

개에서 피부세정제 적용빈도가 정상피부에 미치는 영향

유종원 · 신희주 · 배슬기 · 최성원 · 오태호¹

경북대학교 수의과대학 피부과학실험실

(게재승인: 2013년 8월 10일)

Functional Assessment of Frequency of a Commercial Shampoo for Normal Canine Skin

Jong-won YU, Hee-Ju SHIN, Seulgi BAE, Sungwon CHOI and Tae-ho OH¹

Laboratory of Veterinary Dermatology, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract : Canine skin is a highly dynamic organ that is constantly adapted to changes in its environment. It provides structural, sensory, immunologic, and physiologic functions and contributes an essential barrier function against potential environmental insults. We assessed the changes of canine skin hydration, pH, and protein contents by noninvasive method according to the frequency of application with canine commercial shampoo. Canine commercial shampoo was applied topically every other day, 5 days, and 8 days on different sites, respectively in 8 dogs. Saline-applied site was as a control. Skin hydration was increased and skin surface pH was decreased significantly in canine commercial shampoo-applied site every other day ($p < 0.05$). Also, skin protein concentration measured by D-squame[®] tape stripping method was increased significantly in canine commercial shampoo-applied site every other day ($p < 0.05$). There were alterations on every 5 days and 8 days, but not significantly. These results may be recognized that the frequent use of canine commercial shampoo cause abnormalities of the skin barrier function and alteration of stratum corneum integrity/cohesion. Consequently it was suggested that bathing the dog with canine commercial shampoo was appropriate every 5 or 8 days.

Key words : skin pH, hydration, D-squame, dog.

서 론

개의 피부는 물리적 · 화학적 · 미생물적인 외부 위험요소로부터 생체를 보호하기 위해 표피의 가장 바깥층인 각질층을 형성한다(5,11). 각질층은 일차적으로는 물리적인 방벽을 형성하고, 외층에 형성된 유체형태로 피지와 한선분비물이 밀집된 각화 세포사이로 스며들어 장벽으로 기능한다(11). 이러한 물리적 요소와 더불어 유체는 잠재 병원균에 대한 화학적 장벽을 제공하고 각질층의 습윤도, 산성도, 염도 및 유분등의 피부환경변화는 미생물의 침입과 집락 형성에 영향을 미친다. 따라서 각질층내에 형성된 보호장벽은 피부의 가장 바깥 층에서 외부 환경의 위험요소들로부터 생체를 보호하는 중요한 역할을 하고 있다.

정상적으로, 피부의 각질층은 각화과정을 거치게 된다(5,13). 이 과정은 각질층 내 각화세포들 간의 결합력이 소실로 인해 탈락된 각화 세포와 기저층으로부터 분화되고 성숙되는 세포간의 세밀한 균형을 통해 보호장벽을 구성하고 각

질층의 안정성이 지속적으로 유지하는 역할을 한다. 결국 각질층은 각화세포가 연속적으로 탈락하면서도 일정한 고유한 구조를 유지하게 된다.

개의 정상적인 각화과정은 22일정도로 알려져 있으며, 이 과정을 악화시키는 원인으로는 대부분의 피부질환, 반복되는 자극 및 환경적 요인 등이다(8,16). 일반적인 실내 사육 반려견은 냄새, 오물 등의 제거와 같은 위생적인 목적으로 샴푸를 하는데, 이때 샴푸의 부적절한 적용은 앞에서 언급한 바와 같이 피부의 각화과정을 단축시키는 반복적인 피부 자극 원인으로 작용할 수 있으며, 이는 정상적인 각화과정에 영향을 줄 수 있다. 그 결과, 각질이 증가하고 건조증이 유발되며, 지속적인 피부 문제점을 통해 가려움증, 비듬 및 발적과 같은 피부증세를 보이게 된다(8,11).

그러나, 개의 피부상태를 시진과 같은 주관적인 평가가 아닌 객관적으로 평가 할 수 있는 방법이 수의학 분야에서는 정립되지 않은 실정이다. 따라서, 본 연구의 목적은 개의 피부상태를 보다 객관적으로 평가하기 위해 비침습적인 방법을 이용한 피부세정제 적용 빈도에 따른 피부 산성도, 피부 수화도와 같은 객관적 피부 기능평가 및 D-Squame[®]을 이용한 피부 건조증 평가 가능성을 알아보고 이러한 결과들을 토

¹Corresponding author.
E-mail : toh@knu.ac.kr

대로 적절한 피부세정제 적용빈도를 확립하는 것이다.

재료 및 방법

실험 동물

실험동물은 피부질환을 보이지 않는 수컷 2마리와 암컷 6마리, 총8마리의 잡종견이며, 연령은 2-5세, 체중은 5-6 kg 정도이다. 실험 전 일반적인 신체검사와 피부검사를 시행하여 피부질환이 관찰되지 않은 개체를 선정하였다. 실험동물은 실험전 1시간 정도 실내에서 계류하였다.

실험 설계

실험견의 등 부위는 좌측과 우측 두 부분으로 구분하고, 좌우 각 부위를 다시 좌측, 중앙, 우측의3개 부위로 구분하였다. 측정 부위는 기본 데이터를 얻기 전에 10호 제모기(Oyster®, USA)로 제모하였다. 각 측정부위는 시료가 주변부로 확산되는 것을 방지 위하여 60×60 mm 크기의 Medical Bandage (Micropore®, 3M)로 구획화 하였다. 좌측은 실험군으로, 우측은 대조군으로 설정하고, 실험군에는 상용 샴푸(Fig 1) 200 µl를 각 부위의 중앙에 적용하고, 손가락으로 3 분 정도 문지른 후 증류수로 씻어낸다. 샴푸를 2일 1회 적용한 최초 구역은 그룹 A, 5일 1회 적용한 2번째 구역은 그룹 B, 마지막으로 8일 1회 적용한 3 번째 구역은 그룹 C로 설정하였다. 우측의 대조군 구역은 좌측의 샴푸적용 시기와 동일하게 생리식염수로 처치하였다.

피부 평가

피부 산성도 및 수화도 측정

표준 환경 (실내온도; 20-22°C, 상대습도; 30~40%) 상태에서 측정하였다. 피부표면의 산성도는 피부 pH 측정기 pH900 (Courage & Khazaka)으로 측정하였으며, 수치는 5회 측정치를 평균값으로 표시하였다. 피부의 수화도는 Corneometer (Corneometer CM825, Courage & Khazaka)로 측정하였다 (8). 수화도 역시 각 실험부위로부터 5회 측정치를 얻은 뒤 평균값을 구했다.

Table 1. Ingredients of the commercial shampoo (Bio Pet B&B, Hurbis, Henkel Germany)

Water
Laureth glucoside
Sodium
Laureth sulfate
Cocoglucoside and glyceryl oleate
Sodium laureth sulfate and glycol
Distrearate and cocamide mea and laureth 10
Peg-7 glyceryl cocoate
Sodium chloride
Etidronic acid
Fragrance
Propylene glycol
5-Bromo-5-nitro-1.3-dioxane
Yellow No.4

피부 건조도 및 단백질 측정

피부 건조도와 스케일링은 투명한 자동 접촉 디스크인 D-Squame® (CuDerm Corporation, Dallas, TX, USA, 1.4 cm)을 이용하여 측정하였다. D-Squame®은 각 테스트 부위에 표준화된 압력(300 g/cm²)으로 10초 동안 적용하였다. D-Squame®은 검자를 이용하여 45° 각도로 제거하였다. 제거한 D-Squame®들은 PMS용액(toluidine blue and basic fuchsin in 30% ethyl alcohol; Delasco, Council Bluffs, IA, USA)으로 30초 동안 염색하고 증류수 10 ml로 각 3번씩 세정하였다. 염색한 D-Squame®은 슬라이드 글라스에 고정시킨 후 현미경을 이용하여 이미지 분석을 실시하였다. 피부 단백질 함량 측정 실험(Bio-Rad Protein-Assay-Kit, Bio-Rad Laboratories, Munich, Germany)은 예전에 제시된 방법을 적용해 단백질량을 정량하였다(13,18). 단백질 정량은 BSA (Bovine serum albumin)의 흡광도법을 이용하여 실시하였다. 회수된 5개의 D-Squame®은 1M NaOH 4 ml와 함께 37°C에서 1시간 동안 120rpm으로 진탕 배양기(Shaking incubator) 안에서 유지한 후 1M의 HCl로 중화시켰다. 중화시킨 용액에서 0.1 ml를 분리하여 Bio-Rad에서 나온 단백질 염색약물 0.9 ml와 혼합 후 10분간 배양기 내에서 유지시켰다. 10분 유지한 후 용액을 UV photospectrometer® (Metertech SP-850, Taiwan)로 595 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 단백질을 정량하였다(12,13,18).

결 과

피부 수화도

샴푸 적용 후 일정한 기간이 지나 세 그룹 모두 기본값보다 수화도가 떨어지는 것으로 나타났다. 그룹 A는 샴푸 적용 후 대조군과 비교하여 유의적으로 수화도가 유지되다가 8일 이후부터 대조군과 비슷해지는 양상을 나타낸다(Fig 1). 그룹 B (Fig 2)와 C (Fig 3)는 대조군과 비교해 수화도 차이가 거의 없는 것으로 나타났다.

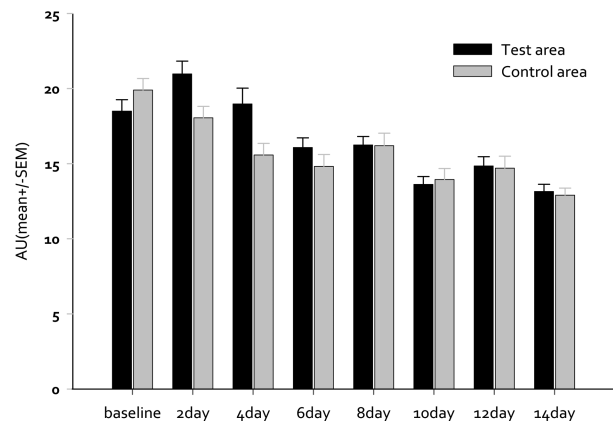


Fig 1. Alteration of hydration in group A after commercial shampoo application. After 8 days hydration of test was similar with control.

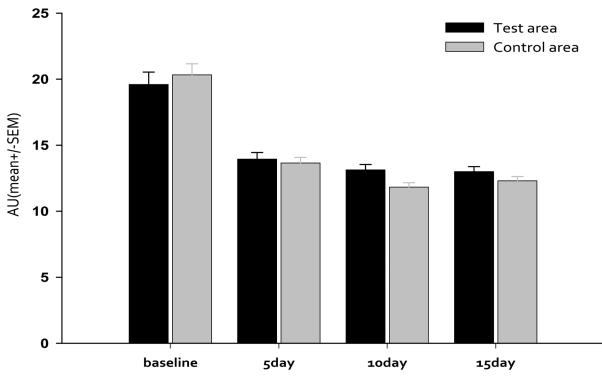


Fig 2. Alteration of hydration in group B after commercial shampoo application. Group B showed no significant change compared with control.

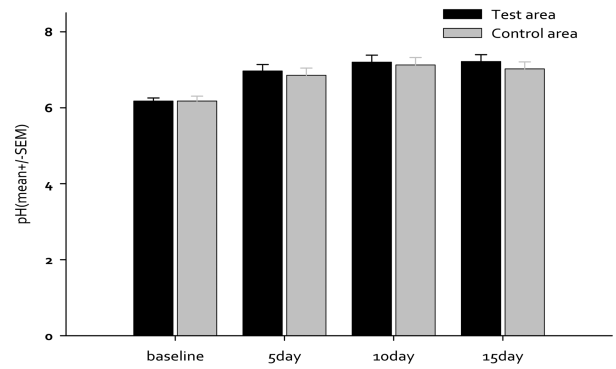


Fig 5. Alteration of skin pH in group B after commercial shampoo. Group B showed no significant change compared with control.

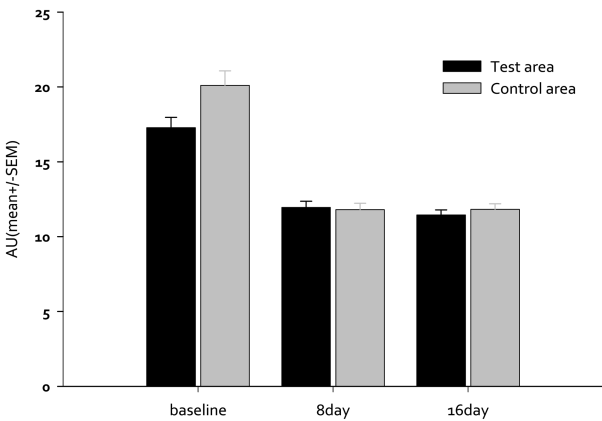


Fig 3. Alteration of hydration in group C after commercial shampoo. Group C showed no significant change compared with control.

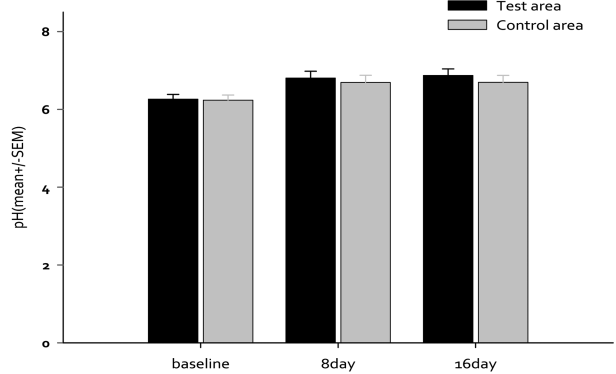


Fig 6. Alteration of skin pH in group C after commercial shampoo. Group C showed no significant changes compared with control.

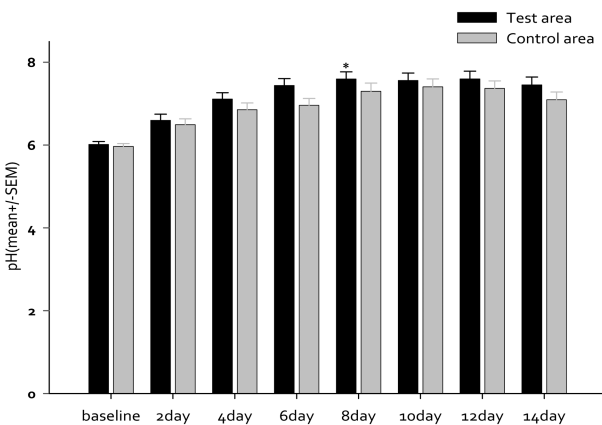


Fig 4. Alteration of skin pH in group A after commercial shampoo. Group A showed significant increase to 8 days compared with control.

피부 산성도

샴푸 적용 후 그룹 A는 대조군과 비교해 산성도가 유의적으로 증가하였으나 8일 이후부터는 산성도의 변화가 없었다 (Fig 4). 그룹B, C는 대조군과 비교하여 산성도의 차이가 없

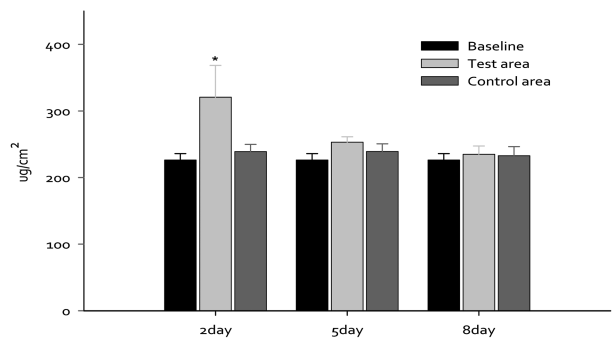


Fig 7. The comparison of protein concentration in Group A, B, C after commercial shampoo. The group A showed an increase compared with control, but group B and C showed no increase.

었다(Figs 5, 6).

D-squame®을 이용한 피부 단백질농도 측정

샴푸 적용 후 D-squame®을 이용하여 단백질농도를 측정 한 그룹 A에서 대조군이나 기본값에 비해 단백질농도가 높게 나타났다. 그룹B, C는 대조군과 비교해 큰 차이를 보이지 않았다(Fig 7).

D-squame[®]을 이용한 이미지 분석

샴푸 적용 후 D-squame[®]을 이용한 이미지 분석 결과, 그룹 A에서 대조군과 비교하여 gray scale level이 낮게 나타났다(Fig 8). 그룹B (Fig 9), C (Fig 10)는 대조군과 비교하여 큰 차이를 보이지 않았다.

고 찰

개의 피부상태에 대한 객관적인 평가 방법은 수의 피부학 분야에서 중요한 관심사이다. 비록 인의에서는 피부 산성도, 보습도, D-squame[®]을 이용한 이미지 분석과 각질층의 단백질 농도 측정을 통해 각질층 결합력의 평가를 통해 피부장벽기능을 평가하고 있다(12,13). 그러나 수의분야에서는 이같은 기본적인 피부검사 방법의 정립이 되어 있지 않고 있으며 다양한 견종들에 대한 전체적인 조사가 아직 이루어지지 않았으며, 특히 이 방법을 개 피부에 적용하여 응용할 수 있는 표준화가 이루어지지 않은 현실이다. 또한 연령별, 신체 각 부위별, 종별 다양성에 대한 차이도 고려해야 될 것이다.

건조한 피부상태는 현재 수의 피부학에서 자주 접하게 되는 중요한 피부증상이나 아직 일지되는 정의가 내려지지 않고 있다. 각질층 내에 존재하는 세포내 지질의 양과 질, 수분량, 각화의 속도 그리고 피부 표면의 외관상의 형태 등으로 각화를 설명하고 있다(16). 건조한 피부는 외관상 거칠고 각질 생성으로 피부 표면 색이 다소 창백하며, 혹은 더 진행된 경우 거친 면에 비듬과 같은 특징적인 피부증상을 보인다. 본 연구에서는 샴푸를 적용한 군과 생리식염수만 적용한 군 모두에서 기저값에 비해 피부 수화도가 감소하였으나 유의하지는 않았다. 대조군과의 피부 수화도 차이가 없는 이유는 적용된 상용샴푸(Bio Pet B&B, Hurbis, Henkel Germany)의 보습효과가 낮기 때문일 수도 있어 다른 상용샴푸와의 비교실험이 필요할 것으로 생각된다. 그리고 샴푸의 적용기간을 장기화하여 관찰하는 것이 필요하다. 건조한 정도는 임상적으로도 평가할 수 있으나 객관적으로 평가 할 수 있는 지표가 먼저 확립되어야 하며, 특히 임상분야와 관련하여 특이 질병 발병 시의 피부 상태나, 정상피부에서의 기본적인 구조와 기능에 대한 연구가 활발히 진행되어야 할 것이다.

일반적인 포유류의 피부 pH는 산성이다(10). 본 연구에서 정상적인 개의 피부 pH는 6.2에서 7.8로서 부위와 검사 일에 따라 다양한 결과를 보였다. 하지만 적은 개체수 측정에도 불구하고 실험동물의 pH는 연속적으로 정상치를 나타냈다. 사람에서 피부표면의 완충능력은 땀에 포함된 lactic acid나 ammonia, amino acid와 같은 몇몇의 완충체계에 의해 내·외부로부터 유래한 산성 및 알칼리성 자극을 완충해 준다(16). 피부표면의 산성도와 항 세균 활성은 연관성이 있다 것으로 알려져 있으며 일반적으로 염증이 피부표면의 산성도는 산성 혹은 중성에서 알칼리로 변한다. *S. aureus*가 성장을 유지하기 위한 적절한 pH는 7.0-7.5이지만 이 세균은 pH 4.5-9.0의 환경 하에서도 증식을 할 수 있다(3). 정상적인 개의 피부표면 pH는 앞서 말한 바와 같이 6.2-7.8이며, 여름에 pH가 가장 높다(14). 그러므로 개의 피부는 여름철 특히 고온 다습한 환경에서 세균감염에 특히 취약하다고 할 수 있다. 본 연구에서는 샴푸 적용 후에 피부 표면의 pH가 다소 상승을 보이긴 하였지만, 정상 범위를 유지하였다. 이는 개의 피부에서도 사람의 피부 완충능과 같은 산성도의 항상성을 유지하려는 생체반응이 일어나기 때문인 것으로 생각된

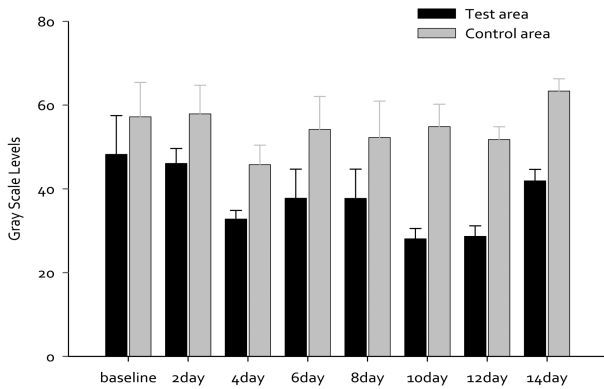


Fig 8. Image analysis using D-squame[®] in group A after applying commercial shampoo. Gray scale levels in group A is lower than those of control (Group A showed a decreased gray scale level compared with control).

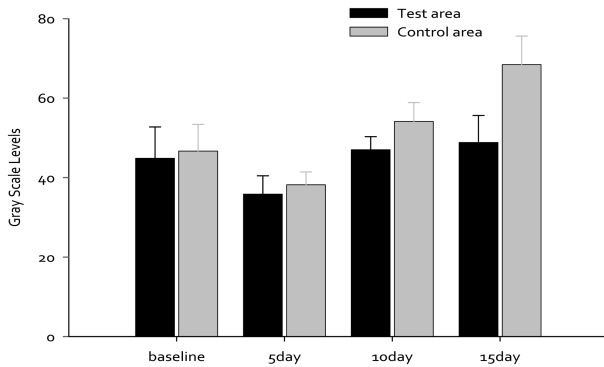


Fig 9. Image analysis using D-squame[®] in group B after applying commercial shampoo. Group B showed no change gray scale level compared with control.

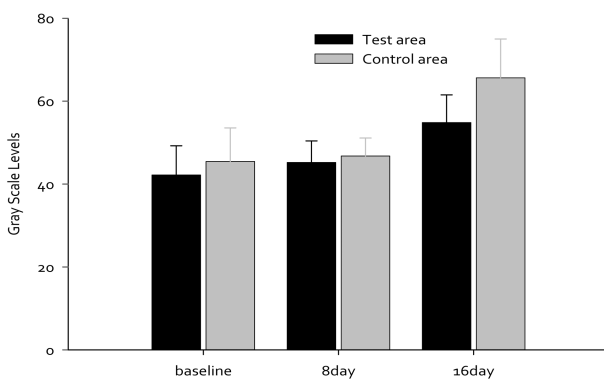


Fig 10. Image analysis using D-squame[®] in group C after applying commercial shampoo. Group C showed no change gray scale level compared with control.

다. 본 연구에 사용된 pH meter는 피부에 아무런 해를 끼치지 않고 활용 가능한 비 침습성 기구이다. 하지만 본 연구의 기간이 짧고 측정된 자료의 양과 범위가 제한적이어서 더 다양한 부위에 반복적이며 장기간에 걸친 샴푸 적용시 측정자료가 필요할 것으로 생각된다.

각질층은 외부환경으로 수분소실을 막아 피부 고유의 탄력성을 유지한다. 또한 피부의 수분은 각질세포의 성숙과 기능에 다양하게 작용하는 여러 효소가 기능하는데 사용된다. 하지만 피부는 생체 내·외부의 경계에 위치하며 끊임없이 환경의 영향을 받게 된다. 그 결과 고유한 세포간의 통합성과 응집성의 변화, 즉 각화과정이 중요하다. 피부 단백질 검사 결과에서 보여지듯 2일에 1회의 빈도로 샴푸를 적용한 경우 다른 그룹과 비교해 더 많은 피부 단백질 소실이 D-squame®을 통해 확인되었다. 이는 빈번한 샴푸적용이 각질세포간의 부착력에 영향을 미치고 탈락을 유발하는 것으로 생각된다. 하지만 제거된 피부 단백질의 근원에 대해서는 더 연구되어야 할 것이다.

본 실험은 상용 샴푸 사용빈도에 대한 개 피부의 변화상을 비 침습적인 방법으로 알아보았다. 본 연구에서 적용된 D-squame®은 각화된 표피의 단백질을 분석하여 피부 건조증의 진단에 유용할 것으로 생각된다. 하지만 개의 털이 측정에 미치는 영향과 피부 각 부위의 차이도 고려해야 할 것이다. 위의 모든 결과를 토대로 개의 샴푸 적용빈도는 5-8일이 적당한 것으로 생각된다. 사람 피부에서 정립되어 있는 각화지수(17,18)와 비듬지수(18) 또한 수의 피부학 분야에서 확립시켜야 할 것이며, 개 피부의 기본 생리에 대한 체계적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

- August JR, Chickering WR, Rikihisa Y. Congenital ichthyosis in a dog: comparison with the human ichthyosiform dermatoses. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1998;10:40-45.
- Berardesca E. EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. *Skin Res Technol* 1997; 3: 126-132.
- Carson CF, Riley TV. The antimicrobial activity of tea tree oil. *Med J Aust* 1994; 160: 236.
- Chesney CJ. Measurement of skin hydration in normal dogs and in dogs with atopy or a scaling dermatosis. *J Small Anim Pract* 1995; 36: 305-309.
- Elias PM. Stratum corneum defensive functions: an integrated view. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 183-200.
- Fluhr JW, Kao J, Jain M, Ahn SK, Feingold KR, Elias PM. Generation of free fatty acids from phospholipids regulates stratum corneum acidification and integrity. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 44-51.
- Harding CR, Watkinson A, Rawlings AV. Dry skin, moisturization and corneodesmolysis. *Int J Cosmet Sci* 2000; 22: 21-52.
- Harding CR. The stratum corneum: structure and function in health and disease. *Dermatol Therapy* 2004; 17: 6-16.
- Jenkinson DM. Sweat and sebaceous glands and their function in domestic animals. *Adv Vet Dermatol* 1989; 1: 229-251.
- Joachim W, Martin J, Barbara E, David G. Stratum Corneum Acidification in Neonatal Skin: Secretory Phospholipase A2 and the Sodium/Hydrogen Antiporter-1 Acidify Neonatal Rat Stratum Corneum. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 320-329.
- Kollias N, Stamatas GN. Optical non-invasive approaches to diagnosis of skin diseases. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2002; 7: 64-75.
- Lindemann U, Weigmann HJ, Schaefer H, Sterry W, Lademann J. Evaluation of the pseudo-absorption method to quantify human stratum corneum removed by tape stripping using protein absorption. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2003; 16: 228-236.
- Lloyd DH, Garthwaite G. Epidermal structure and surface topography of canine skin. *Res Vet Sci* 1982; 33: 99-104.
- Matousek JL, Campbell KL, Kakoma I, Schaeffer DJ. The effects of four acidifying sprays, vinegar, and water on canine cutaneous pH levels. *J Am Anim Hosp Assoc* 2003; 39: 29-33.
- Murakami M, Ohtake T, Dorschner RA, Schitteck B, Garbe C, Gallo RL. Cathelicidin anti-microbial peptide expression in sweat, an innate defense system for the skin. *J Invest Dermatol* 2002; 119: 1090-1095.
- Rawlings AV, Watkinson AW, Rogers J, Mayo AM, Hope J, Scott IR. Abnormalities in stratum corneum structure, lipid composition and demosomal degradation in soap-induced winter xerosis. *J Soc Cosmet Chem* 1994; 45: 203-220.
- Soma Y, Kashima M, Imaizumi A, Takahama H, Kawakami T, Mizoguchi M. Moisturizing effects of topical nicotinamide on atopic dry skin. *Int J Dermatol* 2005; 44: 197-202.
- Weigmann H, Lademann J, Meffert H, Schaefer H, Sterry W. Determination of the horny layer profile by tape stripping in combination with optical spectroscopy in the visible range as a prerequisite to quantify percutaneous absorption. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 1999; 12: 34-45.
- Weigman HJ, Lindemann U, Antoniou C, Tsirikas GN, Stratigos AI, Katsambas A, Sterry W, Lademann J. UV/VIS absorbance allows rapid, accurate, and reproducible mass determination of corneocytes removed by tape stripping. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2003; 16: 217-227.
- Wilhelm KP, Kaspar K, Schumann F, Articus K. Development and validation of a semiautomatic image analysis system for measuring skin desquamation with D-Squames. *Skin Res Technol* 2002; 8: 98-105.
- Yogeshvar N. Kalia, Ingo Alberti, Nabila Skkat, Catherine Curdy, Aarti Naik, Richard H. Guy. Non-invasive assessment of the effect of formulation excipients on stratum corneum barrier function in vivo. *Int J Pharm* 2004; 271: 251-256.