

## 머들치 *Rhynchocypris oxycephalus*에서의 외과적 상처 치유

박인석 · 임재현 · 김정혜 · 김동수\*

군산대학교 해양자원육성학과

\*부경대학교 양식학과

### Wound Healing of Surgical Incisions in *Rhynchocypris oxycephalus*

In-Seok Park, Jae Hyun Im, Jung-Hye Kim and Dong Soo Kim\*

Department of Marine Living Resources, Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea

\*Department of Aquaculture, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

*Rhynchocypris oxycephalus* was incised through the midlateral line between the dorsal and pectoral fins and the wounds were closed with absorbable synthetic suture, and here we describe histological details on the nature of second-intention wound healing, rate of healing, and the nature of granulation tissue contraction. Postoperative survivals were 95% and 99%, compared to 100% for counterpart control fish, among fish at just and 7 days after surgery, respectively. By 14~42 days after surgery, fish had no mortality. The granulation tissue was epithelialized from day 7 through day 22 postsurgery. By 28 days postsurgery, the granulation tissue had contracted the wound margins into apposition. By 35~42 days postsurgery, the granulation tissue contained collagen fiber and the epidermis contained well-differentiated alarm substance cells; thus, the epidermis over the wound site was histologically normal in most fish, showed that wound healing was essentially complete within 35 days of surgery.

Key words : *Rhynchocypris oxycephalus*, Wound healing, Epithelialization, Granulation tissue

### 서 론

어류 수술(surgery)은 어체로부터 체액과 조직의 채취, 기관 및 선(gland)과 종양의 제거, 상처(wound)의 처리와 치유(healing), 약학적 및 면역학적 기질의 이식(inplant), 생리학적 및 행동학적 연구를 위한 전극(electrode)과 원격측정기(telemetry device)의 이식, 그리고 어류표식(marking)을 위한 지느러미 절단 등을 위한 수

단으로 사용되고 있다(Summerfelt and Smith, 1990). 어류를 대상으로 이와같은 수술에 관하여는 1964년 Pavlovskii가 수술의 여러 양상을 제시한 이후 현재까지 다수의 관련 연구가 보고되고 있으며, 어류수술은 수술 기구 및 장비의 기술적 사용과 더불어 항생제, 방부제 그리고 마취제를 병행 사용하여 그 성공율을 높이려는 기술과 과학의 한 분야이다(Marty and Summerfelt, 1990; Summerfelt and Smith, 1990).

본 연구는 1997년도 교육부 학술연구조성비(해양수산과학 KIOS-97-F-05) 일부 지원에 의하여 수행되었음.

어류에서 작은 상처로부터 증식된 표피화(epithelialization)는 상처 후 3시간 이내 그리고 섬유아세포(fibroblast)는 상처 후 5일에 진피(dermis) 속에 형성되는, 단기간 치유인 1차 치유(first intention healing)에 관해 연구된 바 있다 (Mawdesley-Thomas and Bucke, 1973 ; Phromsuthirak, 1977 ; Bullock et al., 1978). 어류에서 1차 치유와 더불어 치유 과정중 상처 주변부가 상피형성에 의해 직접 치유 하기에는 너무 멀리 떨어져 있을 경우 작용하는 2차 치유(second intention healing)(Billingham and Russel, 1959 ; Montandom, 1977)에 대하여 1986년 Sakanari and Moser가 striped bass *Morone saxatilis*를 대상으로 보고한 바 있으며, 1990년 Marty and Summerfelt는 채널메기 *Ictalurus punctatus*의 복부 중앙 부위 절개를 통해 외과적으로 이식된 dummy transmitter의 배제 후에 일어나는 2차 치유의 일종인 과립형성 조직(granulation tissue)의 역할이나 상피형성 과정을 조직학적으로 규명한 바 있다.

본 연구는 우리나라 서·남해로 유입되는 하천의 상·중류와 남부 동해안에 있는 하천에 분포하는 버들치 *Rhynchocypris oxycephalus*(정, 1977 ; 김, 1997)를 대상으로, 어류에서 직접적인 외과 수술 후 상처 치유에 관한 연구가 전무한 점과 현재까지 연구는 수술 부위가 복강이 포함된 복부 부위에 국한된 점들을 고려하여, 체측 부위에 인위적인 상처를 만든 다음 상처 부위의 외과적 수술 후의 상처 치유 과정을 조사하였다. 나타나는 결과를 토대로 버들치에서 상처가 외과적인 수술로 성공적으로 치유될 수 있는지 여부와 더불어 그 상처 치유 과정을 육안으로나 조직학적으로 알 수 있는 기준을 파악하고자 하였다.

## 재료 및 방법

군산대학교 해양자원육성학과 유전육종학 사육실에서 3대째 사육 중인 평균전장  $10.5 \pm 0.3$ (SD) cm, 평균체중  $9.4 \pm 0.4$ (SD) g인 버들치 *Rhyn-*

*chocypris oxycephalus* 각 80마리씩을 처리군과 대조군으로 사용하였다. 신속한 수술로 어체에 미치는 스트레스를 최소화하기 위하여 박 등(1998)의 방법에 의거, 수온 20°C, 300 ppm의 염산리도카인/1,000 ppm NaHCO<sub>3</sub> 로 마취 후 수술을 실시하였다. 수술이 시작되는 마취 직후부터 봉합이 완료되어 회복수에서의 회복까지 소요 시간은 수술시 어체가 공기 중에 노출됨을 고려, 5분 이내가 되도록 하였다.

수술 부위는 버들치 형태를 고려하여 등지느러미 기저 원점과 측선을 연결하는 최단 거리의 중간 지점으로 정하였으며, 수술 부위는 붓을 사용하여 provaline iodine(1%의 iodine을 포함하는 polyvinylpyrrolidone)으로 소독 후 수술용 칼로 표피를 포함하여 근육이 절개되도록 깊게, 길이 약 1~2 cm 로 측선과 평행하게 절개하였다. 절개 부위는 3/8 원형인 안과용 각침 0호(아이리 Co., 한국)와 chromic 봉합사인 Catgut (4/0 U.S.P., 백제연사 Co., 한국)로 single-instrument tie (Merkley, 1983)를 사용하여 simple interrupted 법으로 3~4 바늘 봉합하였다. 봉합을 완료한 수술 부위는 역시 붓을 사용하여 provaline iodine으로 소독하였으며 petrolatum (petroleum jelly, e.g., Vaseline™)(Jenkins and Dodd, 1982)으로 상처 부위를 도포하였다.

수술, 봉합 후 회복된 개체들과 대조군은 여과 시스템이 부착된 1,500 l용량의 순환 유리수조에 각각 수용 후 사육하였다. 사육시 충분히 공기 공급하였으며 수온은  $20 \pm 0.5$ (SD)°C로 유지하였다. 수술 후의 사망율을 조사하였으며, 수술 직후를 포함하여 수술 후 부터 7일 간격으로 수술 후 42일까지 7회에 걸쳐 매 회 10마리씩 표본하였다.

표본된 어체를 대상으로 마취 후 수술 부위의 외부 사진 촬영을 실시하였으며 이후, 10% 중성 포르말린에 고정하였다. 수술 부위의 시간 경과에 따른 치유 양상을 조직학적으로 조사하기 위하여, 평상의 파라핀 절편법을 사용하여 4~6 μm 두께로 조직을 절편하였으며 hematoxylin과 eosin-phroxine B 로 염색하여 생물현미경(Olympus,

Japan) 하에서 수술 부위 조직상을 관찰하였으며 아울러 사진 촬영을 실시하였다. 자료는 수술 후 시간 경과에 따른 유착(adhesion) 정도, 완전한 상피세포화(complete epithelial covering), 과립형성 조직의 성숙(mature) 및 미성숙(immature) 여부, 새로운 상피세포에서의 alarm 물질 세포(substance cell) 존재 유무 그리고 진피 collagen의 불완전 혹은 불규칙 여부 등을 기준으로 수집하여, 수술 부위의 치유 정도를 판단하였다.

### 결과 및 고찰

효과적인 상처 치유는 상처의 빠른 치유와 이에 따르는 생존율 증가는 물론, 외과적인 조작(manipulation)을 가능케 한다(Marty and Summerfelt, 1990). 버들치 *Rhynchoypris oxycephalus* 에서 수술로 인한 사망은 수술 직후에 4마리 그리고 수술 후 7일에 1마리가 나타났고 이후 실험 종료시까지 사망은 없었다. 수술 직후 수술 부위의 외부 형태는 Fig. 1의 a와 같이 봉합 부위는 전혀 유착되지 않아 표피층, 진피층 및 근육이 다소 벌어진 상태였으며(Table 1), 수술 직후의 어체는 체측의 수술로 인하여 움직임이 다소 완만하였다.

수술 후 7일에는 봉합사가 수술 부위에 다소 남아 있었으며 수술 부위 또한 전체적으로 치유되지 않은 약한 유착(slight adhesion)을 보였다(Table 2). 이후 수술 부위는 수술 후 21일 까지 치유가 진전되어 어체의 움직임이 보다 활발하

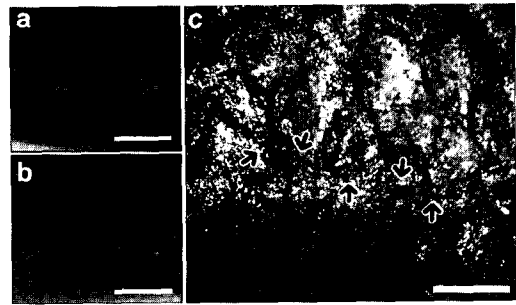


Fig. 1. External morphology during wound healing in *Rhynchoypris oxycephalus*. (a) surgical incision just after surgery, (b) surgical incision 14 days after surgery, and (c) surgical incision 28 days after surgery. Note epithelialization is complete and incision has healed at 28 days after surgery (arrowed). Bars=30 mm except(c), where bar=8 mm.

였으며 수술 부위의 봉합 자국은 선명한 반면 봉합사는 보이지 않았고(Fig. 1의 b) 수술 후 14일, 수술 후 21일에서의 유착은 약한 유착이 각각 60%, 50% 그리고 견고한 유착(substantial adhesion)이 40%, 50% 이었다(Table 1). 수술 후 28일에서는 약한 유착이 20% 그리고 견고한 유착이 80% 이었으며(Table 1) 상피화(epithelialization)는 완전히 이루어진 상태였다(Fig. 1의 c). Table 1과 같이 수술 후 29일 이후 42일 까지 견고한 유착이 100% 였으며 수술 부위는 표피 멜라닌의 부족으로 인해 다소의 회백색 흉터(scar)가 나타난 점을 제외하고는, 정상적인 체측 부위의 형태를 나타내었다.

Table 1. Prevalence and intensity at necropsy of adhesions at the incision site in *Rhynchoypris oxycephalus*

Days post-incision	No. of fish necropsied	No. (percent) of fish with		
		No adhesions	Slight adhesions	Substantial adhesions
0	10	10(100)	0( 0)	0( 0)
7	10	0( 0)	10(100)	0( 0)
14	10	0( 0)	6( 60)	4( 40)
21	10	0( 0)	5( 50)	5( 50)
28	10	0( 0)	2( 20)	8( 80)
35	10	0( 0)	0( 0)	10(100)
42	10	0( 0)	0( 0)	10(100)

조직학적 조사 결과 수술 부위에서의 완전한 상피형성은 수술 후 28일에 일어났다(Table 2). Marty and Summerfelt(1988)가 묘사한 근원 섬유세포(myofibroblast)인 섬유아세포(fibroblast) 활성이 있었고, collagen 침적을 비롯해 많은 혈관 분포를 보이는 미성숙 과립형성 조직은 수술 직후에는 없는 반면 수술 후 7일에 100%, 수술 후 14일에 66%, 수술 후 21일에 15%가 출현하였으며 수술 후 28일 이후에는 미성숙 과립형성 조직은 나타나지 않았다(Table 2). 반면 보다 적은 혈관을 가진 활동적인 섬유아세포와 많은 collagen 특성을 보이는 성숙 과립형성 조직은 역시 수술 직후, 수술 후 7일에는 없었으나 수술 후 14일에 34%, 수술 후 21일에 85%, 수술 후 28일에 10%가 출현하였으며 수술 후 35일, 수술 후 42일에는 성숙 과립형성 조직이 나타나지 않았다(Table 2).

Fig. 2의 a는 수술 후 21일 수술 부위에 광범위하게 분포된 과립형성 조직에 의한 상피화와 증식(proliferation)을 보여주고 있다. Fig. 2의 b는 수술 후 14일의 수술 부위에 과립형성 조직이 섬유상으로 나타나고 증식되어 새로운 근육조직(muscle tissue) 으로의 치유를 보여주고 있다. 과립형성 조직이 나타나지 않은 때는 수술 직후, 수술 후 35일 그리고 수술 후 42일 이었으며 수술 후 28일에서는 90%가 과립형성 조직이 없었다

(Table 2). 본 연구 결과는 치유 과정 관점에서는 2차 치유에 해당하는 것으로서 이와같은 2차 치유는 포유동물 상처 부위에서의 과립형성 조직의 증식 즉, 동일 위치에서 상처 주변부를 끌어당기는 과립형성 조직 내 근섬유세포의 수축(Gabbiani, 1972; 1976)에 해당한다.

수술 부위에서 증식하는 표피의 현저한 특징은 alarm 물질세포가 거의 나타나지 않는 것으로(Marty and Summerfelt, 1990), 이러한 alarm 물질은 수술 직후, 수술 후 7일에는 없었으나, 수술 후 14일 부터 수술 후 42일 까지 치유 시간이 경과함에 따라 20%에서 90%로 광범위하게 증가하였다(Table 2). Alarm 물질세포는 Fig. 2의 c에서와 같이 수술 후 28일의 수술 부위에서 현저하고, 뚜렷하게 나타나 진피층과도 구별이 용이하였으며 근육이 거의 치유되어 흉터가 많이 나타났다(Fig. 2의 c). 치유 중인 진피(dermal) collagen은 원래의 조직 보다 밀집해지지만 규칙적이지 못한 것으로(Fig. 2의 a), 수술 직후 그리고 수술 후 7일에는 모두 불완전한(incomplete) 진피 collagen 이었다(Table 2). 그러나 치유 시간이 경과함에 따라 이러한 불완전한 진피 collagen은 불규칙한(irregular) 진피 collagen 으로 전환되어 수술 후 14일, 수술 후 21일에 불완전한 진피 collagen과 불규칙한 진피 collagen은 각각 50%, 50% 및 18%, 82%이었으며

Table 2. Progression of wound healing in *Rhynchocypris oxycephalus* as characterized by extent of epithelial covering, nature of granulation tissue, occurrence of alarm substance cells, and abundance of collagen in dermal tissue of incision

Days post incision	N	Complete epithelial covering	Percent of fish with							
			Granulation tissue			Alarm substance cells			Dermal collagen	
			Immature	Mature	None	None	Few	Abundant	Incomplete	Irregular
0	10	0	0	0	100	100	0	0	100	0
7	10	0	100	0	0	100	0	0	100	0
14	10	0	66	34	0	60	20	20	50	50
21	10	0	15	85	0	40	25	35	18	82
28	10	100	0	10	90	0	25	75	0	100
35	10	100	0	0	100	0	20	80	0	100
42	10	100	0	0	100	0	10	90	0	100

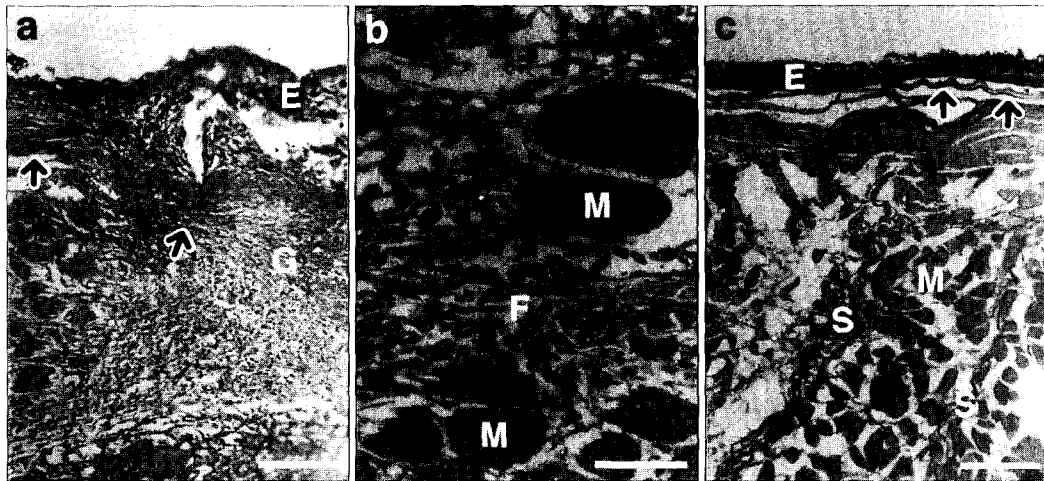


Fig. 2. Wound healing after surgical incision in *Rhynchocypris oxycephalus* (hematoxylin and eosin stain). Bars = 10  $\mu$ m except (b), where bar = 5  $\mu$ m. a, Day 21 : regeneration of epidermal layer (E) and dermis is filled with granulation tissue (G). Arrows mark the interface of the original dermal connective tissue and midventral proliferative granulation tissue (G), or new irregular dermal collagen in (a). b, Day 14 : showing extensive fibrosis (F) between muscles (M). c, Day 28 : complete regenerataion of epidermis (E), with a scar (S) newly developed muscle (M) occupying 80~90% of incision area. Alarm substance cells (arrows in c) are abundant at the epidermis, are lacking in the proliferative epidermis in (a), and are fully differentiated in the new epidermis in (c).

수술 후 28일 부터 수술 후 42일 까지는 모두 불규칙한 collagen만 나타났다(Table 2).

버들치를 대상으로 외부적 및 조직학적 조사를 한 본 연구 결과, 수술 부위가 수술 후 28일에 거의 치유 되었으며 수술 후 35일 이후는 100% 회복을 보였다. 이와같은 결과를 Marty and Summerfelt (1990)가 차넬메기 *Ictalurus punctatus* 복부에서 완전한 상처 치유시 93일이 소요된다는 결과와 비교시 버들치는 차넬메기에 비해 상당히 빠른 치유 효과를 나타내었다. 상처 치유에 있어 수온은 중요한 요소로 이러한 수온 차에 기인된 상처 치유 효과를 Anderson and Roberts (1975)는 White Cloud Mountain fish (*Tanichthys albonubes*)와 대서양연어 *Salmo salar*를 대상으로 조사한 바 있으며, Roubal and Bullock(1988)는 대서양연어에서 상처 치유시 hydrocortison의 효과를 조사한 바 있어, 본 실험 역시 차후 이들과 연관된 실험이 보충적으로 필

요하리라 사료된다. 수술 부위 상처에서 외부적인 치유 과정을 조사한 본 연구 결과는 조직학적 치유 과정에 비해 좀 더 손쉽게 상처 치유 정도를 알 수 있는 가늠자로 사용될 수 있을 것이며, 버들치에서 외과적 수술을 통하여 외부 상처를 성공적으로 치유한 본 연구 결과는 차후 버들치를 포함한 여타 다른 양식어종을 대상으로한 내분비학적, 약학적 그리고 일반 생리학적 연구시 적용 가능 할 것이다.

## 요 약

버들치 *Rhynchocypris oxycephalus*의 등지느러미와 가슴지느러미를 연결하는 중간 부위 체측 상처를 수술하여, 과립형성 조직 수축 특성과 치유율 및 2차 치유에 관하여 조사하였다. 수술 후 생존율은 수술 직후 및 수술 후 7일에 대조군의 100%에 비해 각각 95%와 99% 이었다. 수술 후

14일과 42일 사이에 사망은 없었다. 수술 후 7~21일에 과립형성 조직은 상피화되었으며 수술 후 28일에 과립형성 조직은 상처 주변부로 정상 위치 수축을 하였다. 수술 후 35일~42일에 과립형성 조직에는 collagen 섬유가 존재하였고 표피는 잘 분화된 alarm 물질세포를 내포하고 있었으며 상처 부위의 표피는 모든 어류에서 조직학적으로 정상이어서, 상처 치유는 수술 35일 이내에 완전히 이루어졌다.

### 참 고 문 헌

- 김익수, 1997. 한국동식물도감, 제 37권 동물편(담수어류). 교육부, pp. 257-261.
- 정문기, 1977. 한국어도보. 일지사, 서울, pp. 181-183.
- 박인석 · 김정혜 · 정장방 · 임재현, 1998. 버들치 *Rhynchocypris oxycephalus*와 버들개 *R. steindachneri*에 대한 리도카인의 마취 효과. 한국양식학회지, 11 : 59-66.
- Anderson, C. D. and R. J. Roberts, 1975. A comparison of the effects of temperature on wound healing in a tropical and temperate teleost. J. Fish Biol., 7 : 173-182.
- Billingham, R. E. and P. S. Russel, 1956. Studies on wound healing with special reference to the phenomenon on contracture in experimental wounds in rabbit's skin. Annals Surg., 144 : 961-981.
- Bullock, A. M., R. Marks, and R. J. Roberts, 1978. The cell kinetics of teleost fish epidermis : epidermal mitotic activity in relation to wound healing at varying temperature in plaice (*Pleuronectes platessa*). J. Zool.(London), 185 : 197-204.
- Gabbiani, G., B. J. Hirschel, G. B. Ryan, P. R. Statkov, and G. Majno, 1972. Granulation tissue as a contractile organ : a study of structure and function. J. Exp. Med., 135 : 719-734.
- Gabbiani, G., M. LeLous, A. J. Bailey, S. Bazin, and A. Delaunay, 1976. Collagen and myofibroblasts of granulation tissue : a chemical, ultrastructural and immunologic study. Virchows Archiv B. Cell Path., 21 : 133-145.
- Jenkins, N. and J. M. Dodd, 1982. Effects of ovariectomy of the dogfish *Scyliorhinus canicula* L. on circulation levels of androgen and oestradiol and on pituitary gonadotrophin content. J. Fish Biol., 21 : 297-303.
- Marty, G. D. and R. C. Summerfelt, 1988. Inflammatory response of channel catfish to abdominal implants : a histological and ultrastructural study. Trans. Amer. Fish. Soc., 117 : 401-416.
- Marty, G. D. and R. C. Summerfelt, 1990. Wound healing in channel catfish by epithelialization and contraction of granulation tissue. Trans. Amer. Fish. Soc., 119 : 145-150.
- Mawdesley-Thomas, L. E. and D. Bucke, 1973. Tissue repair in a poikilothermic vertebrate, *Carassius auratus* (L.) : a preliminary study. J. Fish Biol., 5 : 115-119.
- Merkley, D. 1983. Knot typing techniques. Iowa State University, College of Veterinary Medicine, Ames.
- Montandon, D., G. D'Andiran, and G. Gabbiani, 1977. The mechanism of wound contraction and epithelialization. Clinic Plastic Surg., 4 : 325-346.
- Pavlovskii, E. N., 1964. Techniques for the investigation of fish physiology. Translated from Russian : Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem.(Also : U.S. Department of Commerce, Office of Technical Services, OTS 64-11001, Washington, D.C.).
- Phromsuthirak, P., 1977. Electron microscopy of wound healing in the skin of *Gasterosteus aculeatus*. J. Fish Biol., 11 : 193-206.
- Sakanari, J. A. and M. Moser, 1986. Lesion induction by the plerocercoid *Lacistorhynchus tenuis* (Cestoda) and wound healing in the striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum). J. Fish Biol., 28 : 289-296.
- Summerfelt, R. C. and L. S. Smith, 1990. Methods for fish biology. anaesthesia, surgery, and related techniques. Eds : Schreck, C. B. and Moyle, P. B., Amer. Fish. Soc., Bethesda, Maryland. pp. 245-272.