creative commons
COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

박사학위논문

당뇨병성 족부 궤양 쥐 모델에서
신경블록과 아연 정맥주사의 상처치유 효과

제주대학교 대학원

의학과 마취통증의학 전공

신 유 솜

2016 년 6 월

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

당뇨병성 족부 궤양 쥐 모델에서

신경블록과 아연 정맥주사의 상처치유 효과

지도교수 박 종 국

신 유 솜

이 논문을 의학 박사 학위논문으로 제출함

2016 년 6 월

신유솜의 의학 박사 학위논문을 인준함

심사위원장 _____

위 원 _____

위 원 _____

위 원 _____

위 원 _____

제주대학교 대학원

2016 년 6 월

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

목 차

LIST OF TABLES ---------- 1

LEGENDS OF FIGURES ---------- 2

영문초록 ---------- 3

국문초록 ---------- 5

I. 서 론 ---------- 7

II. 대상 및 방법 ---------- 9

III. 결 과 ---------- 13

IV. 고 찰 ---------- 19

V. 결 론 ---------- 23

VI. 참고문헌 ---------- 24

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

LIST OF TABLES

Table 1. Histological analysis of control and three diabetic foot ulcer groups -- 14

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

LEGENDS OF FIGURES

Figure 1. A photograph of a full thickness wound and an ultrasound image of sciatic nerve block ---------- 15

Figure 2. Macroscopic findings of the wound surface area differences ---------- 16

Figure 3. Photomicrographs of skin sections: H&E staining ---------- 17

Figure 4. Photomicrographs of skin sections: Masson's trichrome staining ------ 18

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Abstract

Background: Patients with diabetic foot ulcer (DFU), a common and serious complication of diabetes, have a high risk of limb amputation followed by higher five-year mortality rates than those for several types of cancer. In cases of DFU, nerve block may be used, either as regional anesthesia for limb amputation or as analgesia for pain management. It is already known that regional anesthesia can be beneficial in vascular access surgery, due to a sympathectomy-like vasodilation effect promoting the circulation of blood, which has a good influence on wound healing of DFU. Zinc, furthermore, can help wound healing as a cofactor. In the present study, we evaluated the effects of nerve block alone and with zinc on wound healing in diabetic rats.

Methods: Fifteen male Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats were equally divided into three DFU groups: a non-treated group (group 2), a nerve-block group (group 3), and a combination group treated with both nerve-block and intravenous zinc (group 4). Five additional male Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) rats were assigned to a control (non-diabetic, group 1) group. A full-thickness wound (5 mm x 5 mm) was made in all of the rats' left dorsal foot, which was treated with sciatic nerve block alone (group 3) or additionally with intravenous zinc (group 4) on day 1 after injury. On day 13, the wound size was measured and histologic examination was performed with hematoxylin and eosin (H&E) and Masson's trichrome staining. The results were recorded as mean ± SD and compared using the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Results: The wound surface area differences among the three DFU groups were not statistically significant ($P = 0.40$). That is to say, the treatments effected no histologic differences among the three DFU groups.

Conclusion: Neither intermittent nerve-block alone or with intravenous zinc affects wound healing associated with DFU, though the gross findings indicated that nerve-block promotes better wound healing. Even if these results are not generalizable, they certainly will help further DFU research.

Keywords: diabetic foot ulcer, nerve block, wound healing, zinc

Student Number: AD20116002

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

당뇨병성 족부 궤양 쥐 모델에서

신경블록과 아연 정맥주사의 상처치유 효과

배경: 당뇨 환자에서 족부 궤양이 생기면 이로 인한 하지 절단의 위험이 높아지며 이때 5년 사망률은 몇몇 암보다도 더 증가하게 된다. 이러한 이유로 당뇨병성 족부 궤양을 잘 치료해 보려는 많은 시도들이 계속되고 있다. 신경블록과 아연 정맥주사도 이러한 맥락에서 당뇨병성 족부 궤양 치료에 쓰일 수 있는 가능성을 타진하고자 한다. 신경블록은 부위마취의 교감신경절제 유사 효과로 인해 혈관이 확장되고 혈류가 증가되므로 혈관 관련 수술에서는 부위마취가 유익하다고 이미 알려져 있다. 또한 아연은 상처치유에 보조인자로 밝혀져 있다.

방법: 18주령 이후에 유전적으로 당뇨가 발현되는 총 15 마리의 Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) 쥐를 치료하지 않은 군, 신경블록만 시행한 군, 신경블록과 아연 정맥주사를 함께 시행한 군의 세 군에 다섯 마리씩 배정하였다. 총 다섯 마리의 Long-Evans Tokusima Otsuka (LETO) 쥐를 OLETF 쥐의 대조군으로 하였다. 모든 쥐의 좌측 발등 피부에 전 두께(full-thickness)로 5 mm × 5 mm의 상처를 만들어 당뇨병성 족부 궤양을 만들고 다음 날부터 좌골신경블록과 아연 정맥주사를 시작하였다(day 1). 좌골신경블록과 아연 정맥주사 시작 13일째에 상처 크기를 다시 측정하고 상처 부위의 피부 조직을 얻었다. 조직은 hematoxylin and eosin (H&E) 염색과 Masson's trichrome 염색을 하여 현미경으로 관찰하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

결과: 당뇨병성 족부 궤양의 세 개 군에서 치유된 상처 면적을 비교하였을 때 군간 차이가 통계적으로 유의하지 않은 것으로 나타났다(P = 0.40). 조직학적으로도 세 군간 큰 차이가 없다는 병리학적 소견을 얻었다.

결론: 육안적으로 신경블록을 시행한 군에서 상처 치유가 잘 되는 것처럼 보였으나, 이는 통계적으로 의미가 없는 것으로 확인되었다. 따라서, 당뇨병성 족부 궤양 치유에 간헐적인 신경블록과 아연 정맥주사는 별다른 영향을 주지 못하는 것으로 보인다. 이 연구 결과가 실제 임상에서 완벽하게 그대로 적용된다고 할 수는 없겠지만 저자의 연구가 당뇨병성 족부 궤양에 대한 다른 연구에 도움을 줄 수 있으리라 확신한다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

서 론

당뇨는 전세계적으로 선진국과 개발도상국 모두에서 유병률이 매년 증가하고 있는 질환으로 미국에서는 7번째 사망원인이다[1]. 2035년까지 추정되는 당뇨환자 수는 5억9천만 명에 이르며, 우리나라의 국민건강 영양조사(The Korean National Health and Nutrition Survey)에서도 당뇨 환자의 비율이 7.6%로 나타나고 있다[2,3]. 이러한 당뇨환자에서 20% 정도가 당뇨발(diabetic foot), 5-10%는 당뇨병성 족부 궤양(diabetic foot ulcer), 3% 정도에서는 하지 절단을 경험하게 된다[4]. 하지를 절단한 경우 환자의 삶의 질은 상당히 저하되며, 당뇨의 유병률을 고려한다면 당뇨로 인해 하지를 절단하게 되는 환자의 수는 적지 않을 것으로 판단된다. 그러므로 당뇨병성 족부 궤양을 잘 치료하여 하지 절단을 막는 것은 중요하다.

당뇨병성 족부 궤양 치료에 중요한 것들 중의 하나는 혈류 공급을 최대한 개선시켜 주는 것이다[5]. 당뇨병성 족부 궤양에서와 같이 비외상성 하지 절단(non-traumatic major low extremity amputation) 수술에서 많이 이용되는 부위마취(말초신경블록)가 술후 호흡 기능 개선, 수술에 대한 스트레스 반응 감소 등의 장점 이외에도 이러한 환자에서 전신마취보다 심혈관 관련한 사망률을 좀 더 낮추는 것으로 알려져 있다[6,7]. 또한 부위마취는 교감신경절제 유사 효과(sympathectomy-like effect)가 있어 수술 동안 혈류를 증가시켜 혈관 관련 수술 결과에 이로운 영향을 준다고 보고되어 있다[8-10]. 따라서 말초신경블록은 혈관을 확장시켜 상처 부위에 혈류 공급을 개선시킴으로써 당뇨병성 족부 궤양 치료에 도움을 줄 수 있을 것이다. 실제로 당뇨 환자에서는 발-피부 내피세포 의존적 혈관 이완(foot-

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

skin endothelium-dependent vasodilation)이 감소되어 있다고 한다[11].

아연은 상처치유의 생화학적 과정에 관여하고 있는 효소들의 보조인자(cofactor)로 작용하고 granulation과 re-epithelialization 단계에서 요구량이 증가하는 것으로 알려져 있다. Zinc hyaluronate를 당뇨병성 족부 궤양 환자의 궤양에 국소적으로 도포하였을 때 궤양 치유가 촉진되는 것이 이미 관찰되었다[12]. 더욱이 이러한 역할을 하는 아연이 당뇨 환자에서는 오히려 부족한 상태일 수 있다고 한다[13]. 따라서 아연 정맥주사도 당뇨병성 족부 궤양 치료에 도움이 될 것으로 추측된다.

말초신경블록과 아연 정맥주사가 실제로 당뇨병성 족부 궤양 치유를 촉진시키는지 알아보고자 동물실험을 계획하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

대상 및 방법

1. 실험동물

동물실험윤리위원회의 승인을 받고 실험동물로 4주령 수컷 OLETF 쥐(rat) 18 마리와 이에 대한 대조군인 LETO 쥐 6 마리를 37주령까지 사육하였다. 37주령 쥐의 평균 몸무게는 OLETF 쥐가 575 g, LETO 쥐가 523 g 이었다. 37주령 쥐의 혈당 ＞250 mg/dl을 확인하여 당뇨 발현 여부를 평가하였고, 마취를 위해 쥐에게 tiletamine-zolazepam (Zoletil 50, Virbac, France) 60 mg/kg를 복강내 주사한 후 모든 쥐의 좌측 발등 피부에 full thickness로 5 mm × 5 mm의 상처를 만들어 당뇨병성 족부 궤양 모델을 만들었다. 이 과정에서 두 마리가 마취를 견디지 못하고 죽었고 전신상태가 좋아 보이지 않는 한 마리를 탈락시켜 총 15 마리를 세 개의 치료하지 않은(non-treated, group 2) 군, 신경블록만 시행한(nerve block, group 3) 군, 신경블록과 아연정맥주사를 함께 시행한(nerve block and intravenous zinc, group 4) 군에 5 마리씩 배정하여 실험을 진행하였다. 대조군인 LETO 쥐 (non-diabetic, group 1) 에서도 한 마리를 탈락시켜 5 마리로 수를 맞추어 같은 방법으로 좌측 발등에 상처를 만들었다. E = Total number of animals − Total number of groups, 10＜E＜20에 따라 실험동물 수의 적절성을 판단하였다. 실험 동물군은 한 케이지에 두 마리를 기본으로 하여 온도 20 ± 2℃, 습도 40-60%, 12시간 광주기에서 사육하였으며 물과 사료는 충분히 제공하였다.

2. 쥐의 좌골신경블록

당뇨병성 족부 궤양 모델을 만들고(day 0) 다음 날, 모든 실험 동물에 마취를

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

하고 group 3과 group 4에 첫 번째 좌골신경블록을 하였다(day 1). 좌골신경블록은 말초신경자극으로 좌골신경 확인 없이 초음파 유도하에 계획하였다. Tiletamine-zolazepam 40 mg/kg을 실험동물의 복강내로 주사하여 마취하였다. 이 과정에서 쥐의 호흡은 수시로 확인하였으나 추가적인 산소는 투여하지 않았다. 쥐를 우측 측와위 자세로 하고 좌측 좌골신경 부위를 초음파를 이용하여 관찰하였다. 관찰할 부위를 넓게 면도한 뒤에 linear probe에 젤을 충분히 바르고 쥐의 엉덩이 쪽에 가까운 허벅지에 probe를 대고 조금씩 움직이며 좌측 대퇴골의 고음영 에코를 관찰하였다. 대퇴 이두근을 관찰 한 후 주사부위를 알코올 솜으로 닦고 26G 바늘을 바깥쪽에서 안쪽으로 1 ml 주사기를 사용하여 이두근 근막 아래로 진입시켰다. 대퇴골 가까운 쪽에 바늘을 위치시킨 후 0.5% bupivacaine 0.2 ml를 주사하였다. 쥐가 마취에서 완전히 깬 후 좌측 발이 축 늘어지고 다리를 끌면서 움직이는 것을 관찰하여 좌측 좌골신경블록의 성공여부를 판단하였다. 이틀 후(day 3)에 두 번째 신경블록을 하였고 두 번째 신경블록 일주일 후(day 10)에 같은 과정을 거쳐 세 번째 신경블록을 하였다. 실험 기간 내 모두 3회(day 1, 3, 10)의 신경블록을 하였다.

3. 아연 정맥주사

족부 궤양 모델을 만든 바로 다음 날 모든 실험 동물에 마취를 하고 group 4에 첫 번째 아연 정맥주사를 하였다(day 1). 신경블록 후에 상처 동측 다리에 lateral saphenous vein이 잘 보이는지 관찰하였다. Lateral saphenous vein이 주사에 적합해 보이지 않는다면 ischial vein을 찾아 잘 보이는 혈관에 주사하였다. 상처 동측에 주사하는 것이 실패할 경우 반대측에 같은 방법으로 혈관을 찾아 주사하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

주사할 부위를 알코올 솜으로 소독하고 26G 바늘을 사용하여 1 ml 주사기에 zinc sulflate hydrate (Zinc Trace, Huons, Korea) 0.1 ml (4.4 mg/ml, 1 mg as Zn)를 0.9% 생리식염수 0.9 ml에 희석하여 천천히 주입하였다. 주입 후에는 완전히 지혈될 때까지 주사부위를 살짝 눌러주었다. 이틀 후(day 3)에 두 번째 아연 정맥주사를 하였고 두 번째 아연 정맥주사 일주일 후(day 10)에 같은 과정을 거쳐 세 번째 아연 정맥주사를 하였다. 실험 기간 내 모두 3회(day 1, 3, 10)의 아연 정맥주사를 하였다.

4. 육안적 평가

족부 궤양을 만든 날(day 0) 상처 크기를 자로 측정하면서 사진 촬영을 하여 평가하였으며, 피부 조직을 얻기 직전(day 13)에 같은 방법으로 처음과 마지막의 상처 크기를 평가하였다(day 0, 13).

5. 조직학적 검사

피부 조직은 세 번째 신경블록과 아연 정맥주사 이틀 후(day 13)에 얻었다. 피부 조직은 10% neutral buffered formalin 용액에 고정시켜 피부 표면에 수직으로 약 5 μm의 두께로 절단하였다. 모든 조직 슬라이드는 hematoxylin and eosin (H&E)과 Masson's trichrome 염색을 하여 각각 epidermal thickness와 collagen fiber를 현미경으로 관찰하였다. 한 명의 병리과 전문의가 맹검처리된 조직 슬라이드를 판독하였다.

6. 통계 처리

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

실험결과의 측정치는 평균±표준편차로 표시하였다. 통계분석은 MedCalc (ver 14.8.1)을 이용하여 수행하였고 Kruskal-Wallis test와 Mann-Whitney test를 이용하여 비모수검정을 하였다. *P*값은 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판단하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

결 과

1. 육안 분석 결과

상처의 크기는 족부 궤양을 만든 날(day 0)과 신경블록과 아연 정맥주사로 치료 후(day 13)에 측정하였다(Fig. 1). 대조군(group 1)과 당뇨군(group 2)에서 상처 치유 정도의 유의한 차이가 있음을 통계적으로 확인하였다(p = 0.01). Group 2와 비교하였을 때 group 3과 group 4에서 상처가 더 잘 치유되어 보였다(Fig. 2). 하지만 세 군간 (group 2, 3, 4) 상처 표면적의 비교에서는 통계적으로는 유의한 차이가 없었다(p = 0.40, Table 1).

2. 현미경 분석 결과

세 번의 신경블록과 아연 정맥주사 후(day 1, 3, 10) 피부 조직을 얻어 조직학적 변화를 관찰하였다(day 13). 염증 세포의 침윤과 형태 조직학적인 변화 관찰 및 epidermal thickness를 측정하기 위해 H&E 염색을 하였고 collagen fiber를 관찰하기 위해 Masson's trichrome 염색을 하였다. 결과적으로, 조직 슬라이드에서도 epidermal thickness을 비롯하여(p = 0.26, Table 1) 세 군간(group 2, 3, 4) 의미 있는 조직학적 소견은 없는 것으로 한 명의 병리과 전문의에게 판독 받았다(Fig. 3, 4).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 1. Histological analysis of control and three diabetic foot ulcer groups

Group	1	2	3	4	*P* value (2, 3, 4)
Wound surface area (mm^2)					
Day 13	0.40 ± 0.25	4.50 ± 0.50*	3.25 ± 0.75	4.50 ± 0.95	0.40
Epidermal thickness (μm)					
Day 13	35.45 ± 1.25	28.75 ± 2.05	28.75 ± 1.25	32.50 ± 1.70	0.26

Results were presented as mean ± SD (n = 5) and compared using Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney test.

$P < 0.05$ was considered statistically significant.

There was no statistical difference is found among groups (2, 3, and 4).

* : $P < 0.05$ for compared with group 1.

Group 1: non-diabetic, group 2: non-treated (diabetic), group 3: nerve-block (diabetic), group 4: nerve-block with intravenous zinc (diabetic).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

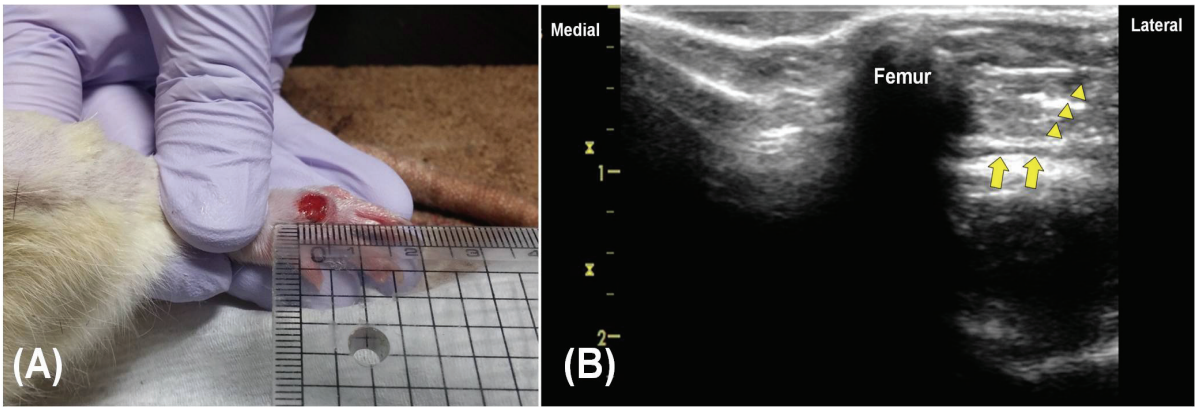

Fig. 1. (A) Full thickness 5 mm x 5 mm wounds were made on left dorsal foot of all OLETF and LETO rats. (B) An ultrasound image of sciatic nerve block under ultrasound guidance. The location of needle placement (arrow heads) and the spread of local anesthetics (arrows) were shown.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

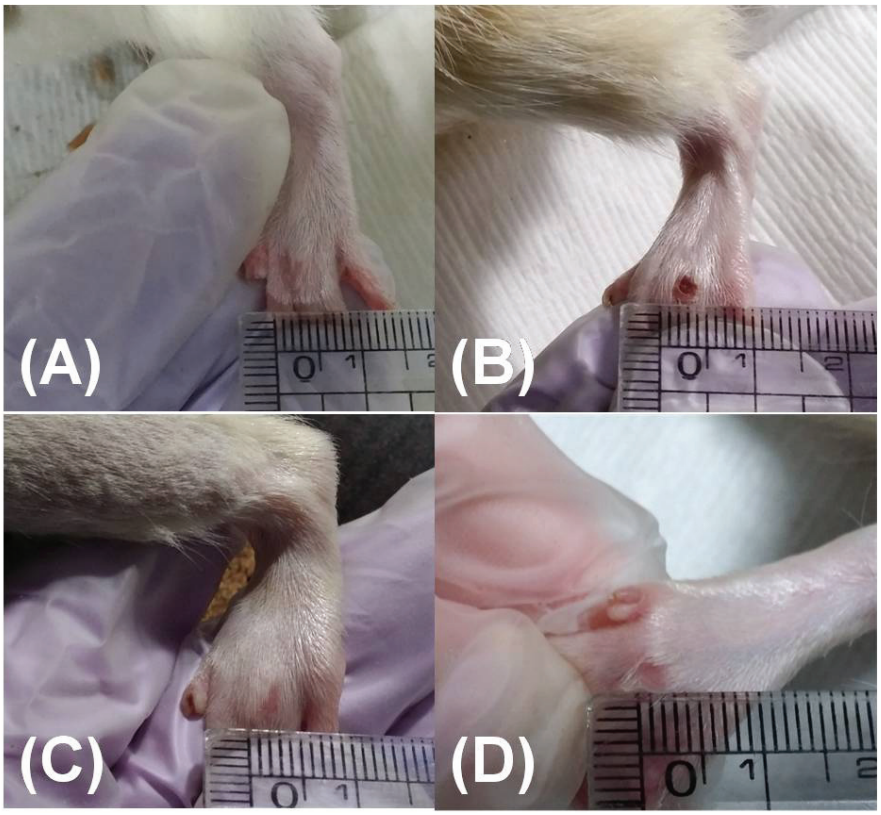

Fig. 2. Macroscopic findings of group 1 (A), 2 (B), 3 (C) and 4 (D) seemed to prove better results of group 3 and 4. However, there was no statistically significant differences among the three diabetic groups (B, C, D) (p = 0.40). Group 1: non-diabetic, group 2: non-treated (diabetic), group 3: nerve-block (diabetic), group 4: nerve-block with intravenous zinc (diabetic).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

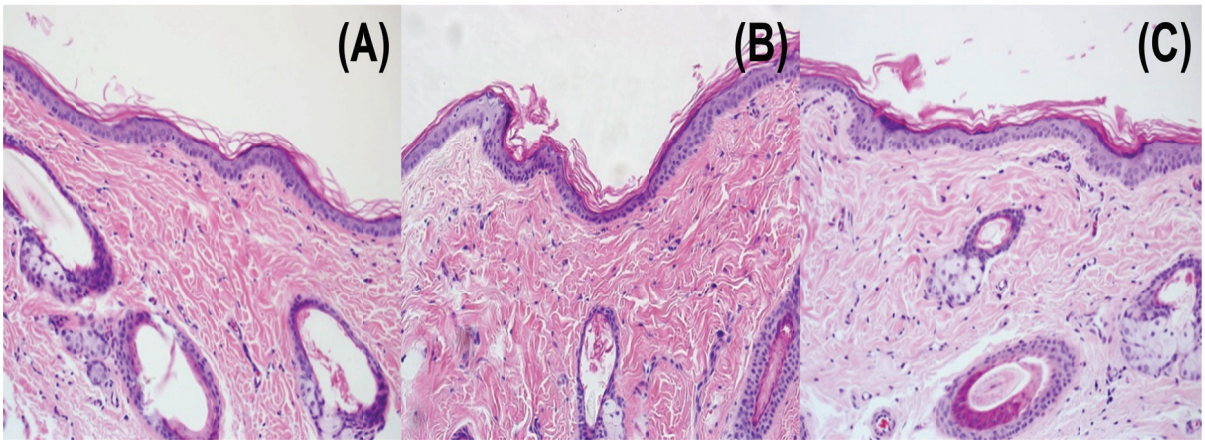

Fig. 3. Microscopic findings of skin sections from group 2 (A), 3 (B) and 4 (C) showed no views with definite differences among groups. A, B and C were stained with hematoxylin and eosin (H&E). Group 1: non-diabetic, group 2: non-treated (diabetic), group 3: nerve-block (diabetic), group 4: nerve-block with intravenous zinc (diabetic).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

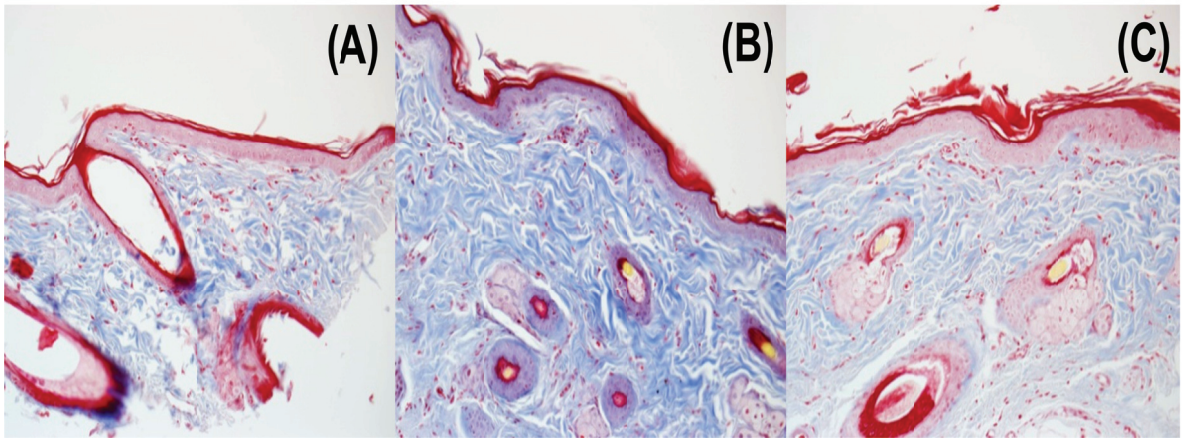

Fig. 4. Microscopic findings of skin sections from group 2 (A), 3 (B) and 4 (C) showed no views with definite differences among groups. A, B and C were stained with Masson's trichrome. Group 1: non-diabetic, group 2: non-treated (diabetic), group 3: nerve-block (diabetic), group 4: nerve-block with intravenous zinc (diabetic).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

고 찰

당뇨 환자에게 가장 흔하면서도 심각한 만성 합병증 중의 하나가 당뇨병성 족부 궤양이며 당뇨환자가 살면서 당뇨병성 족부 궤양이 생길 확률은 25% 정도다[14]. 전세계적으로 하지 절단의 주 원인이 되는 것이 바로 당뇨병성 족부 궤양이다. 당뇨병성 족부 궤양과 같은 만성적 상처의 표준 치료는 괴사조직 제거(debridement), 체중부하(weight bearing)을 최소화하고 혈액순환 장애(vascular insufficiency)가 동반되면 흡인 처치(vaccum dressing)를 하는 것이지만[15], 당뇨병성 족부 궤양은 재발도 잘 되고 예후도 나빠서 수술 전후 사망률이 높은 편이다. 당뇨병성 족부 궤양이 처음 생긴 후 5년 사망률은 43-53%이고 하지 절단을 한다면 74%까지 높아진다. 이러한 5년 사망률은 전립선암, 유방암을 포함해 일부 암에서의 사망률보다 높다[16]. 유럽에서는 미국보다 절단 후 생존율이 더 낮게 나타나 스웨덴과 이탈리아에서는 3년 생존율이 각각 59%와 50%로 보고되고 있다[17]. 따라서 당뇨병성 족부 궤양으로 인한 하지 절단을 막기 위해 많은 더욱 다양한 치료 방법들이 연구 및 보고되고 있는 실정이다[4,15,18-20].

당뇨병성 족부 궤양 치료법을 연구하는 데 있어서 바탕이 되는 당뇨병성 족부 궤양의 기전, 즉 당뇨병성 족부 궤양이 치료가 잘 되지 않는 원인은 1)delayed cellular infiltration 및 granulation tissue formation, 2)collagen organization 감소, 3)혈류 감소, 4)혈액 점성 증가, 5)혈관신생(angiogenesis) 감소로 설명할 수 있지만 이들은 복합적으로 작용한다. 일반적으로 상처 치유의 과정은 hemostasis, inflammation, proliferation, epithelialization, scar maturation의 상호작용 캐스캐이드(cascade) 라고

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

할 수 있는데 이와 같은 정상적인 과정이 당뇨라는 질환과 당뇨 합병증의 영향을 받게 된다[17,18,21].

신경블록이 궤양 치유에 이로울 것이라는 근거는 신경블록의 교감신경절제 유사 효과로 인한 혈류 증가에 있다[8,9]. 당뇨 환자가 비당뇨 환자에 비해 말초신경블록의 작용시간이 길어진다는 연구를 통해[22] 상처 치유에 이로운 혈류 증가 효과가 당뇨병성 족부 궤양에서는 한번의 주사로도 비교적 오래 유지되리라 추측 가능하다. 아연은 모든 생물체에서 필수 미량원소이며 300개가 넘는 금속효소(metalloenzyme)에서 아연을 보조인자(cofactor)로 사용한다[23]. 아연이 상처 치유 과정에 필요하다는 것이 실험 데이터로 입증되어 있고 zinc hyaluronate의 국소 도포가 당뇨병성 족부 궤양 환자 치료에 좋은 영향을 준다는 것도 밝혀져 있다[12]. 따라서, 저자는 상처 치유에 도움을 줄 것으로 예상되는 신경블록 단독 또는 아연 정맥주사 병행이 실제로 당뇨병성 족부 궤양 치유에 도움이 되는지 본 연구를 통해 확인하고자 하였다.

당뇨 분야에서 동물을 이용한 연구에 쥐(rat)가 가장 널리 사용되고 있으며 streptozotocin으로 유도된(streptozotocin-induced) 당뇨 쥐가 일반적으로 사용되고 있다[14]. Streptozotocin은 췌장의 β-세포에 독성이 있어 제1형 당뇨를 실험동물에서 유발 할 수 있다[24]. 하지만 이렇게 화학적으로 당뇨를 유도하기보다는 유전적으로 당뇨가 발현되는 쥐를 연구에 사용하기로 하였고 OLETF 쥐와 그 대조군인 LETO 쥐를 선택하였다. OLETF 쥐는 18주령 이후에 당뇨가 발현되는 제2형 당뇨의 대표적 모델로서 약간 비만하고 대개 수컷에서 당뇨가 발현되는 유전적인 특성을 가지며 당뇨병성 신장 질환을 보이는 등의 특징이 있다[25-28]. 이러한 이유로 당뇨병성 족부 궤양 모델에는 streptozotocin으로

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

유도된 제1형 당뇨 쥐 모델보다는 OLETF 쥐가 더 적합하다. OLETF 쥐의 췌장섬(pancreatic islet)은 시간이 지나면서 조직학적 변화가 3단계로 나타나는데 본 연구에서는 37주령을 이용하여 40주령 이전에 실험을 종료하였으므로 hyperplasia의 조직학적 소견을 보였을 것이다. 또한 모든 OLETF 쥐는 신장 합병증을 가지고 있었을 것이다[28].

쥐에게 상처를 만들기 위해서는 마취가 필요하였고 tiletamine-zolazepam 90 mg/kg 복강내 주사를 마취에 이용한 논문을 참고하여[29] 쥐의 신장 합병증을 고려해 tiletamine-zolazepam (Zoletil 50, Virbac, France) 60 mg/kg을 사용하였다. 하지만 처음 마취를 견디지 못하고 두 마리가 죽었다. 37주령 쥐에서 신장 합병증이 더 진행되었을 것으로 생각했고 주사바늘 자극 정도의 최소 침습적인 시술만 시행할 계획이었으므로 이후 마취 시에는 tiletamine-zolazepam 40 mg/kg으로 줄여 사용하여 안전하게 마취할 수 있었다. 쥐의 좌골신경블록은 대부분의 논문에서 수술적인 방법을 사용하거나 경피적 신경블록을 사용하고 있다[30-34]. 하지만 저자는 최근 좌골신경블록에 초음파를 이용한 논문을 [35] 참고하여 여기에 쥐 좌골신경과 그 주위 구조물의 해부를[36-39] 바탕으로 초음파 유도하 최소 침습적으로 신경블록을 하였다. 이때 국소마취제 용량은 쥐 좌골신경블록 논문들을[30-35] 참고하여 0.5% bupivacaine 0.2 ml로 정하였다. 아연 정맥주사는 동물 사람간 dose conversion 공식을 이용하여 투여 용량을 계산하였다[23,40]. 아연 정맥주사는 희석시켜 투여하지 않으면 정맥염 등을 일으킬 수 있으므로 최대로 허용 가능한 volume으로 희석시켜 주고자 하였다. 쥐에서 최대 주사할 수 있는 volume은 < 0.5 ml이고 OLETF 쥐의 몸무게를 고려하면 1.0 ml도 허용 가능하다[40]. 연구를 계획할 당시에는 일주일 동안 매일

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

신경블록과 아연 정맥주사를 하고자 하였으나, 37주령의 당뇨 쥐는 마취에 대한 회복력이 좋지 않았다. 이는 당뇨병성 신장 질환이 원인으로 추측되었다. 쥐의 마취에 대한 회복력을 고려하여 시술 사이 간격이 2일과 7일이 되었다. 모두 세 번의 신경블록과 아연 정맥주사(day 1, 3, 10)를 하였고 day 13에 조직을 얻고 실험을 종료하였다.

당뇨병성 족부 궤양 상처치유에는 여러 복합적인 요소들이 관여하고 있어 모든 경우를 확인하는 것이 쉬운 일은 아니다. 하지만 실험동물의 주령, 신경블록의 횟수, 아연의 정맥주사 용량 및 주사 횟수를 변화시켜 모든 경우를 확인하지 못한 것은 이 실험의 한계이다. 신경블록의 횟수를 더 늘리거나 카테터를 거치하여 신경블록을 지속시키고 아연 정맥주사도 더 자주 시행하여 아연의 혈중 농도를 일정하게 유지시켜 주었더라면 결과가 달라지지 않았을까 조심스럽게 추측해 본다. 저자는 이 연구가 당뇨병성 족부 궤양에 대한 다른 연구들에 도움이 되리라 확신하면서, 실험 모델을 수정하여 그에 따른 당뇨병성 족부 궤양 치유 효과를 확인하는 것은 다른 연구자들에게 과제로 남기려 한다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

결 론

육안적으로는 신경블록과 아연 정맥주사가 상처치유에 도움을 주는 것처럼 보였으나, 이는 통계적으로는 의미가 없었다. 조직학적 소견에서도 의미 있는 소견이 없었다. 당뇨병성 궤양 치유의 육안 및 조직학적 소견을 종합하여 3회의 간헐적 신경블록과 아연 정맥주사는 당뇨병성 족부 궤양 치유에 별다른 영향을 주지 않는 것을 확인하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

참고문헌

1. Centers for Disease Control and Prevention. National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States, 2011. Atlanta (GA): U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention; 2011.

2. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. Diabetes Res Clin Pract 2014; 103: 137-49.

3. Ahn KJ. Epidemiology of diabetic foot disease. J Korean Diabetes 2011; 12: 72-5.

4. Singla S, Singla S, Kumar A, Singla M. Role of epidermal growth factor in healing of diabetic foot ulcers. Indian J Surg 2012; 74: 451-5.

5. Alavi A, Sibbald RG, Mayer D, Goodman L, Botros M, Armstrong DG, et al. Diabetic foot ulcers: Part II. Management. J Am Acad Dermatol 2014; 70: 21.e1-24; quiz 45-6.

6. Melsom H, Danjoux G. Perioperative care for lower limb amputation in vascular disease. Contin Educ Anaesth Crit Care Pain 2011; 11: 162-6.

7. Khan SA, Qianyi RL, Liu C, Ng EL, Fook-Chong S, Tan MG. Effect of anaesthetic technique on mortality following major lower extremity amputation: a propensity score-matched observational study. Anaesthesia 2013; 68: 612-20.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

8. Shemesh D, Raikhinstein Y, Orkin D, Goldin I, Olsha O. Anesthesia for vascular access surgery. J Vasc Access 2014; 15 Suppl 7: S38-44.

9. Shemesh D, Olsha O, Orkin D, Raveh D, Goldin I, Reichenstein Y, et al. Sympathectomy-like effects of brachial plexus block in arteriovenous access surgery. Ultrasound Med Biol 2006; 32: 817-22.

10. Aguirre J, Del Moral A, Cobo I, Borgeat A, Blumenthal S. The role of continuous peripheral nerve blocks. Anesthesiol Res Pract 2012; 2012: 560879.

11. Dinh T, Tecilazich F, Kafanas A, Doupis J, Gnardellis C, Leal E, et al. Mechanisms involved in the development and healing of diabetic foot ulceration. Diabetes 2012; 61: 2937-47.

12. Tankova T, Dakovska G, Koev D. Zinc hylauronate in the treatment of diabetic foot ulcers: a controlled randomized open-label study. Diabetol Croat 2001; 30: 93-6.

13. Martin AM, Extremera BG, Soto MF, Martinez MR, Jimenez AG, Morales AG, et al. Zinc levels after intravenous administration of zinc sulphate in insulin-dependent diabetes mellitus patients. Klin Wochenschr 1991; 69: 640-4.

14. Mendes JJ, Leandro CI, Bonaparte DP, Pinto AL. A rat model of diabetic wound infection for the evaluation of topical antimicrobial therapies. Comp Med 2012; 62: 37-48.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

15. Mehrannia M, Vaezi M, Yousefshahi F, Rouhipour N. Platelet rich plasma for treatment of nonhealing diabetic foot ulcer: a case report. Can J Diabetes 2014; 38: 5-8.

16. Robbins JM, Strauss G, Aron D, Long J, Kuba J, Kaplan Y. Mortality rates and diabetic foot ulcers: is it time to communicate mortality risk to patients with diabetic foot ulceration? J Am Podiatr Med Assoc 2008; 98: 489-93.

17. Jeffcoate WJ, Harding KG. Diabetic foot ulcers. Lancet 2003; 361: 1545-51.

18. Babaei S, Bayat M, Nouruzian M, Bayat M. Pentoxifylline improves cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. Eur J Pharmacol 2013; 700: 165-72.

19. Moura LI, Dias AM, Suesca E, Casadiegos S, Leal EC, Fontanilla MR, et al. Neurotensin-loaded collagen dressings reduce inflammation and improve wound healing in diabetic mice. Biochim Biophys Acta 2014; 1842: 32-43.

20. Elsharawy MA, Naim M, Greish S. Human CD34+ stem cells promote healing of diabetic foot ulcers in rats. Interact Cardiovasc Thorac Surg 2012; 14: 288-93.

21. Kesici U, Kesici S, Ulusoy H, Yucesan F, Turkmen AU, Besir A, et al. Effects of glutamine on wound healing. Wound J 2015; 12: 280-4.

22. Cuvillon P, Reubrecht V, Zoric L, Lemoine L, Belin M, Ducombs O, et al. Comparison of subgluteal sciatic nerve block duration in type 2 diabetic and non-diabetic patients. Br J Anaesth 2013; 110: 823-30.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

23. Yasuno T, Okamoto H, Nagai M, Kimura S, Yamamoto T, Nagano K, et al. The disposition and intestinal absorption of zinc in rats. Eur J Pharm Sci 2011; 44: 410-5.

24. Hue JJ, Kim JS, Kim JH, Nam SY, Yun YW, Jeong JH, et al. Anti-glycemic effect of L-carnosine in streptozotocin-induced diabetic mice. Korean J Vet Res 2012; 50: 105-11.

25. Kawano K, Hirashima T, Mori S, Natori T. OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) rat: a new NIDDM rat strain. Diabetes Res Clin Pract 1994; 24 Suppl: S317-20.

26. Kim JH, Chung HS, Kang M, Kim Y, Kim BS, Kim YS, et al. Anti-diabetic effect of standardized herbal formula PM021 consisting of Mori Folium and Aurantii Fructus on type II diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. Diabetes Res Clin Pract 2011; 93: 198-204.

27. King A, Bowe J. Animal models for diabetes: understanding the pathogenesis and finding new treatments. Biochem Pharmacol 2016; 99: 1-10.

28. King AJ. The use of animal models in diabetes research. Br J Pharmacol 2012; 166: 877-94.

29. Spinella G, Vilar JM, Anastasi C, Santana A, Prati U, Roveda L, et al. Three combinations of clonidine in association with tiletamine-zolazepam for anaesthesia induction in rats: evaluation of reflexes and pain sensibility. Veterinarni Medicina 2012; 57: 536–42.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

30. Kolarczyk LM, Williams BA. Transient heat hyperalgesia during resolution of ropivacaine sciatic nerve block in the rat. Reg Anesth Pain Med 2011; 36: 220-4.

31. Brummett CM, Norat MA, Palmisano JM, Lydic R. Perineural administration of dexmedetomidine in combination with bupivacaine enhances sensory and motor blockade in sciatic nerve block without inducing neurotoxicity in rat. Anesthesiology 2008; 109: 502-11.

32. Sousa AM, Ashmawi HA, Costa LS, Posso IP, Slullitel A. Percutaneous sciatic nerve block with tramadol induces analgesia and motor blockade in two animal pain models. Braz J Med Biol Res 2012; 45: 147-52.

33. Kroin JS, Buvanendran A, Tuman KJ, Kerns JM. Effect of acute versus continuous glycemic control on duration of local anesthetic sciatic nerve block in diabetic rats. Reg Anesth Pain Med 2012; 37: 595-600.

34. Kroin JS, Buvanendran A, Williams DK, Wagenaar B, Moric M, Tuman KJ, et al. Local anesthetic sciatic nerve block and nerve fiber damage in diabetic rats. Reg Anesth Pain Med 2010; 35: 343-50.

35. Nijhuis TH, Smits ES, van Neck JW, Visser GH, Walbeehm ET, Blok JH, et al. Ultrasound-guided needle positioning near the sciatic nerve to elicit compound muscle action potentials from the gastrocnemius muscle of the rat. J Neurosci Methods 2011; 194: 283-6.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

36. Maciel FO, Viterbo F, Chinaque Lde F, Souza BM. Effect of electrical stimulation of the cranial tibial muscle after end-to-side neurorrhaphy of the peroneal nerve in rats. Acta Cir Bras 2013; 28: 39-47.

37. Hillerup S, Bakke M, Larsen JO, Thomsen CE, Gerds TA. Concentration-dependent neurotoxicity of articaine: an electrophysiological and stereological study of the rat sciatic nerve. Anesth Analg 2011; 112: 1330-8.

38. Breshah MN, Sadakah AA, Eldrieny EA, Saad KA. Functional and histological evaluation of rat sciatic nerve anastomosis using cyanoacrylate and fibrin glue. Tanta Dent J 2013: 10; 67-74.

39. Kochi T, Imai Y, Takeda A, Watanabe Y, Mori S, Tachi M, et al. Characterization of the arterial anatomy of the murine hindlimb: functional role in the design and understanding of ischemia models. PLoS One 2013; 8: e84047.

40. Nair AB, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. J Basic Clin Pharm 2016; 7: 27-31.

41. Ponrasu T, Suguna L. Efficacy of Annona squamosa on wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. Int Wound J 2012; 9: 613-23.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY