The Effect of Prostaglandin E1 on the Resolution of Ecchymosis

Moon Ki Lee, Seung Woo Cho, Hak Chang, Byung Jun Kim

Department of Plastic and Reconstructive Surgery, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

Abstract

It is known that the ecchymosis occurs due to the leakage of red blood cells through the blood vessels. However, few materials and methods are known for its treatment. Prostaglandin E1 expands the blood vessel and is widely used in plastic and reconstructive surgeries. We made ecchymosis on the legs of the rats, and used prostaglandin E1 as a candidate for the treatment material of ecchymosis. In this study, the ecchymosis area after 3, 4 days was significantly smaller in the experimental group than the control group. This tendency continues until the 9 days. The results of this study show that prostaglandin E1 is effective for the resolution of ecchymosis.

Keywords: Diabetic wound, Tissue oxygenation

서론

멍은 미용 수술 혹은 안면 외상 후 흔히 발생하여 환자의 삶의 질을 현격하게 떨어뜨리고 사회 생활로의 복귀를 늦추는 요인이 된다. 오래 지속되면 자외선과 반응하여 피부에 착색을 유발하는 경우도 있어 심한 경우 영구적인 문제를 만들 수도 있다[1].

멍은 적혈구가 혈관 밖으로 유출되어 발생하게 되므로, 외상 후 첫 2-3일 동안은 적혈구가 혈관 밖으로 빠져나오지 못하게 혈관을 수축시켜주는 얼음찜질 등이 도움이 된다고 알려져 있다 [2]. 반대로 2-3일이 지난 이후에는 추가적인 적혈구 유출이 적고 이미 유출된 적혈구를 혈관 내로 되돌리기 위해 반대로 혈관을 확장시키는 온찜질이 효과가 있다[3]. 멍을 감소시키는 목적으로 시판되고 있는 약제의 대다수는 멍 위에 바르는 연고로써 항염증제 등의 성분이 혼합된 제제이다[4]. 하지만 아직 멍이나 붓기를 직접적으로 호전시키는 약제 개발이 미흡하고, 효과에 비해 비용이 높은 실정이다[5].

프로스타글란딘 E1 (Prostaglandin E1)은 평활근 내의 칼슘을 떨어뜨려 평활근을 이완시키는 작용을 하는 물질로 체내에서 혈관을 확장시키는 역할을 한다. 이에 성형외과 영역에서 말초순환장애의 회복, 피판술 시행 후 혈류의 개선 등 다방면에 임상적용이 이루어지고 있다[6]. 이번 연구에서는 프로스타글란딘 E1의 혈관 확장효과가 멍의 회복에 미치는 영향을 인간과 유전정보가 비슷하며 조작이 용이한 장점을 가진 설치류 실험을 통해 밝히고자 한다. 프로스타글란딘 E1이 멍의 회복을 촉진하는 것이 증명된다면 이를 인간에게 적용해볼 수 있으며, 나아가 젤 혹은 로션 형태의 비침습적인 제재를 개발하는 연구의 초석이 될 수 있다.

방법

재료

26마리의 수컷 쥐(Sprague-Dawley rats)를 사료 및 생활 조건이 일정하도록 1주일간 적응기간을 보낸 후 실험에 사용하였다. 각 개체의 좌, 우 하지를 무작위로 실험군과 대조군으로 할당하였다. 양측 하지에 멍을 만들고 한쪽 하지에는 프로스타글란딘 E1 1 mL를 주입하여 실험군으

Original Article

Received: October 6, 2017

Revised: November 19, 2017

Accepted: November 28, 2017

Corresponding author:

Byung Jun Kim, M.D.

Department of Plastic and Reconstructive Surgery,
Seoul National University College of Medicine,
101 Daehang-ro, Jongno-gu, Seoul 03080, Korea
Tel: +82-10-8770-3104
Fax: +82-2-766-5829
Email: bjkim79@gmail.com

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2018 Korean Wound Management Society

로 하고 반대측 하지에는 생리식염수 1 mL를 주입하여 대조군으로 하였다. 실험동물 사육관리는 서울대학교 실험동물 보호 및 사용 위원회(Animal care and Use Committee of Seoul National University)의 기준을 따랐다. 본 연구는 동물실험윤리위원회의 승인을 받았다(IACUC No. 14-0221-S1A0(2), 과제번호 35-2014-0028).

방법

실험 과정

실험 과정은 아래와 같이 진행되었고, 기존의 문헌에 발표되었던 프로토콜을 변형하여 양측 하지에 멍을 유발시켰다[7].

아이소플루레인(Isoflurane)을 사용하여 쥐를 흡입마취한 뒤에, 장딴지근, 가자미근, 장딴지빗근으로 이루어진 뒷다리 장딴지근 복합체 부근에 치오글리콜산 80%로 이루어진 니크린 크림(Ildong Pharm., Anseong, Korea)을 바르고 5-10분이 지난 뒤 닦아내어 털을 제거하였다.

스탠드에 플라스틱 파이프를 고정시키고 플라스틱 파이프의 20 cm 지점에 홈을 만들어 0.5 mm 두께의 철판이 들어가도록 하였다. 이 스탠드 아래에 쥐의 배가 바닥에 닿도록 눕히고 쥐의 양쪽 뒷다리를 펴서 쇠판 위에 올려놓고 고정하였다(Fig. 1). 뒷다리 장딴지근 복합체에 플라스틱 파이프를 대고 플라스틱 파이프의 홈에 쇠판을 넣은 후 그 위에 무게 100 g, 직경 1.5 cm, 높이 6 cm 원기둥모양의 쇠를 올려놓았다. 쇠판을 빼내어 100 g의 쇠가 20 cm 높이에서 장딴지근 복합체로 떨어지게 하였다. 이와 같은 방법으로 양쪽 다리에서 각각 30회씩 반복 시행하였다.

Fig. 1. Ecchymosis rat model with a plastic pipe fixed to a stand. The 100 g iron weight was dropped from a 20-cm height to the hind muscle complex of the rats.

멍을 만든지 만 2일째 되는 날에 실험군측 하지에 미리 준비한 프로스타글란딘 E1 제제인 에글란딘®을 오금오목 정중앙 1 mm 직하방에 피하주입하였다. 대조군에는 동일한 방법으로 반대측 하지에 동량의 생리식염수를 주사하였다.

결과 분석

멍의 면적 측정

멍을 만든 직후부터 만 9일째까지 모든 살아 있는 개체에 대해 멍의 경계를 표시하고, 투명필름을 멍 위에 올려놓고 멍의 경계를 그린 뒤 이미지 J® (Image analysis Soft Image J® (Scoin Corp., Frederick, MD))를 이용해 면적을 측정하였다(Fig. 2).

표준 RGB 색상표에서 정상 쥐 피부 색깔은 #FFDCDC, #FFE6E6, #FFF0F0에 해당했고, 색상표에서 #B90000, #B93232, #B93C3C, #B94646, #B95050, #BE5A5A, #B22222, #B24040, #B24A4A, #B25454, #B75E5E, #A52A2A, #AA3E3E, #AF4848, #BA5252, #BE5C5C, #800000, #803232, #853C3C, #8F4646에 해당하는 색깔과 #8F7CEE, #9986EE, #A390EE, #AD9AEE, #B7A4EE, #C1AEEE, #7E6ECD, #8878CD, #9282CD, #9C8CCD, #A696CD, #B0A0CD, #BAAAD7에 해당하는 색깔을 멍으로 정의하고 측정하였다. 시간에 따른 멍의 감소를 구분구적법(planimetry)으로 대조군과 비교하였다.

조직학적 검사

한 마리의 쥐에서는 멍을 만들고 2일째, 즉 프로스타글란딘 E1 또는 생리식염수를 주입하기 직전에 조직 생검을 시행하여 멍의 조직학적

Fig. 2. The boundary of ecchymosis is shown. It was drawn on the translucent paper, and then measured using Image J® program.

소견을 확인하였다. 폐사한 한 마리의 쥐를 제외한 나머지 24마리의 쥐는 네 시기로 나누어 각각 6마리씩 조직 생검을 시행하였다. 생검은 멍 생성 이후 3, 5, 7, 9일째(즉, 각각 주사 주입 후 1, 3, 5, 7일째)에 시행하였다(Table 1). 쥐의 멍이 든 뒷다리 장딴지근 복합체 부위에 타원형 절개를 넣어 피부 밑 지방층(panniculus adiposus layer)과 근육층(muscle layer)까지 포함하도록 채취한 조직 표본을 10% 중성포르말린에 히드에 이틀간 고정된 후 파라핀에 포매하여 5 µm 두께의 절편을 얻었다.

헤마톡실린-에오신(Hematoxylin-Eosin) 염색을 하여 혈관 밖으로 나온 적혈구와 염증세포의 침윤을 광학현미경으로 관찰하였다. 실험군과 대조군에서 혈관 밖으로 나온 적혈구의 수와 염증세포의 침윤 정도를 시간에 따라 비교하였다.

통계적 검정

본 실험은 한 개체에서 짝대응으로 실험군과 대조군을 설정하여 개체독립이 되지 않고 정규성 가정을 만족하지 않았으므로 비모수적인 방법인 만-휘트니 검정(Mann-Whitney test)을 이용하여 통계학적 유의성을 검정하였다. $P < 0.05$ 를 통계적으로 유의하다고 판단하였다. 통계 프로그램은 IBM SPSS Version 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY)을 사용하였다.

결 과

멍의 면적

실험에 사용된 26마리 중 한 마리(#3 쥐)가 마취 합병증으로 사망하였다. 쥐의 평균 무게는 $314.6 \text{ g} (\pm 214.7)$, 최대 무게는 880 g, 최소 무게는 212 g이었다. 이미지 J[®]를 이용하여 측정된 멍의 면적을 대조군과

실험군에서 각각 측정하였다. 이 결과를 각각 멍을 만든 첫 날(day 0)의 멍 면적 대비 백분율로 환산하여 나타냈을 때, 3일째부터 실험군의 멍의 면적이 대조군보다 작은 경향이 있고, 이러한 경향은 9일째까지 유지되었다(Table 2). 3, 4일째에는 두 군의 차이에 통계적인 유의성이 관찰되었다(Fig. 3).

조직학적 검사

조직학적인 검사 결과, 멍이 발생하는 위치와 깊이가 개체마다 차이가 큰 것을 확인하였다. 즉, 근육층에 적혈구가 침윤되어 모여 있기도 하고 피부 밑 지방층(panniculus adiposus)에 산발적으로 모여 있기도 하였다. 또한 육안적으로 멍이 든 부위를 생검해서 조직학적 검사를

Fig. 3. The graph which shows ecchymoses area in the experimental and the control group. *statistically significant, C, control; E, experimental.

Table 1. Schedule table of this experiment. On the second day, biopsy was performed in one rat, followed by injection with Eglandin[®] or normal saline in 24 rats. On the 3rd, 5th, 7th, and 9th day, biopsy was performed in 6 rats, respectively

	Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8	Day 9
Eglandin [®] or NS			Inject							
Subject N	26	25	25	24	18	18	12	12	6	6
Biopsy N			1	6		6		6		6

NS, normal saline; N, number.

Table 2. The average area and the percentage of the area compared with initial area of ecchymosis in the experimental and control group. The ecchymosis area was significantly reduced in the experimental group from day 3 to day 9

		Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8	Day 9
Control	Area (cm ²)	2.7 ± 1.5	4.8 ± 2.5	2.5 ± 1.4	2.3 ± 1.0	3.0 ± 1.7	1.5 ± 0.8	1.6 ± 0.7	1.7 ± 0.7	2.2 ± 0.5	2.0 ± 0.6
	Ratio (%)	100	181	90	82	106	48	46	46	46	29
Experimental	Area (cm ²)	3.1 ± 1.3	5.9 ± 2.6	3.0 ± 1.5	1.7 ± 1.0	1.6 ± 1.2	0.8 ± 0.5	1.0 ± 0.7	0.8 ± 0.5	0.8 ± 0.4	0.6 ± 0.2
	Ratio (%)	100	191	97	55*	52*	26*	31	25	26	18
Number of rats		26	25	25	24	18	18	12	12	6	6

The asterisks present statistically significant difference between two groups, which were shown at 3, 4, and 5 postoperative days.

N, number.

Fig. 4. The serial changes of histologic evaluation of the ecchymosis. The first line represents the experimental group, while the second one represents the control group. Each row represents the histologic view on the day 3, day 7, and day 9 from the left to the right, respectively (Hematoxylin-eosin stain, $\times 100$).

했음에도 슬라이드에 적혈구가 거의 침윤되어 있지 않은 경우도 있었다(Fig. 4). 기존 문헌에서는 진피하층(subdermal layer)에 주로 적혈구가 발견되었다고 하였으나 본 실험에서는 일관적인 위치가 발견되지 않았다. 따라서 육안적으로 확인이 가능하였던 멍의 면적과 조직학적인 소견 사이에서 상관관계를 찾기가 어려웠다.

고찰

멍을 호전시키기 위해서 점질을 이용한 온도 요법 외에 직접적으로 멍을 호전시키는 방법이나 약제에 대한 정보가 미비한 상황이다[8]. 멍을 줄이기 위해 개발된 약제 중 대표적인 것은 페닐에프린 하이드로클로리드(phenylephrine hydrochloride) 등의 혈관 수축제 성분 또는 아리카(Arica) 등의 항염증제 성분이다. 시판되는 젤 제제인 베르사바아제(Versabase[®])는 물, 암모늄 아크릴로디메틸타우르산(ammonium acryloyldimethyltaurate), 알로에 가루(aloe barbadensis leaf juice powder), 알란토인(allatoin), 디소듐 EDTA (disodium EDTA), 메틸클로로이소티아졸리논(methylchloroisothiazolinone), 메틸이소티아졸리논(methylisothiazolinone) 등의 혼합물이다[4].

에글란딘[®]의 성분인 프로스타글란딘 E1은 혈관 평활근을 이완시켜 혈관을 확장시킨다. 이러한 효과로 인해 프로스타글란딘 E1은 혈류 개선을 목적으로 다방면에 임상적 적용이 이뤄지고 있다. 본 연구에서는 프로스타글란딘 E1의 혈관 확장 및 혈류 개선 효과가 외상으로 인해 혈관 밖으로 유출된 적혈구를 혈관 내로 되돌리는 기전으로도 멍을 빠르게 개선시킬 것이라는 가설하에 실험을 진행하였다[9].

육안으로 관찰한 멍의 면적을 백분율로 환산하여 날짜별로 표시했을 때, 멍을 만든 당일보다 만 1일째에 멍의 평균 면적이 높고, 2일째부터 멍의 면적이 감소하는 경향이 확인되었다. 이는 멍의 발생 기전이 혈관에서 적혈구가 빠져나오는 것임을 고려했을 때, 빠져나오는 데에 만 하루 이상의 시간이 소요되고, 2일째 이후부터 다시 혈관 안으로 돌아가는 경향이 반영된 결과로 볼 수 있다.

실험군과 대조군의 면적을 비교했을 때 프로스타글란딘 E1을 투여하면 멍의 면적이 더 빠르게 많이 감소한다는 것을 육안적으로 확인할 수 있었다. 이는 프로스타글란딘 E1의 혈관 확장효과에 의해 혈관 외로 빠져나와 있던 적혈구가 혈관 내로 들어가기 용이하였던 것이 주요 기전으로 사료된다. 멍의 감소효과는 3일 이후부터 대조군에 비해 실험군에서 더 뚜렷하게 나타나는 경향을 보였다. 특히 멍을 만든 지 3일째부터 5일째까지 실험군의 멍 면적이 통계적으로 유의하게 대조군에 비해 적은 것을 확인할 수 있었는데, 이는 프로스타글란딘 E1을 주입한 지 1일째부터 3일째의 시기에 해당한다. 6일 이후에는 통계적인 유의성을 보이지 않았다. 따라서 프로스타글란딘 E1의 혈관 확장효과와 이로 인한 멍 감소 효과는 비교적 단기간에 일어난다는 것을 알 수 있다.

조직학적 검사를 통해 적혈구의 침윤 정도를 수치화하고, 이를 관찰 시기에 따라 비교하여 육안 소견과의 상관관계를 규명하는 것이 본 연구의 목적 중 하나였으나, 실제 조직학적 소견이 일관적이지 않아 이러한 상관관계를 찾지 못하였다. 멍이 든 부위의 진피하층에 침윤된다고 알려진 적혈구가 본 연구의 조직학적 검사에서는 피부 밑 지방층, 근육층에서 일관성 없이 침윤되어 있는 것이 관찰되었다[7].

10]. 이러한 결과에 대한 해석은 두 가지로 고찰해볼 수 있다. 첫째로, 생검과 고정 및 슬라이드 제작 과정에서 오류가 있었을 수 있다. 피부 및 지방층을 포함하여 근육층까지 생검을 시행하였으나, 이를 고정 시키고 슬라이드 제작을 하는 과정에서 조직층이 서로 분리되는 경우가 많았다. 이 과정에서 적혈구의 이탈이 발생하였던 것으로 생각 이 된다.

둘째로, 혈관의 해부학적인 변이가 원인일 수 있다. 일부 개체에서 는 추를 자유낙하시키는 부분에 상대적으로 큰 표재정맥이 눈에 띄 게 팽윤되어 있었는데, 이러한 경우 조직학적 생검에서 적혈구 침윤 의 범위가 과장되어 나타날 수 있다.

프로스타글란딘 E1이 멍을 빨리 감소하게 만드는 기전을 밝히기 위해서는 본 연구의 조직학적 검사 결과를 보완하여 육안 소견을 뒷 받침하는 것이 도움이 될 것이다. 특히 면역 염색 방법을 통해 혈관 세 포를 관찰하여 혈관벽이 늘어나 있는 정도를 추가로 평가한다면, 프 로스타글란딘 E1의 혈관 확장 효과를 객관적으로 평가할 수 있고 이 기전에 의해 멍의 감소가 일어난다는 것을 증명할 수 있을 것이다.

이처럼 조직학적 검사에서 명확한 상관관계를 밝혀내지 못했다는 점뿐만 아니라, 동물실험이라 인체에 바로 적용하기 힘들다는 점, 멍 의 면적을 측정하는 데 주관적인 판단이 개입할 수 있다는 점 등은 본 연구가 가진 한계점이다. 하지만 손쉽고 안전하게 멍을 감소시킬 수 있는 방법을 제안했다는 점에 의의가 있다. 수술이나 외상 후 발생 하는 멍이 미용적으로 문제를 일으키는 경우는 흔하지만 이에 대한 치료제는 많이 알려져 있지 않은 실정이고, 그 효과가 미미하고 고가 인 경우가 대부분이다. 에글란딘®은 유효성과 안전성이 증명되어 임 상적으로 많이 사용하고 있는 약제이다[11]. 본 연구에서는 이러한 에 글란딘®이 통계적으로 유의하게 멍의 면적을 더 빠르게, 많이 감소시 키는 것을 확인할 수 있었으며, 추후 동물실험 뿐만 아니라 임상 단계 의 연구에서 유효성 및 안전성이 입증된다면 임상적으로 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

결 론

본 연구에서 멍이 든 쥐의 뒷다리에 프로스타글란딘 E1 제제인 에글 란딘®을 투여하면 생리식염수를 투여한 군에 비해 멍의 면적이 더 빠 르게, 많이 감소한다는 것을 육안적으로 확인할 수 있었다. 이러한 결 과를 일으키는 주된 기전은, 프로스타글란딘 E1의 혈관 확장효과에 의해 혈관 밖으로 빠져나와 있던 적혈구가 더 용이하게 혈관 안으로 들어가기 때문인 것으로 사료된다. 조직학적인 상관관계를 증명하는 데에는 실패하여 향후 추가적인 조직학적 검사를 통해 육안 소견을 뒷받침하거나, 면역염색 등을 통해 혈관세포를 관찰하여 혈관벽의 확장 정도를 추가로 평가한다면 본 연구에서 밝혀낸 육안적 효과를 뒷받침할 수 있을 것이고, 프로스타글란딘 E1이 멍의 감소에 미치는 기전을 더 명확하게 밝힐 수 있을 것이라 사료된다.

Conflict of interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

1. Dwyer CM, Cuddihy AM, Kerr REI, et al. Skin pigmentation due to minocycline treatment of facial dermatoses. *Br J Dermatol* 1993;129:158-62.
2. Nestor MS, Ablon GR, Stillman MA. The Use of a Contact Cooling Device to Reduce Pain and Ecchymosis Associated With Dermal Filler Injections. *J Clin Aesthet Dermatol* 2010; 3:29-34.
3. Balci Akpınar R. The effect of local dry heat pack application on recovering the bruising associated with the subcutaneous injection of heparin. *J Clin Nurs* 2013;22:2531-5.
4. DeMeo RF. Topical medications for bruises and burns. Google Patents; 2016.
5. Malone MH, John-Allan KMS, Bejar E. Brucine lethality in mice. *J Ethnopharmacol* 1992;35:295-7.
6. Tønseth KA, Sneistrup C, Berg TM. Prostaglandin E1 Increases Microcirculation in Random Pattern Flaps on Rats Measured with Laser Doppler Perfusion Imaging. *Plast Reconstr Surg Glob Open* 2017;5:e1202.
7. Hwang K, Choi HG, Kim DJ, et al. The effect of hydrolyzed gardeniae fructus extract hydrogel on the treatment of ecchymoses in a rat model. *Dermatol Surg* 2009;35:1525-31.
8. Amaniyan S, Varaei S, Vaismoradi M, et al. Effect of local cold and hot pack on the bruising of enoxaparin sodium injection site: a randomized controlled trial. *Contemp Nurse* 2016;52:30-41.
9. Duncan HJ, Faris IB, DeYoung NJ. The effectiveness of local injections of vasodilating agents to produce vasodilation in subcutaneous tissue in rabbits. *Clin Physiol* 1985;5:71-80.
10. King M. The Management of Bruising following Nonsurgical Cosmetic Treatment. *J Clin Aesthet Dermatol* 2017;10:E1-E4.
11. Ribes H, Megias J, Ricart J, et al. CP-078 Prostaglandin E1 injection after arterial compromise related to hyaluronic acid filler. *Dermatol Surg* 2017;24:A34-A35.