

저강도 레이저 조사에 의한 가토 피부의 상처 치유에 관한 연구

계명대학교 기초과학부 생물학전공

김 식 현 · 전 진 석[†]

국문초록: 피부는 인체의 표면을 보호하는 중요한 기관으로 피부가 손상되었을 경우 상처 재생은 염증기, 상피화기, 수복기의 정상적인 재생 단계를 거치며 치유된다. 최근 저강도 레이저의 생물학적 효과로서 상처 재생과의 밀접한 관련성이 알려지고 있다. 본 연구는 저강도 레이저가 상처 재생에 미치는 유의한 효과를 세포 형태학적으로 확인하기 위해 실험적으로 유도한 가토 피부 상처 (2×2 cm)에 12일 동안 5 Hz, 830 nm, 1.6 J/cm²의 자극강도 (10 min/day)로 상처면에 레이저를 적용한 결과, 다음과 같은 결과를 얻었다. 레이저 조사군의 경우 결합조직의 수복과 상피의 재형성이 대조군과 비교했을 때 매우 빠르게 진행되는 것으로 관찰되었으며, 특히 섬유아세포의 활성화와 육아조직 합성율이 유의하게 증가되는 것으로 확인되었다. 이상의 연구 결과를 종합해 볼 때 유효한 치료강도의 저강도 레이저 자극은 피부의 개방성 창상 및 욕창 등의 상처 치유를 촉진할 수 있는 것으로 사료된다.

서 론

피부는 인체의 표면을 세균이나 감염성 물질로부터 보호하고, 온도와 감각 기능 등을 조절하는 중요한 역할을 담당한다. 따라서 외부와 경계부에 위치하는 피부는 계속적인 외부 자극이나 물리적, 기계적 자극으로 인해 쉽게 손상 받을 수 있다. 피부가 손상되면 피부 상처의 치유과정은 수많은 세포의 조절 작용을 포함하는 매우 복잡한 과정을 거쳐 이루어지고³⁾ 치유과정은 염증기 (inflammatory phase), 상피화기 (epithelialization) 그리고 재형성기 (remodeling phase)의 과정으로 치유된다⁹⁾.

광범위한 피부 손상을 특징으로 하는 화상이나 개방창 그리고 욕창 (decubitus ulcer) 등의 피부 손상은 의료비 가중과 환자 치료시기를 지연시키는 주 요인이며, 임상적으로 매우 중요한 문제점으로 지적되어 왔다. 따라서 이러한 외상성 손상이나 광범위한 피부 손상을 치유하기 위해 다양한 치료 도구들이 임상적으로 사용되어 왔다.

레이저 (Laser)는 Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation의 약자로 1917년부터 그 개념이 발전되어 1960년대 Maiman의 Ruby Laser 실험 성공으로 Laser라는 용어가 체계적으로 확립되었고¹⁸⁾, 이후 Helium-Neon Laser¹¹⁾, Argon Laser⁷⁾, Carbon Dioxide Laser²³⁾ 등의 개발과 더불어 의료용 치료 기구로 그 적용이 점차적으로 확대되어 왔다^{25,32,33)}. 저강도 레이저 (low-intensity laser)는 직접적인 레이저 조사로 조직내 생물학적 변화를 유도하기 위해 개발된 치료 도구로서 레이저 조사시 조직내 온도 상승은 0.1~0.5℃ 미만으로⁶⁾, 레이저 조사로 인한 조직내 생물학적 변화는 열 효과 (thermal effects)로 인한 것이 아니라 직접적 조사 효과 (direct irradiation effects)에 의한 것으로 확인되었다.

실험 동물 모델의 상처 치유에 대한 *in vivo*, *in vitro* 연구를 통해 레이저 조사가 섬유아세포 (fibroblast)를 자극하여 교원질 (collagen) 합성의 변화^{16,35)}, 손상부위 장력 (tensile strength)의 유의한 증가¹⁾ 및 상처부위 재생과 관련된 면역 과정에 영향을 주는 것으로 보고되었으며^{20,31)}, 또한 He-Ne 레이저를 이용한 교원질 유전자 발현에 대한 효과를 비교한 연구에서 레이저 자극으로 type I과

* 논문 접수 : 2000년 4월 29일

수정재접수 : 2000년 6월 22일

[†] 별책 요청 저자

type III 전교원질 (procollagen) mRNA의 발현 양상에 현저한 변화 양상을 확인하였고, 결과적으로 교원질 형성을 통해 상처 치유가 자극된다고 보고하였다²⁷⁾.

이상과 같이 다양한 연구를 통해 레이저 조사가 상처 치유에 유의한 효과가 있음이 보고되었으나 아직까지 그 완전한 기전이 확인되지 않았고, 특히 레이저 조사로 인한 손상부위의 세포 형태학적 구조에 대한 연구는 현재까지 미비한 현실이다. 이에 본 연구는 저강도 레이저의 치료 효과를 확인하기 위해 실험적으로 유발한 피부 상처에 직접 저강도 레이저를 조사한 이후, 그 변화 양상을 세포 형태학적으로 비교 연구하기 위해 시행하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

실험에 사용된 가토는 대한 동물 사육 센터에서 생산, 공급하는 8주령 (체중 2.5 Kg)의 건강한 웅성 가토 (New Zealand White Rabbit)를 분양 받아 사용하였으며, 이 실험 동물들은 동일한 조건을 유지하기 위해 clean rack에 넣어 동일한 환경에서 같은 고형사료 (제일유지 사료)로 일정 기간 사육하였다.

2. 실험 방법

1) 실험전 처치

피부 표면을 절개하기 위해 실험 동물의 수술 부위 털을 모두 제거하고 소독을 실시한 이후 2% lidocaine HCl을 사용하여 국소 마취하였다. 수술 부위는 견갑하각에서 수평으로 5 cm 부위에 2×2 cm 넓이로 근막 이전까지의 진피를 포함하여 피부 전두께에 걸쳐 절개하였고, 압박술로 지혈한 다음 일반적인 상처부위 소독을 실시한 이후, 수술 2일째부터 상처부위에 저강도 레이저를 조사하였다.

2) 레이저 조사

레이저 조사는 저강도 레이저 치료기인 MILTA-01 (Korea)을 사용하였으며, 레이저 조사 후 피부의 재감염을 방지하기 위해 멸균소독제로 피부 손상부위를 소독하였다. 실험군의 경우 (n=5) 12일 동안 매일 10분씩 1.6 J/cm², 830 nm, 5 Hz의 자극 강도로 상처부위에 레이저를 조사하였으며, 대조군의 경우 (n=5) 하루에 한 번 피부 손상부위에 일

반적인 상처 소독을 시행하였으나 직접적인 레이저 조사는 적용치 않았다.

3) 광학 및 투과전자현미경적 방법

광학 및 투과전자현미경적 관찰을 위해 실험 12일째 채취한 상처부위 조직을 1 mm³의 크기로 세절하여 2.5% glutaraldehyde 용액 (4℃, 0.1 M phosphate buffer, pH 7.2)에 2시간 고정하였고, 1% osmium tetroxide (0.1 M phosphate buffer, pH 7.2)로 실온에서 2시간 후고정하였다. 고정된 시료를 50% ethanol에서부터 농도 상승 순으로 탈수하였고, propylene oxide로 치환한 후 epoxy resin 혼합액에 포매하여 37℃에서 24시간, 60℃에서 48시간 동안 열중합시켰다. 제작된 시료는 ultramicrotome (LKB V형)으로 1 μm 두께의 절편을 만들어 toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였고, 60~80 nm의 초박절편을 제작하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자염색을 한 다음 투과전자현미경 (Hitachi H-7100, Japan)으로 관찰하였다.

결 과

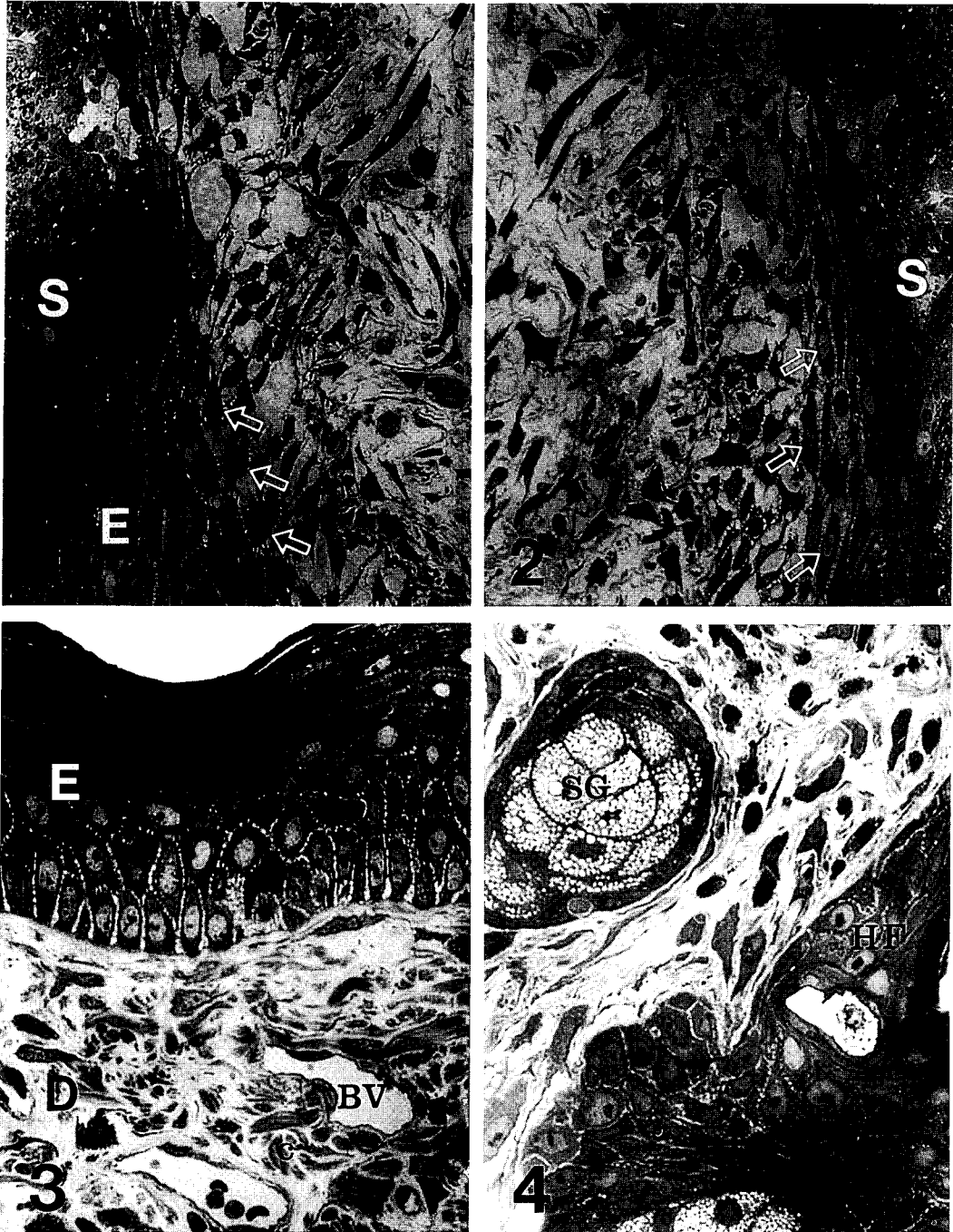
1. 육안적 소견

레이저를 조사하지 않은 대조군의 경우 실험 3일째까지 지속적인 피하 출혈과 절개부위에서 중증도의 염증성 소견이 관찰되었고 상처부위 또한 확장되는 것을 확인할 수 있었다. 이후 실험 6일이 경과하면서 다소 완만한 절개부위 상처 수축율이 관찰되었으나 실험 완료일까지 최종적인 결합조직의 수복 (repair)을 확인할 수 없었고 다소의 염증성 소견과 조직괴사를 확인할 수 있었다.

저강도 레이저를 조사한 실험군의 경우 실험 3일째까지 다소 경미한 출혈 소견과 상처부위의 염증성 소견이 관찰되었으나 실험 4일째 이후부터는 빠른 속도의 상처 수축율을 확인할 수 있었다. 특히 저강도 레이저 조사 7일 이후부터는 괴사성 상피조직과 가피 (scab)의 탈락이 관찰되었으며 특이적인 염증성 소견을 육안으로는 확인할 수 없었다. 최종적으로 실험 완료일에 레이저 조사군의 상처 수축은 거의 완료된 소견이 확인되었으며 육아조직이 잘 형성된 완전한 결합조직 수복이 관찰되었다.

2. 광학현미경적 소견

레이저를 조사하지 않은 대조군의 경우 상피층



Figs. 1, 2. A light micrograph of control rabbit skin. Migration of epidermal cells to the wound area was appeared beneath the scab (S). Migrating epidermal cells (E) having spike-like processes (arrows) are seen in flat and irregular epithelial cells. Toluidine blue stain. $\times 100$

Figs. 3, 4. A light micrograph of laser irradiated rabbit skin. Epidermis (E) has been healed with considerable thickening. The wound base is filled with newly formed connective tissues (C) and blood vessels (BV). D: dermis. SG: sebaceous gland. HF: hair follicle. Toluidine blue stain. $\times 200$

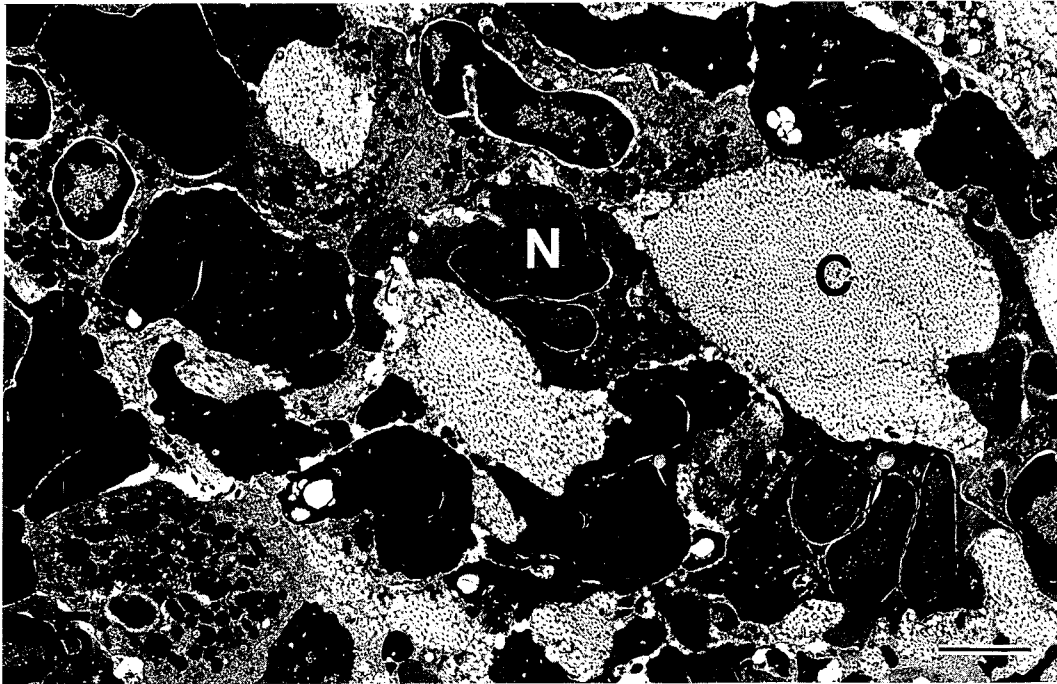


Fig. 5. Transmission electron micrograph of the skin wound in control rabbits. This micrograph shows that numerous inflammatory cells are found in dermis. C: collagen. N: neutrophil. Bar = 2 μ m.

Fig. 6. Transmission electron micrograph of the skin wound in control rabbits. This micrograph shows body of the mature fibroblast (F) in the damaged dermis. Plasma cells (P) contain dilated granular endoplasmic reticulum and well-developed golgi complex. Bar = 2 μ m.

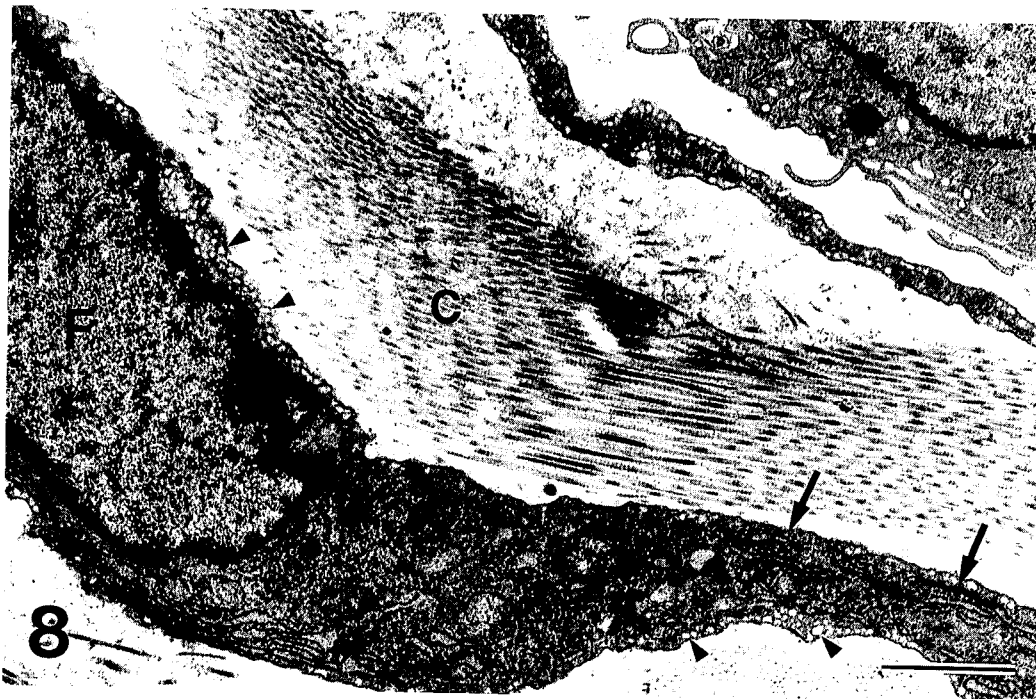
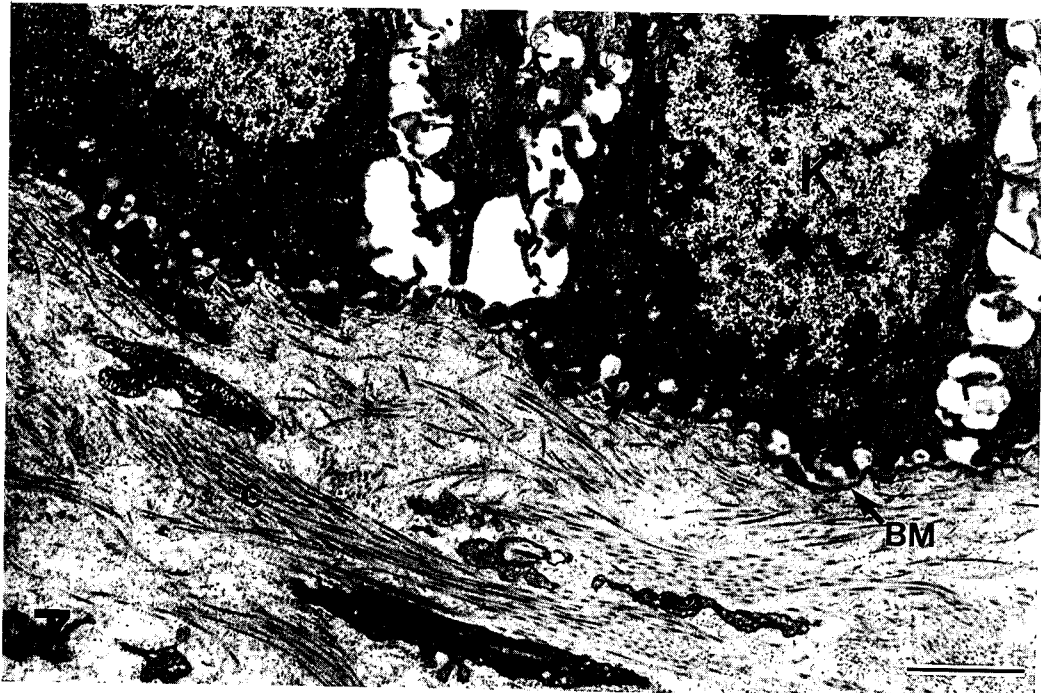


Fig. 7. Transmission electron micrograph of the rabbit skin wound after laser irradiation. Basement membrane (BM) is more developed, and hemidesmosomes (arrow heads) located in lamina lucida are also seen. C: collagen fibers K: keratinocyte. Bar = 2 μ m.

Fig. 8. Transmission electron micrograph of the rabbit skin wound after laser irradiation. In this laser irradiation groups, dense collagen fibers (C) are more developed and numerous than control groups. This micrograph depicts that fibroblasts (F) have prominent rough endoplasmic reticulum (arrows) and secretory vesicles (arrow heads). The dilated cisternae are filled with an amorphous material produced by the ribosomes. Bar = 2 μ m.



Fig. 9. Transmission electron micrograph of the rabbit skin wound after laser irradiation. This micrograph shows that the wound base is filled with newly formed connective tissue and the blood vessel (BV). Lamina lucida and lamina densa can be clearly seen (arrows). Parallel alignment of fibroblast (F) and collagen fibers (C) with dense arrangement in adjacent dermis can be seen. K: keratinocyte. Bar = 5 μ m.

과 진피층의 경계가 불분명하였으며, 상피화 과정이 완전히 이루어지지 않았으며, 가피 밑으로 스파이크 모양의 불규칙한 배열로 상피세포의 유주 (migration)가 관찰되었다. 진피층 내부에서는 다수의 염증성 세포의 출현이 확인되었고, 또한 결합조직의 배열이 매우 느슨하게 유지되고 있었으며, 교원섬유와 섬유아세포의 분포도 미약하고 불규칙한 것으로 관찰되었다 (Figs. 1, 2).

레이저 조사군의 경우 상피층과 진피층의 경계가 명확했으며 기저층에서 분열된 각화세포가 거의 정상적 배열을 이루고 있는 것으로 확인되었다. 진피층 내부에서는 치밀한 결합조직의 배열이 확인되었으며 신생혈관인 듯한 모세혈관이 다수 관찰되었고, 상처 재생의 최종 단계인 결합조직 재형성이 적절히 이루어지고 있는 것으로 관찰되었다 (Figs. 3, 4).

3. 전자현미경적 소견

대조군의 경우 진피층 내부에서 다수의 염증성 세포인 호중구 (neutrophil)의 출현이 관찰되었다 (Fig. 5). 특히 형질세포 (plasma cell)의 세포질 내에서는 발달된 골지체와 많은 확장된 과립 소포체가 확인되었으며, 섬유아세포의 경우 많은 조면 소포체를 함유하고 있는 것으로 관찰되었으나 전교원질이 함유된 분비소포의 발달은 미비한 것으로 관찰되었다 (Fig. 6).

레이저를 조사한 실험군의 경우 상피층과 진피층의 명확한 경계면을 확인할 수 있었으며 기저막에는 반부착반 (hemidesmosome)이 형성되어 있었고, 진피층에는 치밀한 배열의 교원섬유와 탄력섬유의 배열이 확인되었다 (Fig. 7). 교원섬유는 섬유아세포의 근처에서 섬유소와 혼합되어 나타났으며, 완전히 성장한 섬유아세포는 잘 발달된 핵을 지니고 교원섬유의 꼬여 합쳐진 다발 안에서 확인되었고, 많은 조면 소포체를 함유하고 있는 것으로 관찰되었다. 또한 전교원질을 함유한 듯한 다수의 분비과립이 세포막을 따라 배열된 모습이 관찰되었다 (Fig. 8).

상피의 구조는 난원형, 원형의 핵을 지닌 기저층 (basal layer)과 각질유리과립 (keratohyaline granules) 및 각화세포가 있는 가시층 (spinous layer)이 명확히 확인되었으며, 과립층 (granular layer)에서는 응축된 모양을 지닌 각질세포가 관찰되었다. 상처 표면 부위에 위치하는 각질세포는 외형이 매우 불규칙하고 복잡하게 뒤얽힌 모습으로 관찰

되었으며, 세포의 구성 밀도가 높은 것으로 확인되었다 (Fig. 9).

고 찰

피부는 외상 등으로 인해 창상을 입으면 염증이, 상피형성기, 재형성기의 여러 단계를 거치며 완전한 상처 치유와 조직 수복이 이루어진다²⁶⁾. 초기 염증 반응시 호중구가 출현하여 염증 반응에 관여하고⁸⁾, 상처부위의 섬유아세포가 조직 재생을 위해 상처부위로 이동하며¹⁰⁾, 또한 각질세포는 손상면을 따라 이동하여 증식, 분화하는 일련의 과정을 진행한다. 활성화된 섬유아세포는 손상 후 5일째 최대로 발달하게 되며 외상 후 2주 동안 빠른 속도로 교원질을 합성하고 모세혈관이 증식하며²⁹⁾, 최종적으로 type I 교원질이 형성됨으로써 조직 수복이 완성된다¹³⁾.

저강도 레이저는 직접적인 레이저 조사로 조직 내 생물학적 변화를 유도하기 위해 개발, 발전된 의료용 치료 도구로써 연부조직, 근골격계, 통증 반응 등의 치료를 위해 임상적으로 광범위하게 적용되고 있다. 초기 세포 기능에 대한 저강도 에너지의 효과를 증명하기 위한 연구는 주로 동부 유럽에서 진행, 발전되어 왔다^{14,20)}. 저강도 레이저 조사시 다양한 생체 자극의 효과를 확인하기 위한 연구로 상처 치유¹²⁾, 섬유아세포³⁰⁾, 연골세포²⁸⁾, 교원질 합성⁵⁾, 신경재생⁴⁾, 골절치유²¹⁾ 등의 광범위한 여러 임상 연구가 진행되어 왔다. 또한 레이저의 기전적 해석을 위한 기초 연구로써 교원질 합성능의 세포 작용 기전에 대한 동물 실험과 세포 배양을 통한 실험 보고에서 저강도 레이저 조사시 상처 재생과 밀접한 관련이 있는 교원질 합성이 현저히 증가된다고 보고되었고^{2,17)}, 또한 Helium-Neon 레이저를 사용한 연구에서 45 mW/cm²의 자극강도로 쥐 피부의 개방성 창상 부위에 레이저를 적용하였을 경우 교원질 합성 증가 및 빠른 상처 수축율, 그리고 상처부위의 장력이 유의하게 증가했다고 보고되었다¹⁾.

Helium-Neon 레이저를 사용한 또 다른 실험 연구에서, 배양한 인간 섬유아세포에 다양한 자극강도로 직접 레이저를 조사했을 때 전교원질의 합성이 약 4배 이상 증가되었으며 최대의 전교원질 합성은 비교적 낮은 강도로 적용한 실험군에서 확인되었고, 대조군과 비교시 약 36배 정도의 생합성 차이가 있는 것으로 보고되었다¹⁶⁾.

이와 같은 *in vivo*, *in vitro* 연구에서 얻어진 결과는 저강도 에너지의 레이저 조사는 상처 수복기에 중대한 영향을 미치는 교원질 대사에 매우 중요한 영향을 미치는 것으로 생각할 수 있으며, 본 연구의 레이저 조사군에서 확인된 섬유아세포의 활성화도와 섬유아세포 내에서 확인된 수많은 조면소포체의 관찰로 레이저의 생합성 자극 효과와 그 관련성을 부여할 수 있다.

레이저 자극을 통한 유전자 발현 양상에 대한 연구에서 Saperia 등²⁷⁾은 레이저 조사군의 경우 type I, III, 전교원질 mRNA의 유의한 발현 증가 양상을 보고하였고 이들 연구자들은 레이저 조사 시 교원질 합성 전구 유전자인 전교원질 유전자 발현에 대하여 전사 수준 (transcriptional level)에서 영향을 미칠 수 있을 것이라 보고하였다.

Labbe 등¹⁵⁾은 레이저 자극으로 인한 교원질 생합성의 변화는 교원질 형성시 propyl 잔기의 전사 기능을 변조하기 때문에 가능할 것이라고 제안하였다. 이들은 연구 보고에서 레이저 자극 이후 섬유아세포에 의한 hydroxyproline의 형성과 ascorbic acid의 흡수율 증가를 확인하였으며, ascorbic acid의 흡수 증가는 최종적으로 교원질 형성을 자극할 수도 있을 것이라는 기전을 제시하였다.

상처 치유와 밀접한 관련이 있는 면역체계에 대한 다수의 연구에서 레이저 조사는 상처 치유를 개선하는데 있어 중요한 역할을 담당하는 면역 체계에 많은 영향을 미치는 것으로 보고되었다^{19,20,22)}. 또한 각 레이저 자극기의 종류에 따른 면역체계에 미치는 효과를 증명하기 위해 인체에서 추출한 림프구에 대한 Helium-Neon 레이저와 Argon 레이저의 자극 효과를 비교한 연구에서 488 nm와 501 nm 파장의 Argon 레이저가 보다 유의한 면역억제 활성이 있는 것으로 보고되었다²⁰⁾. 림프구는 상처 수복시 상처 재생과 관련된 중요한 매개체의 역할을 담당하기 때문에 레이저 조사로 인한 면역체계의 자극이나 억제 효과는 상처 재생에 중요한 어떤 역할을 담당할 것으로 사료되나, 보다 명확한 면역체계에 대한 영향을 평가하기 위해서는 정확한 실험 조건에서 지속적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

면역체계에 대한 또 다른 연구로 대식세포의 역할과 관련된 레이저 자극 연구에서 Young 등³⁴⁾은 대식세포 유래 세포주인 U-937 세포에 각기 660, 820, 870 및 880 nm 파장의 레이저를 조사한 비교 연구 결과를 보고하였다. 이들은 실험 방

법에서 레이저 조사 12시간 후 대식세포 상청액 (supernatant)을 제거한 이후 생쥐 유래 섬유아세포를 이식한 다음 지속적인 섬유아세포의 증식현상을 관찰하였는데, 620, 820, 870 nm 파장의 자극 조건에서 배양된 섬유아세포의 증식이 대조군과 비교할 때 유의하게 증가하는 것으로 확인하였으나, 880 nm 파장의 레이저 자극군은 오히려 섬유아세포의 증식이 억제되었다고 보고하였다. 대식세포는 조직 수복과 재형성 과정에 능동적으로 참여하는 세포 조직으로써 섬유아세포 및 내피세포 (endothelial cell)의 증식, 횡문근세포 (smooth muscle cell)의 증식과 이동 (migration)에 중요한 역할을 담당하는 성장인자와 cytokine의 주요원으로서 기능하는 것이 확인된 세포이다²⁴⁾. 따라서 Young 등³⁴⁾의 연구 결과에서 확인된 유효파장인 820 nm 파장과 비슷한 자극 파장인 830 nm의 파장을 적용한 본 연구 결과 또한 저강도 레이저 조사로 대식세포 유래의 cytokine과 성장인자의 발현에 영향을 미칠 수 있는 것으로 생각할 수 있으며, 결과적으로 레이저 조사군의 유의한 상처 재생 효과와 밀접한 관련성이 존재하는 것으로 사료된다.

이상과 같이 다양한 여러 기초 연구를 통해 저강도 레이저 조사가 상처 치유에 유의한 영향을 미치는 것으로 확인된 많은 연구 보고들이 존재하나, 레이저 자극시 세포 형태적인 미세구조 변화에 대한 연구는 다소 미비한 실정이다. 따라서 본 연구자들은 실험적으로 유도된 가토 피부 상처에 저강도 레이저 자극을 시행한 후, 상처 재생에 미치는 영향을 광학 및 전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

저강도 레이저 조사군의 경우 자극 초기 대조군과 비교하여 염증 반응이 빠르게 진행되었으며, 상처 수복에 중대한 영향을 미치는 섬유아세포의 활성화도가 매우 활발하였다. 특히, 풍부하게 관찰된 섬유아세포의 조면소포체를 통해 결합조직 형성에 밀접한 영향을 미치는 교원질의 합성이 활발한 것으로 판단되었고, 치밀하게 배열된 교원섬유 형성으로 이러한 사실을 확인할 수 있었다.

본 실험의 결과로써 저강도 레이저는 손상 초기 염증기에 작용하는 염증세포의 이동을 활성화시키고, 미분화 상태의 간엽세포를 자극하여 세포의 활성도를 활성화시키며 결과적으로 상처 재생을 촉진하는 것으로 사료되나, 보다 명확한 과학적 기전과 적절한 자극강도를 확인하기 위해서

계속적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

참 고 문 헌

- 1) Abergel RA, Lyons RF and Castel JC (1987): Biostimulation of wound healing by lasers: Experimental approaches in animal models and in fibroblast cultures. *J Dermatol Surg Oncol*, **13**: 127-133.
- 2) Abergel RP, Meeker CA and Lam TS (1984): Control of connective tissue metabolism by lasers: Recent developments and future prospects. *J Am Acad Dermatol*, **11**: 1142-1150.
- 3) Alvarez OM, Goslen JB, Eaglestein WH, Welgus HG and Stricklin GP (1987): Wound healing, Chap. 27. In Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolf K, Freedberg IM and Austen KF (Eds.), "Dermatology for General Medicine" 3rd Ed., McGraw Hill, New York.
- 4) Anders JJ, Broke RC, Woolery SK and Merwe WP (1993): Low power laser irradiation alters the rate of regeneration of the rat facial nerve. *Lasers Surg Med*, **13**: 72-82.
- 5) Balboni GC, Brandi ML, Zonefrati R and Repice F (1986): Effects of He-Ne/I.R. laser irradiation on two lines of normal human fibroblasts *in vitro*. *Arch Ital Anat Embriol*, **91**: 179-188.
- 6) Basford JR (1989): Low-energy laser therapy: Controversies and new research findings. *Lasers Surg Med*, **9**: 1-5.
- 7) Bennett WR Jr, Faust WL and McFarlane RA (1962): Dissociative excitation transfer and optical maser oscillation in NeO₂ and ArO₂ discharge. *Physiol Rev*, **8**: 470-473.
- 8) Bryant WM (1997): Wound healing. *Clinical Symposia*, **29**(3): 9.
- 9) Cohen IK, Diegelmann RF, Lindblad WJ, editors (1992): Wound Healing. pp 5-75. Biochemical and Clinical Aspects. PA: Saunders, Philadelphia.
- 10) Hunt TK, Banda MJ and Silber IA (1985): Cell interactions in post-traumatic fibrosis. *Clin Symp*, **114**: 128-149.
- 11) Javan A, Bennett WR Jr and Herriott DR (1961): Population inversion and continuous optical maser oscillation in a gas discharge containing a HeNe mixture. *Physiol Rev*, **6**: 106-110.
- 12) Kana JS, Hutschenreiter G, Haina D and Waidelich W (1981): Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Arch Surg*, **116**: 293-296.
- 13) Knapp TR, Daniel JR and Kaplan EN (1977): Pathologic scar formation. *Am J Pathol*, **86**: 44-70.
- 14) Kovacs I, Mester E and Gorog P (1974): Stimulation of wound healing by laser rays as estimated by means of rabbit ear chamber method. *Acta Chir Acad Sci Hung*, **15**: 427-432.
- 15) Labbe RF, Skogerboe KJ, Davis HA and Rettmeyer RL (1990): Laser photobioactivation mechanisms: *In vitro* studies using ascorbic acid uptake and hydroxyproline formation as biochemical markers of irradiation response. *Lasers Surg Med*, **10**: 201-207.
- 16) Lam TS, Abergel RP and Meeker CA (1986): Laser stimulation of collagen synthesis in human skin fibroblast culture. *Lasers Life Sci*, **1**: 161-177.
- 17) Lyons RF, Abergel RP and White RA (1987): Biostimulation of wound healing *in vivo* and a helium-neon laser. *Ann Plast Surg*, **18**: 47-50.
- 18) Maiman TH (1960): Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*, **187**: 493-494.
- 19) Mester E, Nabylucskay S, Doklen A and Tisza S (1976): Laser stimulation of wound healing. *Acta Chir Acad Sci Hung*, **17**: 49-55.
- 20) Mester E, Nagylucskay S and Tisza A (1978): Stimulation of wound healing by means of laser rays. *Acta Chir Acad Sci Hung*, **19**: 163-170.
- 21) Nagasawa A, Kato K and Negishi A (1991): Bone regeneration effect of low level lasers including argon laser. *Laser Ther*, **3**: 59-62.
- 22) Ohta A, Abergel RP and Uitto J (1987): Laser modulation of human immune system: Inhibition of lymphocyte proliferation by a gallium-arsenide laser at low energy. *Laser Surg Med*, **7**: 199-201.
- 23) Patel CKN, McFarlane RA and Faust WL (1964): Selective excitation through vibrational energy transfer and optical maser action in N₂-CO₂. *Physiol Rev*, **13**: 617-619.
- 24) Rappolee DA, Mark D, Banda MJ and Werb Z

- (1988): Wound macrophages express TGF- α and other growth factors in vivo: Analysis by mRNA phenotyping. *Science*, **241**: 708-712.
- 25) Ratz JL (1995): Clinics in dermatology. *Laser Physics*, **13**: 11-20.
- 26) Robbins SL, Cotran RS and Kumar V (1984): Wound healing. pp. 73-81, Pathologic basis of disease, 3rd ed. WB Saunders Company, USA.
- 27) Saperia D, Glassberg E and Lyons RF (1986): Demonstration of elevated type I and III procollagen mRNA levels in cutaneous wounds treated with the helium-neon laser: Proposed mechanism for enhanced wound healing. *Biochem Biophys Res Commun*, **138**: 1123-1128.
- 28) Schultz RJ, Krishnamurthy S, Thelmo W, Rodriguez JE and Harvey G (1985): Effects of varying intensities of laser energy on articular cartilage. *Lasers Surg Med*, **5**: 557-588.
- 29) Shosham S (1987): Wound healing. *Int Rev Connective Tissue Res*, **9**: 1-24.
- 30) Soudry M, Franquin JC, Pourrean-Schreider N and Martin PM (1988): Action d'un laser helium-neon sur la croissance cellular: Etude *in vitro* sur fibroblastes gingivaux humains. *J Biol Buccale*, **16**: 129-135.
- 31) Takema T, Yamaguchi M and Abiko Y (2000): Reduction of plasminogen activator activity stimulated by lipopolysaccharide from periodontal pathogen in human gingival fibroblasts by low-energy laser irradiation. *Laser Med Sci*, **15**: 35-42.
- 32) Walker MD, Rumpf S, Baxter GD, Hirst DG and Lowe AS (2000): Effect of low-intensity laser irradiation (660 nm) on a radiation-impaired wound-healing model in murine skin. *Lasers Surg Med*, **26**(1): 41-47.
- 33) Walsh LJ (1997): The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. *Aust Dent J*, **42**(4): 247-254.
- 34) Young S, Bolton P and Dyson M (1989): Macrophage responsiveness to light therapy. *Lasers Surg Med*, **9**: 497-505.
- 35) Yu W, Naim JO and Lanzafame RJ (1997): Effects of photostimulation on wound healing in diabetic mice. *Lasers Surg Med*, **20**(1): 56-63.

=Abstract=

**The Study on Wound Healing in Rabbit Skins by Low-intensity
Laser Irradiation**

Sik Hyun Kim and Jin Seok Jeon[†]

Department of Biology, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

The skin is an organ that has many important roles, including protection against infection, regulation of temperature and fluid loss, and sensory function. Injury to the skin, wound repair normally involves: (1) balanced activity of inflammation, (2) the re-epithelial phase and (3) the matrix formation of remodeling phase. Thus, skin wound healing is a finely controlled biological process involving a series of complex cellular interactions. Laser therapy is being implemented with increasing frequency in medicine. Low intensity laser is one that is capable of producing an energy density so low that any biologic alterations are the result of direct irradiation effect, not thermal events. This study was designed to evaluate the efficacy of low intensity laser therapy on skin wound healing in rabbits. A total of 10 male rabbits (New Zealand White Rabbit), age 8 weeks were used. Skin wound were surgically created dorso-lateral on the flank of 10 rabbits (2×2 cm/damage areas). The experimental animals were treated with 5 Hz (830 nm wave length) low-intensity laser (MILTA-01 Model) daily for 10 min (1.6 J/cm²) for 12 days. Control animals were sham treated with the laser head. Laser irradiation animals showed a complete remodeling of the epithelial layer, a positive repair of connective tissues, and enhanced the wound closure rate over time as compared to the control animals. Especially, laser irradiation groups improved fibroblast activity, cellular content, granulation tissue formation, and collagen deposition which is resulted in improving the tensile strength of the wound. These findings suggest that laser photostimulation could accelerate healing of open wound in rabbits, and may be benefit in the treatment of open wound, including decubitus ulcers.

Key Words: Wound healing, Low-intensity laser therapy, Fibroblast

[Korean J. Biomed. Lab. Sci., 6(2): 119-129, June, 2000]

[†] Corresponding author

