한 영양상태 등이 있다. 창상 치유과정 중 감염으로 인해 염증단계가 오래 지속되어 적절한 조직이 생성되지 않으면 다음 치유과정이 지연된다(대한병리학회, 2000). 임상적으로 개방성 창상은 환자의 재활과정을 지연시킬 뿐 아니라, 특히 척수나 뇌혈관 손상 환자 등에서 허혈성 피부 궤양은 심각한 합병증 중의 하나이다(Griffin 등, 1991; Sommers, 1991). 창상의 치유과정이 지연 또는 정지되면 감염의 위험이 증가하고 반흔이 많이 남게 되며 만성 창상으로 이행되어 치유가 어렵기 때문에 조기에 적절한 처치를 해야한다. 창상 치유 촉진을 위해서 여러 분야에서 다양한 방법을 이용하고 있으며, 물리치료 영역에서 초음파 치료를 이용하는 방법들이 여러 연구자들에 의해 보고되었다.

초음파는 사용방법이 간단하고 인체의 원하는 부위에 안전하게 적용할 수 있는 장점 때문에 최근 사용이 증가되고 있다. 초음파 적용시 조직내의 미세진동이 증가되면, 조직내 마찰열이 생성되어 조직의 온도를 증가시키게 된다(Dinno 등, 1989). 이에 따라 혈류량 증진, 염증반응 촉진, 세포막 투과성 증가, 통증 역치 증가 등과 같은 다양한 생리적 반응이 일어난다(Michlovitz, 1999). 초음파는 다양한 흡수계수를 가진 조직들을 통과하면서 주로 조직 내의 단백질과 세포막에 흡수되기 때문에 치료시 초음파의 형태, 강도, 치료 시간 및 손상 후 치료 시작 등 매우 다양한 변수들을 고려해야 한다(Byl 등, 1993). 최근까지의 연구에 의하면 창상치유에는 저강도의 지속적 연속초음파 치료가 효과가 있다고 한다(Kloth 등, 1990; Michlovitz, 1990). 특히 Byl 등(1992)은 절개창에 .5 W/cm<sup>2</sup>의 강도로 3일간, 1.5 W/cm<sup>2</sup>로 2일간, 1.0 MHz의 주파수로 맥동비 1:4인 맥동성 초음파를 10분간 치료하여 대조군에 비해 조직학적으로 창상에 초

음파 치료가 효과적임을 보고하였다.

초음파 치료는 창상 치유 과정에서 호중구, 호산구, 대식세포, 섬유모세포, 표피세포 등 많은 염증세포가 역동적으로 작용함으로써 창상 치유를 유도하고 있음은 잘 알려져 있다. 또한 신경조직에서는 비만세포를 매개하여 혈관에 신호를 전달함으로써 혈류량을 제어한다고 하며(Galli, 1993), 피부와 같은 상피조직에서는 신경말단의 자극이나 축삭 반사에 의해 활성화되어 탈과립이 유발된다고 하였다(Muller와 Weihe, 1991). 이와 더불어 창상치유에 중요한 세포로 알려진 비만세포(mast cell)는 혈관 투과성을 증진시키고 조직 내에 침윤된 혈장성분과 결합하여 호산구 및 호중구 등 염증세포 유주에 관여하며 염증 반응과 혈관신생 및 세포외 기질의 재흡수에 관여하여 창상치유 과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다(Hebda 등, 1993; Schechter 등, 1998).

상기의 연구결과로 보아, 비만세포는 창상의 치유과정 중 염증반응에 관여하는 중요한 세포로 생각된다. 그런데 창상 치유과정에 있어 염증이란 본질적으로 일련의 창상치유과정 중의 한 단계이므로 일련의 창상치유과정에 따른 비만세포의 출현과 분포 양상을 평가하여 봄으로써 염증과 치유과정에 있어서 비만세포의 기능을 추정할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 적용하는 초음파의 강도, 형태, 시간들에 따른 초음파의 창상치유 효과와 이에 관련된 조직학적 검사 특히 비만세포와의 관계를 나타낸 국내연구는 매우 미흡한 실정이다.

본 연구는 이와 같은 국내·외 선행연구에 기초하여 실험동물에 인위적인 절개창상을 유발시킨 뒤 초음파 치료를 실시한 후 형태학적, 조직병리학적 연구를 통하여 효과적인 초음파 치료 방법을 규명하고, 초음파 치료 시 창상치유에 관여하는 생체의 변화를 관찰하고자 한다.

## II. 연구방법

### 1. 실험설계

실험동물은 평균체중 250g, 표준편차 50의 Sprague-Dawley계 흰쥐(9주령, 웅성, 대한실험동물) 80마리를 각 군마다 20마리가 되도록 무작위 추출을 통하여 1, 3, 6 및 12일째에 5마리씩 배정하였다. 사육실은 평균온도 25°C, 표준편차 2, 평균습도 55%, 표준편차 10으로 유지하였으며, 명암은 12시간 주기로 하였으며, 고품 사료와 물은 자유롭게 먹도록 하였다. 실험군 I은 3 MHz

초음파 도자를 적용하지 않는 군이며, 실험군 II는 .5 W/cm<sup>2</sup> 강도 초음파 적용군, 실험군 III는 1.0 W/cm<sup>2</sup> 강도 초음파 적용군, 실험군 IV는 2.0 W/cm<sup>2</sup> 강도 초음파 적용군으로 하였으며 맥동비는 1:4로 적용하였다(Table 1).

각 군당 실험 개시일로부터 1일, 3일, 6일, 12일이 경과한 시기에 각각 5마리씩 희생시켜 실험에 표시하였다.

**Table 1.** Classification of experimental groups

Group	Treatment	Day			
		1	3	6	12
I	none	5	5	5	5
II	3 Mhz, .5 W/cm <sup>2</sup> (1:4)	5	5	5	5
III	3 Mhz, 1.0 W/cm <sup>2</sup> (1:4)	5	5	5	5
IV	3 Mhz, 2.0 W/cm <sup>2</sup> (1:4)	5	5	5	5

## 2. 연구방법

### 1) 마취 및 창상유발

창상유발을 위해 실험동물들의 배부 척추선을 따라 동물용 전기면도기를 사용하여 삭모하였다. 마취는 Rompun 주사액(.6 mg/kg)을 사용하여 전마취를 한 후, Ketamin(.5 mg/kg)으로 본마취를 하였다. 마취된 실험동물은 해부용 틀에 고정시킨 뒤 70%알코올로 피부소독을 하였다. 소독 후 요추3번 부위에서 외측으로 2 cm 떨어진 등쪽 피부에 수술용 칼로 크기는 .5x.5 cm, 깊이는 피하조직까지 절개창을 만들었다. 가능한 균일성을 유지하기 위해 노력하였으며 절개된 부위가 마르지 않도록 바세린 거즈와 멸균 소독된 거즈로 덮어 고정하였다.

### 2) 치료과정

흰쥐의 창상치유를 위해 3 Mhz 초음파 도자를 사용하였으며, 초음파 도자의 유효방사면적(effective radiating area; ERA)은 .5 cm<sup>2</sup>이며, 고정법으로 치료부위를 초음파 도자로 완전히 덮을 수 있게 하였다. 창상부위의 치료는 맥동성 초음파 기기(Sonoplus 590, Enraf-Nonius, Netherland)를 사용하였으며, 초음파의 강도는 .5 W/cm<sup>2</sup>, 1.0 W/cm<sup>2</sup>, 2.0 W/cm<sup>2</sup>로 적용되도록 실시하였으며 맥동성 초음파의 맥동비는 1:4로 균일하게 제공하였다. 모든 개

체는 1일 1회씩 5분간 치료를 12일 동안 실시하였다.

### 3) 수축률 측정

창상수축률 측정은 동일한 실험자가 치료 전 매일 상처의 크기 변화를 측정하기 위하여 Overhead Project(OHP)용 용지를 상처 위에 놓고 끝이 정교한 사인펜으로 상처주위를 따라 그려 상처의 크기가 그려진 OHP용지 위에 미터 그래프 용지를 놓고 다시 그렸으며 상처부위 측정선의 표시 안에 존재하는 평방 밀리미터의 수를 계산하여 측정하였다.

### 4) 병리조직학적 검사

실험동물을 경추 탈골법으로 희생시킨 후 해부용 고정틀에 고정시켰다. 수술용 메스로 창상부위를 기준으로 .5 cm<sup>2</sup> 간격 넓이로 조직을 적출하였다. 모든 군은 1, 3, 6, 12일 간격으로 5마리씩 동일한 방법으로 창상조직을 적출하였다. 적출된 조직은 10% 포르말린 용액에 고정된 후 흐르는 물에 수세한 다음 일반적인 조직의 탈수, 투명 및 침투과정을 자동조직 처리장치기<sup>1)</sup>를 사용하였다. 파라핀 블록의 제작과 냉각은 자동 포매장치<sup>2)</sup>를 사용하였으며, 제작된 파라핀 블록을 회전식 미세박절기<sup>3)</sup>를 사용하여 창상중앙부위에서 수직방향으로 4~5 μm 두께로 연속절편 하였다. 제작된 절편은 통상적인 Hematoxylin-Eosin 염색을 실시하였다. 비만세포(mast cell)를 관찰하기 위해 조직절편을 5% toluidine blue(pH .5)로 30초간 염색하고 .7N HCl로 10분간 처리한 후 탈수, 봉입하여 조직슬라이드를 제작하였다. 광학현미경<sup>4)</sup>을 사용하여 각 군의 창상조직의 회복정도를 관찰하였으며, 부착된 조직촬영기로 각 군의 조직들을 촬영하였다. 광학현미경 상에서 창상부 조직의 모세혈관 출혈 및 충혈반응과 호중구와 단핵구 등의 염증세포의 침윤 정도에 따라 다음과 같이 분류하였다. 염증반응과 염증세포의 침윤이 없는 경우 -(no lesion), 경도에서 중등도의 침윤은 +(slight to mild), 중등도의 침윤은 ++(moderate), 심한 침윤은 +++(severe)로 각각의 등급을 부여하였다.

## 3. 분석방법

통계학적 분석은 윈도우용 SPSS 10.0 프로그램을 사용

1) Model No. 4640B, Sakura, Japan.  
2) Tissue-TEX, Sakura, Japan.  
3) Rotary Microtome 2040, Sakura, Japan.  
4) Olympus BX50, Olympus Optical Co., Japan.

하였다. 맥동성 초음파에 의한 실험군의 창상치유에 대한 유의성을 검증하기 위하여 실험군별 측정시기에 따른 차이는 일요인 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였으며, 사후 검정으로 Tukey's multiple range test를 사용하였다. 각 실험군간 측정시기에 따른 측정변인에 대한 차이는 반복측정 분산분석(repeated measures ANOVA)을 실시하였다. 분석 시 유의수준  $\alpha=.05$ 로 하였다.

### III. 결과

#### 1. 창상의 육안적 변화

창상유발 직후부터 혈액과 혈청이 스며 나와 피하 출혈과 응괴가 시작되었고 2일에서 3일 동안 상처부위의 염증성 소견을 관찰할 수 있었으며, 실험 1일에는 상처부위가 약간 확장되는 것을 확인할 수 있었다.

실험군 I : 창상유발 6일까지는 혈청이 스며 나왔고 상처 주위의 붉은 테두리가 형성되는 것으로 보아 염증성 소견을 추측할 수 있었으며 치료군에 비해 넓은 범위의 부종이 관찰되었다. 실험 12일이 경과하면서 창상부위가 점차적으로 수축되는 것을 관찰할 수 있었으며 가피의 생성도 치료군에 비해 느리게 생성되는 것을 관찰할 수 있었다.

실험군 II : .5 W/cm<sup>2</sup> 강도로 초음파 치료를 한 군의 경우 1일경 상처부위가 약간 확장되면서 3일까지 다소 혈청이 스며 나오는 것을 확인할 수 있었으며 상처주위의 붉은 테두리가 나타나는 염증성 소견을 추측할 수 있었다. 실험 3일 이후부터는 상처부위의 치유율이 상당히 증가하는 것을 확인할 수 있었으며 가피의 형성도 대조군에 비해 빠르게 진행되는 것을 확인할 수 있었다. 실험 6일에는 절개된 부위의 내부가 붉은 빛을 띠는 육아조직을 관찰할 수 있었고, 12일경에는 가피의 부분적 탈락이 관찰되었다.

실험군 III : 1.0 W/cm<sup>2</sup> 강도로 초음파 치료를 한 군의 경우 1일경 상처부위가 약간 확장된 것을 확인할 수 있었으며 3일까지 약간의 혈청이 스며 나오는 것을 확인할 수 있었고 상처주위의 붉은 테두리가 나타나는 염증성 소견을 관찰할 수 있었다. 실험 3일 이후부터는 상처부위의 수축율과 가피의 형성이 대조군에 비해 상당히 빠르게 진행되는 것을 확인할 수 있었다. 실험 6일에는 절개된 부위의 안은 붉은 빛을 띠는 육아조직을 확인할 수 있었고 초음파 치료 12일 경에는 가피의 탈락이

부분적으로 관찰되었고 육아조직을 관찰할 수 있었다.

실험군 IV : 2.0 W/cm<sup>2</sup> 강도로 1일경 상처부위가 약간 확장된 것을 확인할 수 있었으며 4일까지 약간의 혈청이 스며 나오는 것을 확인할 수 있었고 상처부위의 붉은 테두리가 나타나는 염증성 소견을 관찰할 수 있었다. 실험 3일 이후부터는 창상 수축률과 가피의 형성이 실험군 II, III보다는 빠르지는 않지만 대조군보다는 빨리 진행되는 것을 확인할 수 있었다. 초음파 치료 6일째에는 절개된 부위의 안에 붉은 빛을 띠는 육아조직을 소량 확인할 수 있었으며 12일경에는 가피의 부분적 탈락이 관찰되었다.

#### 2. 창상 수축률

실험적 유발 창상 흰쥐의 창상 수축률을 1일, 3일, 6일, 12일에 각각의 개체를 측정하였다(Table 2)(Figure 1).

실험군 I : 3일 후 창상면적이 평균 .23 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .01로 8%의 수축률을 보이다가 6일 후 평균 .18 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .01로 28%, 12일 후 평균 .11 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .05로 56%의 수축률을 보였다.

실험군 II : 3일 후 창상면적이 평균 .19 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .02로 24%의 수축률을 보여 다소 유의한 차이( $p<.05$ )를 나타내다가 6일 후 평균 .10 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .02로 60%, 12일 후 창상면적이 평균 .03 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .01로 90%의 수축률을 보여 매우 유의한 차이( $p<.001$ )를 나타내었다.

실험군 III : 3일 후 창상면적이 평균 .21 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .02로 16%의 수축률을 보이다가 6일 후 평균 .13 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .02로 48%의 유의한 차이( $p<.01$ )를 나타냈고, 12일 후 평균 .03 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .01로 88%의 매우 유의한 차이( $p<.001$ )를 나타냈다.

실험군 IV : 3일 후 창상면적이 평균 .22 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .02로 12%의 수축률을 보이다가 6일 후 평균 .14 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .02로, 46%의 수축률을 보여 다소 유의한 차이( $p<.05$ )를 나타내다가 12일 후 평균 .04 cm<sup>2</sup>, 표준편차 .01로 84%의 유의한 차이( $p<.01$ )를 나타내었다. 각 군간 측정시간에 따른 창상 수축률에 대한 반복 분산분석한 결과 실험군간과 시간, 실험군 및 시간에 대한 상호작용에서도 통계학적으로 매우 유의한 차이( $p<.001$ )를 나타내었다.

**Table 2.** Change of wound closure rate(%) in skin of rat by intensity of ultrasound

Group		Day			
		1	3	6	12
I	Surface area(cm <sup>2</sup> )	.25±.01	.23±.01	.18±.01	.11±.05
	Healing rate(%)	0	8	28	56
II	Surface area(cm <sup>2</sup> )	.26±.01	.19±.02*	.10±.02***	.03±.01***
	Healing rate(%)	-4	24	60	90
III	Surface area(cm <sup>2</sup> )	.26±.01	.21±.02	.13±.02**	.03±.01***
	Healing rate(%)	-4	16	48	88
IV	Surface area(cm <sup>2</sup> )	.26±.01	.22±.02	.14±.02*	.04±.01**
	Healing rate(%)	-4	12	46	84

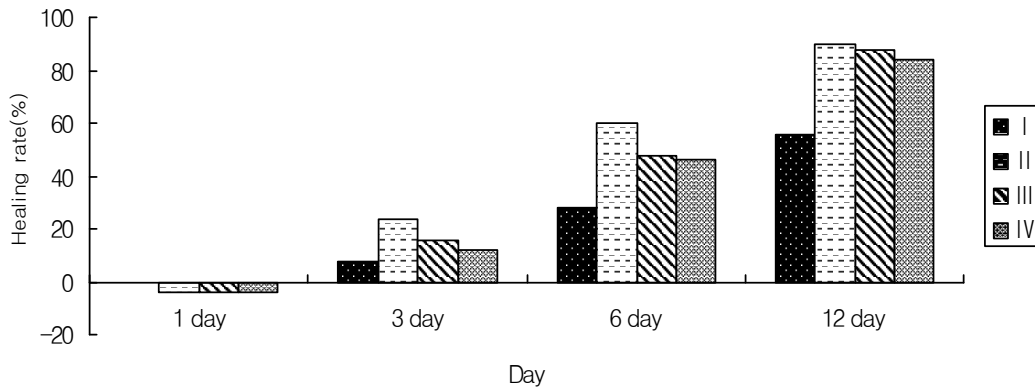
\*p<.05, \*\*p<.01, \*\*\*p<.001 as significantly different from group I

I: Control group

II: 3 MHz, .5 W/cm<sup>2</sup> Intensity

III: 3 MHz, 1.0 W/cm<sup>2</sup> Intensity

IV: 3 MHz, 2.0 W/cm<sup>2</sup> Intensity



**Figure 1.** Change of wound closure rate(%) in skin of the rat by intensity of ultrasound

### 3. 병리조직학적 변화

#### 1) 염증반응

창상유발 후 시간의 경과에 따른 각각 실험군에서의 조직학적인 염증변화는 다음과 같았으며 표피와 진피에서의 출혈, 충혈 그리고 염증세포침윤 정도에 따라 no lesion, slight to mild, moderate 및 severe로 분류하였다(Table 3).

실험군 I : 3일 후 moderate 16.6%, severe 83.3%였으며, 6일 후 moderate 33%, severe 66%, 12일 후에는 mild 16.6%, moderate 50%, severe 33%로 각각 나타났다. 이는 전체 실험군중 창상부위 회복정도가 가장 낮은 것으로 관찰되었다(Figure 2).

실험군 II : 초음파 치료 3일 후의 조직학적 소견에서 no lesion 16.6%, mild 50%, moderate 16.6%로 나타

났으며, 6일 후 no lesion 50%, mild 33.3%, moderate 16.6%의 분포를 보였으며, 12일 후에는 no lesion 50%, mild 50%로 모든 실험군중 가장 빠른 회복을 보였다(Figure 3).

실험군 III : 3일 후 mild 33.3%, moderate 50%, severe 16.6%였으며, 6일 후 no lesion 16.6%, mild 66.6%, moderate 16.6%, 12일 후 no lesion 16.6%, mild 83.3%로 창상부위 조직학적 변화가 개선되고 있음을 알 수 있었다(Table 4).

실험군 IV : 3일 후에는 mild 16.6%, moderate 50%, severe 33.3%였으며, 6일 후 mild 50%, moderate 33.3%, severe 16.6%, 12일 후에는 no lesion 16.6%, mild 83.3%, moderate 16.6%로 실험군 II, III군에 비해서는 치유정도가 다소 미약하지만 창상치유에 개선 효과가 있었다(Figure 5).

**Table 3.** Histological change in skin of the rat by intensity of ultrasound

Group	Time(day)	Micro1(%)			
		- <sup>2</sup>	+ <sup>3</sup>	++ <sup>4</sup>	+++ <sup>5</sup>
I	1	0	0	0	6/6(100)
	3	0	0	1/6(16.6)	5/6(83.3)
	6	0	0	2/6(33.3)	4/6(66.6)
	12	0	1/6(16.6)	3/6(50)	2/6(33.3)
II	1	0	0	0	6/6(100)
	3	1/6(16.6)	3/6(50)	2/6(33.3)	0
	6	3/6(50)	2/6(33.3)	1/6(16.6)	0
	12	3/6(50)	3/6(50)	0	0
III	1	0	0	0	6/6(100)
	3	0	2/6(33.3)	3/6(50)	1/6(16.6)
	6	1/6(16.6)	4/6(66.6)	1/6(16.6)	0
	12	1/6(16.6)	5/6(83.3)	0	0
IV	1	0	0	0	6/6(100)
	3	0	1/6(16.6)	3/6(50)	2/6(33.3)
	6	0	3/6(50)	2/6(33.3)	1/6(16.6)
	12	1/6(16.6)	4/6(66.6)	1/6(16.6)	0

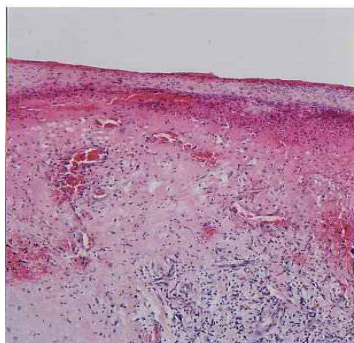
<sup>2</sup> no lesion; <sup>3</sup> Slight to mild; <sup>4</sup> Moderate; <sup>5</sup> Severe

I: Control group                                    II: 3 Mhz, .5 W/cm<sup>2</sup> Intensity  
III: 3 Mhz, 1.0 W/cm<sup>2</sup> Intensity                IV: 3 Mhz, 2.0 W/cm<sup>2</sup> Intensity

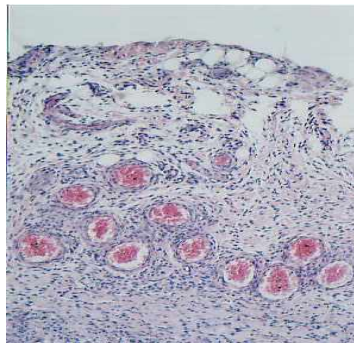
2) 비만세포의 침윤

각각의 조직은 toluidine blue염색을 하여 200배의 광학현미경 시야에서 무작위로 10군데를 선택 관찰하여 비만세포를 계수 하였다. 비만세포의 침윤이 거의 없는 경우 ±(trace), 경도에서 중등도의 침윤은 +(slight to

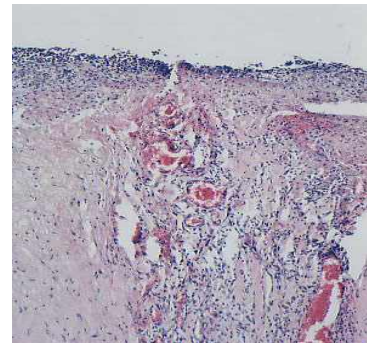
mild), 중등도의 침윤은 ++(moderate), 심한 침윤은 +++(severe)로 각각의 등급을 부여하였다(Table 4). 대체로 초음파의 강도에 따른 비만세포의 밀도 차이는 나타나지 않았지만 창상치유부위의 결합 조직층 내에서 증가하는 경향을 보였다. 창상 1일 후 소견은 중성백혈구를 비롯한 대식세포 등 염증성 세포의 침윤이 현저하였고



**Figure 2.** On 24 hour post-wounding showed severe hemorrhage and hyperemia in pulsed US 0.5 W/cm<sup>2</sup> group of incisional wound



**Figure 3.** On 3 day post-wounding of pulsed US .5 W/cm<sup>2</sup> group showed severe hemorrhage and hyperemia in capillary and diffuse infiltration of inflammatory cells

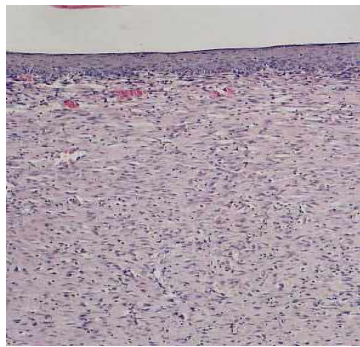


**Figure 4.** On 6 day post-wounding of pulsed US .5 W/cm<sup>2</sup> group showed moderate inflammatory response and neovascularization. the depth of collagenous tissue became thin

**Table 4.** Infiltration of mast cell in skin of the rat by intensity of ultrasound

Group	Day			
	1	3	6	12
I	± <sup>1</sup>	+ <sup>2</sup>	++ <sup>3</sup>	++
II	+	++	+++ <sup>4</sup>	+++
III	+	++	++	++
IV	±	++	++	+++

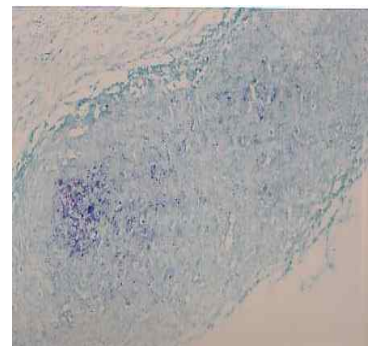
±<sup>1</sup> Trace, +<sup>2</sup> Slight to mild, ++<sup>3</sup> Moderate, +++<sup>4</sup> Severe  
 I: Control group                      II: 3 MHz, .5 W/cm<sup>2</sup> Intensity  
 III: 3 MHz, 1.0 W/cm<sup>2</sup> Intensity    IV: 3 MHz, 2.0 W/cm<sup>2</sup> Intensity



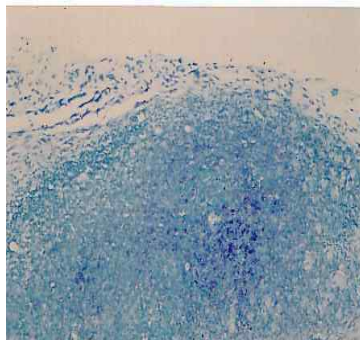
**Figure 5.** On 12 day postwounding of pulsed US .5 W/cm<sup>2</sup> group showed mild inflammatory cells and width of incisal portion became narrow



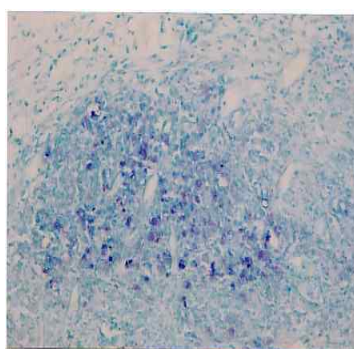
**Figure 6.** The mast cells around the granulation tissue on the 1st day after incision



**Figure 7.** The mast cells around the granulation tissue on the 3rd day after incision



**Figure 8.** The mast cells around the granulation tissue on the 6th day after incision



**Fig. 9.** The mast cells around the granulation tissue on the 12th day after incision

심한 부종과 출혈을 확인할 수 있었으며, 암자색으로 염색된 비만세포가 소수 관찰되었으며 실험군간 차이는 관찰할 수 없었다(Figure 6). 창상 3일 후 소견은 중등도의 부종상과 출혈, 현저한 염증세포의 침윤과 암자색

으로 염색된 비만세포가 실험군 I에 비해 실험군 II, III, IV에서 더 많은 비만세포가 소수 관찰되었다(Figure 7). 창상 6일 후 소견에서는 각화된 상피로 덮혀 있었으며, 미약한 부종상과, 상당수의 섬유아세포, 교원섬유,

신생모세혈관, 육아조직 등을 관찰할 수 있었으며, 암자색으로 염색된 비만세포가 산재 관찰되었으며, 실험군 II에서 가장 많이 관찰되는 것을 볼 수 있었다(Figure 8). 창상 12일 후 소견에서는 각화된 상피로 덮혀 있었으며, 풍부한 섬유아세포와 다량의 교원섬유, 성숙된 육아조직과 함께 암자색으로 염색된 비만세포가 산재 관찰되었다(Figure 9).

#### IV. 고 찰

본 연구는 창상치유에 효과적인 초음파 강도를 알아보고, 초음파 치료시 창상치유에 관여하는 조직학적 변화를 관찰하고자 하였다. 창상치유는 손상 받은 조직의 기능과 형태적 특성을 정상화시키고자 하는 생체조직의 가장 기본적인 반응이며, 세포와 조직간에 상호반응의 하나로 생명 유지에 필수적인 정상적인 반응이다(Woodley 등, 1985). 선행연구를 통한 창상의 치유기전을 살펴보면 크게 3단계인 염증기, 육아조직 형성기, 기질형성 및 재구성기로 나눌 수 있다. 그러나 창상치유는 종간, 부위별, 나이별, 개체의 상태에 따라 속도나 양상이 달라질 수 있을 것으로 예상되므로, 본 실험의 시기를 결정함에 있어서는 Richard 등(1985)의 보고에 기초를 두어 염증기 전기와 후기에 중첩되어 나타나는 시기인 창상 후 1일, 염증기가 거의 끝나가고 육아조직 형성을 시작하는 창상 후 6일 및 육아조직 형성이 끝나고 기질형성과 재구성기가 진행되는 창상 후 12일을 실험시기로 결정하였다. 창상 치유 촉진을 위해서 변연절제술 및 드레싱 방법의 개선(Agren 등, 1994), 적외선(Kloth, 1995), 자외선(Nussbaum 등, 1994), 저출력 레이저(Gelman 등, 1994) 등 물리치료 방법을 비롯하여 여러 분야에서 다양한 방법을 이용하고 있는데, 초음파 치료도 이들 중 한 가지 방법이다.

물리치료 분야에서 사용하고 있는 초음파 기기는 임무주기 양식에 따라 지속 초음파와 맥동 초음파로 분류되며, 맥동 초음파는 평균강도를 감소시키기 위하여 맥동 체계를 사용하고 있다. 맥동 초음파는 시간에 비하여 적은 에너지를 전달하고, 열 효과가 적으며, 비열 효과를 유발하고자 하며(Rosenbaum 등, 1998), 일반적으로 이용할 수 있는 맥동비는 1:2 또는 1:4이다(Pye와 Milford, 1994). 지속적 초음파는 주로 조직의 신장운동을 적용하기 전에 사용하며 조직 온도를 상승시켜 단백

질 섬유소의 신축성과 조직 유착의 정도를 변화시킴으로써 구축된 조직의 신장을 촉진시키기 위하여 사용한다(Lehmann 등, 1970). 이러한 선행 연구결과를 토대로 비온열 효과로 창상치유에 효과적인 용량을 알아보기 위해 3 MHz의 맥동성 초음파를 .5 W/cm<sup>2</sup> 와 1.0 W/cm<sup>2</sup>, 2.0 W/cm<sup>2</sup> 의 강도와 1:4의 맥동비로 창상 유발 후 24시간 이후에 1일 1회씩 5분간 초음파를 적용하였다.

Gostishchev 등(1984)은 낮은 주파수의 초음파가 상처치유기전에서 미세 순환계를 정상화시키며 대식세포 반응의 활성화 및 섬유모세포의 통합 활동과 증식을 증가시켜 교원섬유의 발생과 수화과정을 단축시킨다고 보고하였는데, 본 실험결과에서도 다른 실험군에 비해 .5 W/cm<sup>2</sup>의 강도로 치료한 군에서 빠른 치유율을 확인할 수 있었다. 실험군 II인 .5 W/cm<sup>2</sup>, 실험군 III 1.0 W/cm<sup>2</sup>, 실험군 IV 2.0 W/cm<sup>2</sup>의 강도로 치료한 군에서 대조군에 비해 모두 창상 치유율이 촉진되었는데, 이는 Byl 등(1992)이 절개창에 .5 W/cm<sup>2</sup>의 강도로 3일간, 1.5 W/cm<sup>2</sup>로 2일간, 1 MHz의 주파수로 맥동비 1:4인 맥동성 초음파를 5분간 치료한 결과 부분층 창상(partial thickness incision)에서는 대조군과 차이가 없었으나, 전층 창상에서는 창상 치유율이 높아 초음파 치료가 효과적임을 보고한 결과와 유사하였다. 하지만 피하조직에 가해지는 용량을 고려하지 않은 방법으로 생각되며 표재성 치료를 위한 3 MHz 초음파 도구를 사용하지 않았다는 문제점이 있어 차후 이와 관련된 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 높은 주파수를 사용하여 .5 W/cm<sup>2</sup> 강도와, 1.0 W/cm<sup>2</sup>, 2.0 W/cm<sup>2</sup>의 강도로 흰쥐의 창상치유에 적용한 실험군 모두에서 현저한 개선 효과를 확인하였으며 이는 Taskan 등(1997)이 보고한 높은 주파수를 사용한 저강도 치료가 창상초기 염증반응의 억제에 효과적이라는 보고와 일치하였으며, 염증세포의 침윤과 교원섬유의 재분포 정도가 대조군에 비해 효과적이었음을 확인할 있었다.

초음파 치료와 비만세포(mast cell)와의 관계는 아직 명확하게 밝혀져 있지 않으며, 이와 관련한 연구 또한 드문 실정이다. Wershil 등(1988)은 피부 비만세포가 백혈구를 침윤시키고 혈관 투과성을 증가시키며 섬유소를 침착시켜 초기염증반응을 조절하는데 기여한다고 하였다. 한편 비만세포는 결합조직, 특히 세정맥과 모세혈관 주위에 주로 분포하는 세포로 정상적으로는 기질의 구성과 점도를 조절하여 혈관과 결합조직 사이의 최적의



관계를 유지시키며(Lagnoff, 1978), 병적으로는 세포질 내 많은 염증매개인자들을 함유하고 있어 알려지성 염증이나 섬유화 등 만성 염증반응에 관여한다(Metcalf 등, 1997). 염증시 비만세포의 출현과 분포양상에 관하여 아직도 논란의 여지가 있는 것으로 사료되며, 또한 비만세포는 염증뿐만 아니라 치유과정에도 관여할 것으로 추정된다. 그런데 창상 치유과정에 있어서 염증이란 본질적으로 일련의 창상치유과정의 한 단계이므로 일련의 창상치유과정에 따른 비만세포의 출현과 분포 양상을 평가하여 봄으로써 염증과 치유과정에 있어서 비만세포의 기능을 추정할 수 있을 것으로 사료된다.

조직학적으로 비만세포를 관찰하기 위하여 비만세포가 Toluidine blue 염색시 세포질 내 과립이 이염색성을 나타낸다는 보고에 의해 염색을 시행하였다(Artuc 등, 1999). 초음파의 강도에 따른 비만세포의 밀도는 차이가 나타나지 않았으나, 창상치유과정에 따른 비만세포의 분포는 대체적으로 창상치유과정이 진행됨에 따라 창상치유부위의 결합 조직층 내에서 증가하는 경향을 보였다. 이러한 소견은 전체적으로 Sanyal(1959)의 보고와 비슷한 양상을 보였다.

본 실험에서는 관찰하지 못했지만 창상 2주일 정도에는 비만세포의 활성이 떨어져 곧 감소할 것으로 판단된다. 창상 치유과정중 초기의 급성 염증기에 비만세포의 수가 감소한 것은 비만세포가 손상에 대한 반응으로 과도한 탈과립(degranulation)을 일으켜 파괴되었기 때문으로 추정된다. 한편 급성 염증시 발견되는 조직 내 부종에 의해 비만세포의 탈과립이 야기되며, 이때 히스타민(histamine)이 유리되어 새로운 조직형성의 기질로서 관여한다고 하였다(Asboe-Hansen, 1968). 따라서 창상 치유과정 중 초기의 급성 염증기에서 비만세포는 일반적인 급성 염증 증상 발현과 함께 조직수복촉진에도 기여하는 것으로 추정된다. 한편 창상 치유과정중 육아조직을 이루는 만성 염증단계에서 비만세포의 수가 증가한 것은 초기의 급성 염증단계에서와 같은 과도한 탈과립에 의한 비만세포의 파괴현상이 감소되었기 때문인 것으로 사료된다. 본 연구에서는 비만세포의 탈과립 비율을 관찰하지 못하였지만, 탈과립 비율과 비만세포의 밀도는 밀접한 관련이 있는 것으로 보이며, 탈과립의 중요성이 인정되므로 향후 이에 대한 관찰이 필요할 것이다.

이상의 실험결과로 미루어 보아 창상치유과정에 따른 염증의 양태와 비만세포의 분포사이에는 밀접한 관계가

있다고 사료되며, 또한 창상치유과정에 있어서 비만세포의 분포는 염증의 양태에 따라 발현되는 비만세포의 탈과립의 심도에 좌우되는 것으로 추정된다. 초음파 치료와 비만세포의 밀도와 관련된 자료를 찾지 못하였지만 초음파 치료를 실시하였을 때 대체적으로 비만세포가 대조군보다 증가하는 경향을 보였다. 이는 비만세포가 혈관주위에 분포하여, 초음파 치료시 혈관신생(angiogenesis)에 관여하기 때문으로 보인다. 본 연구 결과를 통하여 창상치유 과정을 조직학적으로 이해하는데 기여하는 바가 크다고는 사료되나, 향후 미세조직학적, 분자생물학적 방법 등을 실시하여 여러 방면에서 좀 더 상세히 분석해야 할 것으로 본다.

## V. 결론

본 실험은 맥동성 초음파가 강도에 따라 흰쥐의 창상 치유에 미치는 효과를 관찰하고자 창상의 육안적 변화와 수축을 및 병리조직학적 변화를 관찰하였다. 검사법으로는 조직의 일반적인 관찰을 위한 H & E 염색, 비만 세포(mast cell) 관찰을 위한 toluidine blue(pH .5)염색을 시행하였다.

1. 창상치유율은 대조군에 비해 실험군 II(3 Mhz, .5 W/cm<sup>2</sup>)는 6, 12일에서 매우 유의한 차이를 보였고(p<.001), 실험군 III(3 Mhz, 1.0 W/cm<sup>2</sup>)은 12일에서 매우 유의한 차이를 보였다(p<.001). 실험군 IV(3 Mhz, 2.0 W/cm<sup>2</sup>)는 12일에서 유의한 차이(p<.01)를 보였으며, 실험군 중 가장 낮은 강도의 0.5 W/cm<sup>2</sup>의 강도를 적용한 실험군 II에서 가장 빠른 치유율을 확인할 수 있었다.

2. 병리조직학적 연구결과 1일경에서는 모든 실험군에서 거의 동일한 염증반응을 보였으나 시간이 경과함에 따라 실험군 IV, 실험군 III, 실험군 II순으로 미약한 염증반응을 관찰하였다.

3. 비만세포의 밀도는 초음파의 강도와는 유의한 상관관계가 없는 것으로 보이며, 창상치유과정에 따른 비만세포의 분포는 대체로 초기의 급성 염증기 때에는 감소되나, 창상 치유 과정이 진행됨에 따라 비만세포의 밀도가 증가하는 경향을 보였으며 이와 같은 결과로 창상 치유과정에 있어 비만세포는 창상치유촉진에 기여하는 것으로 추정된다.

상기의 결과를 종합하여 볼 때 실험군 II(3 Mhz, 5 W/cm<sup>2</sup>)에서 가장 양호한 창상치유 촉진 효과가 있음을 확인하였다.

## 인용문헌

- 대한병리학회. 병리학. 제 4판. 고문사. 2000;55-68.
- 유근주. 창상 치유에 대한 Laser 조사 효과의 실험적 연구. 충남대학교 대학원. 1988.
- Artuc M, Hermes B, Steckelings UM, et al. Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing-active participants or innocent bystanders. *Exp Dermatol*. 1999;8:1-16.
- Asboe-Hansen G. Mast cell in health and disease. *Bull N Y Acad Med*. 1968;44:1055.
- Agren MS, Engel MA, Mertz PM. Collagenase during burn wound healing: Influence of a hydrogel dressing and pulsed electrical stimulation. *Plast Reconstr Surg*. 1994;94(3):518-524.
- Byl NN, McKenzie AL, Wong T, et al. Incisional wound healing: A controlled study of low and high dose ultrasound. *J Orthop Sports Phys Ther*. 1993;18(5):619-628.
- Byl NN, McKenzie AL, West JM, et al. Low-dose ultrasound effects on wound healing: A controlled study with Yucatan pigs. *Acrh Phys Med Rehabil*. 1992;73:656-664.
- Clark RAF. Cutaneous tissue repair: Basic biological consideration. *J Am Acad Dermatol*. 1985;13:701-725.
- Dinno MA, Dyson M, Yound SR, et al. The significance of membrane change in the safe and effective use of therapeutic and diagnostic ultrasound. *Phys Med Biol*. 1989;34(11):1543-1552.
- Galli SJ. New concepts about the mast cell. *N Engl J Med*. 1993;28:257-265.
- Griffin JW, Tooms RE, Mendius RA, et al. Efficacy of high voltage pulsed current for healing of pressure ulcer in patients with spinal cord injury. *Phys Ther*. 1991;71:433-442.
- Gelman CL, Barroso EG, Britton CT, et al. The effect of lasers, electrocautery, and sharp dissection on cutaneous flaps. *Plast Reconstr Surg*. 1994;94:829-833.
- Hebda PA, Collins MA, Tharp MD. Mast cell and myofibroblast in wound healing. *Dermatol Clin*. 1993;11:685-696.
- Kloth LC. Physical modalities in wound management : UVC, therapeutic heating and electrical stimulation. *Ostomy Wound Manage*. 1995;41:18-27.
- Kloth LC, McCulloch JM, Feidar JA. *Wound Healing Alternatives in Management*. Philadelphia. 1990.
- Lagnoff O. Mast cell secretion, membrane events. *J Invest Dermatol*. 1978;71- 81.
- Lehmann JF, Masock AJ, Warren CG, et al. Effects of therapeutic temperatures on tendon extensibility. *Arch Phys Med Rehab*. 1970;51:481-487.
- Metcalf DD, Baram D, Mekori YA. Mast cells. *Physiology Rev*. 1997;77:1033-1079.
- Michlovitz SL. *Thermal Agents in Rehabilitation*. 2nd ed. Philadelphia. 1990.
- Michlovitz SL. *Thermal Agents in Rehabilitation*. 3rd ed. Philadelphia. 1999.
- Muller S, Weihe E. Interrelation of peptidergic innervation with mast cells and EDI-positive cells in rat thymus. *Brain Behav Immun*. 1991;5:55-72.
- Nussbaum EL, Biemann I, Mustard B. Comparison of ultrasound/ultraviolet-C and laser for treatment of pressure ulcers inpatients with spinal cord injury. *Phys Ther*. 1994;74:812-815.
- Pye SD, Milford C. The performance of ultrasound physiotherapy mechanics in Lothian Region, Scotland, 1992. *Ultrasound Med Biol*. 1994;20:347-359.
- Richard AF, Clark RA, Denver CD. Cutaneous tissue repair: Basic biologic considerations. *J Am Acad Dermatol*. 1985;13:725.
- Rosenbaum LS, Danoff JV, Guthrie JA, et al. Effect

- of energy-matched pulsed and continuous ultrasound on tumor growth in mice. *Phys Ther.* 1998;78:271-277.
- Sanyal RK. Mast cell response in aseptic inflammation. *J Pharmacol.* 1959;1:441.
- Sommers MF. *Spinal Cord Injury Functional Rehabilitation.* Appleton & Lange. 1991:29-42.
- Schechter NM, Brass LF, Lavker RM, et al. Reaction of mast cell proteases tryptase and chymase with protease activated receptors (PARs) on keratinocytes and fibroblasts. *Cell Physiol.* 1998;176:365-373.
- Taskan I, Ozyazgan I, Tercan M, et al. A comparative study of the effect of ultrasound and electrostimulation on wound healing in rats. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100:966-972.
- Woodley DT, O'Keefe EJ, Prunieras M. Cutaneous wound healing: A model for cell-matrix interactions. *J Am Acad Dermatol.* 1985;12:420-433.
- Wershil BK, Murakami T, Galli SJ. Mast cell-dependent amplification of an immunologically non-specific inflammatory response. Mast cells are required for the full expression of cutaneous acute inflammation induced by phorbol 12-myristate 13-acetate. *J Immunol.* 1988;140:2356-2360.