

가토에서 ALSA S-1을 이용한 자가혈장필러와 히알루론산 필러의 지속성 연구

김태헌 · 김석권 · 이근철

동아대학교 의과대학 성형외과학교실



The Stability of the ALSA Plasma Gel Filler and the Hyaluronic Acid Filler in Rabbits

Tae-Heon Kim, M.D., Seok-Kwun Kim, M.D., Keun-Cheol Lee, M.D.

Department of Plastic & Reconstructive Surgery, College of Medicine Dong-A University, Busan, Korea

The ALSA plasma gel filler from ALSA S-1 machine showed better duration than those from the traditional methods. In respect of durability, we injected the ALSA plasma gel filler to the rabbits to see pattern of alteration and the histologic changes in process of time. Twenty-four rabbits were injected with the ALSA plasma gel filler and the hyaluronic acid filler in both sides of its back. The authors assumed the injection site an ellipsoid and evaluated the relative change in volume by measuring the major axis, minor axis, and height after the 1st, 2nd, 4th, 8th and 16th week after the injection. A histologic section was taken on weeks 1st, 2nd, 4th, and 16th week. Four weeks after the injection, there was a significant volume decrease in the ALSA plasma gel filler compare to the hyaluronic acid filler. On 16th week, only 2% volume left in the ALSA plasma gel filler group compare to that in the hyaluronic acid filler group, 34%. In histology, both groups showed neither inflammatory change nor foreign body reaction. In this study, we observed an insufficient duration of the ALSA plasma gel filler in comparison with the hyaluronic acid filler.

*(Archives of Aesthetic Plastic Surgery 18: 93, 2012)***Key words:** Plasma, Filler

1. 서론

성형외과 영역에서 선천성 기형, 외상, 노화 등 다양한 이유로 인한 안면부의 연부조직 결손이나 변형을 교정하는 것은 중요한 부분이다. 최근 미용에 대한 관심 증대에 따른 다양한 방법이 소개되고 다양한 필러가 개발, 소개되면서 최근 사용이 증가하고 있다.¹ 이상적인 필러의 조건으로 항독성, 항염증성, 항면역성 등 생체적합성을 가져야 하며, 알러

지 검사가 필요 없으며, 가역성이 있어야 하며, 사용하기 편하고 안전해야 하며, 경제적이고 언제든지 구할 수 있어야 하며 자가적이고, 만져서 느낄수 없어야 하며, 긍정적이고 자연스럽고 식별할 수 있는 변화를 일으켜야 한다.²⁻⁴ 이에 따라 자가지방, 파라핀, 실리콘을 시작으로 수많은 필러들이 연구, 개발되었다.⁵⁻⁷ 그 중에서도 자가혈장을 필러로 이용하여 피부의 각종 문제를 해결하려는 시도는 Krajcic 등에 의해 소개되었고 현재까지 사용되고 있다.⁸ 채혈을 하면 전혈의 40% 정도의 혈장을 얻을 수 있는데 이 혈장은 수분, 알부민, 혈소판 등으로 구성되어 있고, 단백질 성분이 많아서 고온에서 가열을 하면 고체 상태로 단단해지므로 필러로서의 형태를 가지게 된다. 하지만 열을 가하는 방식에 따라 만들어지는 고형물의 경도나 수분 함량에 차이가 발생할 수 있으며, 이러한 차이는 인체내 주입 시 지속되는 시간에 영향을 클 수 있다. 현재 가장 널리 사용되고 있는 히알루론산(Hyaluronic acid) 필러는 경제적인 부분을 제외하고 앞서 언급한 이상적인 필

Received April 26, 2012

Revised June 20, 2012

Accepted June 21, 2012

Address Correspondence: Seok-Kwun Kim, M.D. Ph.D., Department of Plastic & Reconstructive Surgery, College of Medicine, Dong-A University, 26 Daesingongwon-ro, Seo-gu, Busan 602-715, Korea. Tel: +82-51-240-2807, Fax: +82-51-243-5416, E-mail: sgkim1@dau.ac.kr

* 본 논문은 동아대학교 학술재단의 연구비 지원으로 이루어졌음.

* 본 논문은 2011년도 동아대학교 의학대학원 석사논문임.

러로서의 조건을 여러모로 부합하는 필러이다. 이에 자가혈장 필러만을 만들기 위해 특수 제작된 가온 기계인 ALSA S-1을 이용하여 만든 자가혈장 필러와 히알루론산 필러를 가토에 주입 시 시간이 경과하면서 변하는 양상을 비교하고 조직학적 변화를 비교 관찰함으로써 이상적인 필러로서의 가능성 여부를 알아보기 위해 본 실험을 시행하였다.

II. 재료 및 방법

가. 실험재료

1) 실험동물

약 3~4kg 정도의 24마리의 토끼(New Zealand White 종)를 사용하였다. 피하지방이 상대적으로 적은 수컷 토끼를 사용하였으며 순응기간을 거친 다음 시술하였고 일정한 온도와 습도의 사육사에서 동일한 환경과 사료로 사육하였다(의과대학 의과학 지원센터 동물실험윤리위원회 승인번호 DIACUC-10-7).

2) 필러

토끼의 이정맥(Ear vein)에서 혈액을 3~5 cc 채혈한 후 EDTA 튜브에 넣고 원심분리기(Fleta 5, 한일과학산업, 강릉)에서 4000rpm의 속도로 10분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상층에 분리된 혈장을 추출한 뒤, 필러를 만들기 위한 주사기에 옮긴 후 ALSA S-1로 10분간 100°C로 가열처리 하고 경과 과정을 거쳐 실온상태가 되도록 하여 만들었다. 비교할 히알루론산 필러는 Juvederm (Allergan, Inc. Irvine, Calif) 필러를 준비하였다(Fig. 1).

나. 방법

1) 주입방법

토끼의 둔부에 케타민(ketamine hydrochloride, 휴온스,

500mg/vial)과 럼폰(Rompun, xylazine hydrochloride, 바이엘 코리아 23.32mg/mL)을 각각 0.5mL/kg씩 섞어 둔부에 근육 주사 하였으며 토끼가 움직일 때에 마취유지는 처음 마취 용량의 반을 둔부에 추가로 주사하였다. 토끼의 등부위의 털을 8×15cm 크기로 면도한 후, 알코올을 사용하여 소독한 다음, 왼쪽과 오른쪽으로 각각 2부분으로 등을 나누어 ALSA S-1로 만든 ALSA 자가혈장 필러와 히알루론산 필러를 0.4cc씩 27 gauge 주사기로 진피 내에 주입하였다. 토끼는 상온에서 사육하였다.

2) 주입한 필러의 측정방법

총 24마리의 토끼에서 필러 주입 후 만들어진 반타원체의 장축(a), 단축(b), 높이(c)를 측정하여 타원체 부피 공식($V=4/3\pi abc$)에 대입하여 나온 부피의 절반값을 측정하여 임의의 단위값으로 정하여 1주, 2주, 4주, 8주, 16주 시간 경과에 따른 상대적인 변화값을 평가하였다.

3) 표본 채취 및 염색

실험된 토끼는 1주, 2주, 4주, 16주에 필러가 주사된 장소에서 피부 전층의 조직절편을 채취하였다. 채취된 조직은 10% 포르말린액에 6시간 이상 고정된 후 파라핀에 포매시켜 약 5ul의 두께로 조직절편을 만들어 Hematoxylin-eosin 염색을 시행하고 광학현미경으로 관찰하였다.

다. 통계학적 분석

통계학적 분석은 각 관찰 주에서 얻은 부피의 평균값을 얻고 값을 비교하였다. 차이를 알아보기 위해 Independent T-test를 이용하여 분석하였으며, *p*-value가 0.05 미만일 때 통계적 의미가 있다고 정의하였다.

III. 결과

가. 육안적 소견

육안소견으로는 혈장 필러와 히알루론산 필러의 이동이나 부종, 발적 등의 염증소견은 없었다. 육안상으로 보았을 때 실험 후 4주째부터 자가혈장 필러 주입부위가 감소되는 소견을 보였으나 히알루론산 필러 주입부는 육안상으로 감소된 소견을 보이지 않았다(Fig. 2).

나. 주입한 필러의 측정

자가 혈장 필러의 평균값을 측정한 결과 주입 직후 0.379, 슬후 1주째 0.341 (90%), 2주째 0.246 (65.1%), 4주째 0.186

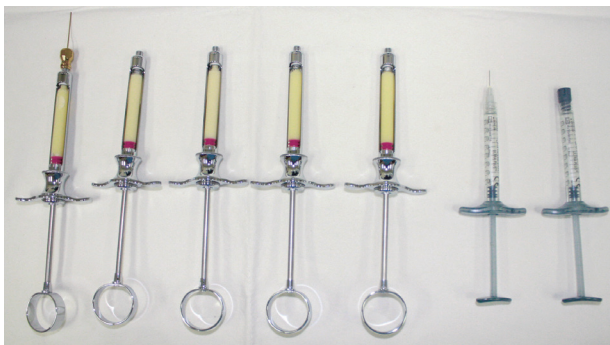


Fig. 1. Preparation of the ALSA plasma gel filler and the hyaluronic acid filler.

(49.1%), 8주째 0.129 (34.2%), 16주째 0.007 (2%)의 값을 보였다. 히알루론산 필러의 평균값을 측정한 결과 주입 직후 0.384, 1주째 0.370 (96.5%), 2주째 0.255 (66.6%), 4주째 0.222 (58%), 8주째 0.194 (50.6%), 16주째 0.153 (39.9%)의 결과를 보였다(Fig. 3, Table 1).

다. 조직학적 소견

병리학적 검사는 술 후 1주, 2주, 4주, 16주에 시행하였고, 자가혈장필러를 주입한 부위에서 술후 1주째 급성 염증 소견이 보였으나 2주째 급성염증 및 만성 염증 소견은 보이지 않았다. 술후 8주째부터 fibroblast의 증식이 보였으며, 이물 반응이나 거대세포의 출현은 보이지 않았다. 히알루론산 필러를 주입한 부위에서도 술후 1주째 경미한 급성 염증 반응이 있었으나 2주째부터 보이지 않았다. 자가혈장 필러와 히알루론산 필러 모두에서 콜라겐의 양은 정상조직과 비교하여 큰 차이가 없는 소견을 보였고, 주입한 물질의 양은 시간이 경과함에 따라 감소되는 소견을 보였다(Figs. 4, 5).

IV. 고 찰

안면부 조직결손이나 변형을 재건하기 위해 이상적인 성형물질을 찾고자 하는 노력은 지난 수세기 동안 계속적으로 이뤄져 왔으며, 최근 미에 대한 관심이 많아지면서 다양한

종류의 필러들이 개발되고 연구되고 있으며 그 적용은 점차 증가하고 있는 추세이다. 이상적인 필러의 조건으로 항독성, 항염증성, 항면역성 등 생체적합성을 가져야 하며, 알러지 검사가 필요 없으며, 가역성이 있어야 하며, 사용하기 편하고 안전해야 하며, 경제적이고 언제든지 구할 수 있어야 하거나 자가적이고, 만져서 느낄 수 없어야 하며, 긍정적이고 자연스럽게 식별할 수 있는 변화를 일으켜야 한다.^{2,4}

이전에 사용된 성형물질로 실리콘, polyvinylpyrrolidone 등의 중합체, 합성 콜라겐, fibril등이 진피보강을 위한 주사물질로 임상영역에서 많이 사용되었으며, 이중 1970년대 개발된 동물성 콜라겐인 Zyderm, Zyplast 등의 상품으로 개발되어 유럽을 중심으로 널리 사용되었으나 이중 collagen 물질로서 사용 전에 반드시 알러지 검사가 필요하다는 단점이 있고⁹ 지방이식은 생체적합성이 있지만 지방세포의 순도를 보존하기 위해 특별한 핸들링이 필요하다^{10,11} 이후 히알루론산 필러가 최근 각광받고 있으며, 생체적합하며, 비항원성이며 독성이 없고 다루기 쉽고 가역성이 있는 장점이 있고, 2003년 미국에서 소개된 이후 전체 필러 종류의 85%가 히알루론산을 이용할 정도로 널리 사용되고 있다. 대표적으로 Restylane, Juvederm 등이 있으며, 이들의 안전성 및 효과는 검증되었으나 가격이 비싸다는 단점이 있다.^{4,7,12}

수많은 필러 중 자가혈장 필러는 생체적합성 등 히알루론

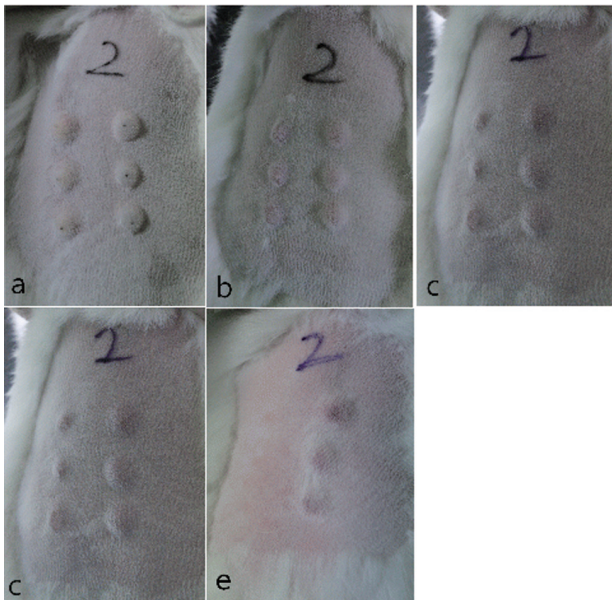


Fig. 2. Changes of filler injection site. Left side is the ALSA plasma gel filler injection site. Right side is the hyaluronic acid filler injection site. a. 1 week after injection, b. 2 weeks after injection, c. 4 weeks after injection, d. 8 weeks after injection, e. 16 weeks after injection.

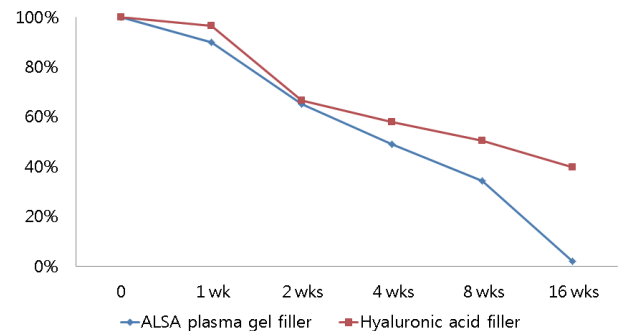


Fig. 3. Biodegradation of the ALSA plasma gel filler, hyaluronic acid filler after intradermal injection into the dorsal region of rabbits.

Table 1. Measurement of the Residual Filler Volume in Progression of Time (arbitrary units)

	ALSA plasma gel filler	Hyaluronic acid filler
Initial	0.379±0.015	0.384±0.024
1 wk	0.341±0.023 (90%)	0.370±0.064 (96.5%)
2 wks	0.246±0.014 (65.1%)	0.255±0.022 (66.6%)
4 wks	0.186±0.025 (49.1%)	0.222±0.026 (58%)
8 wks	0.129±0.042 (34.2%)	0.194±0.031 (50.6%)
16 wks	0.007±0.011 (2%)	0.153±0.059 (39.9%)

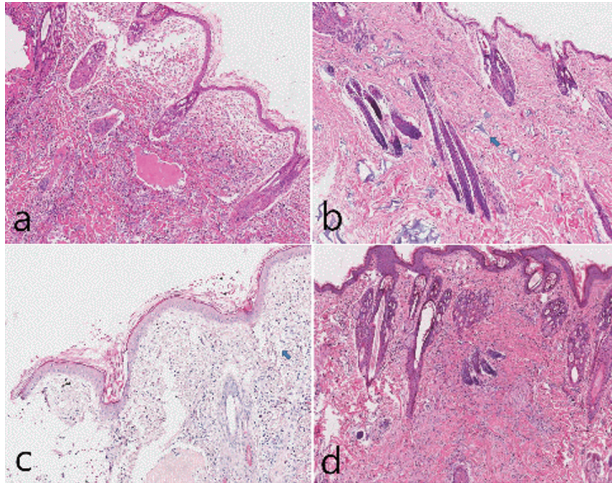


Fig. 4. Histological changes of the ALSA plasma gel filler injection site. a. 4 days after injection, many PMN cells were seen. b. 2 weeks after injection, the arrow is the ALSA plasma gel filler c. 4 weeks after injection, the arrow is hole of vanished ALSA plasma gel filler. d. 16 weeks after injection. Remnant ALSA plasma gel filler was not seen and there was no giant cell.

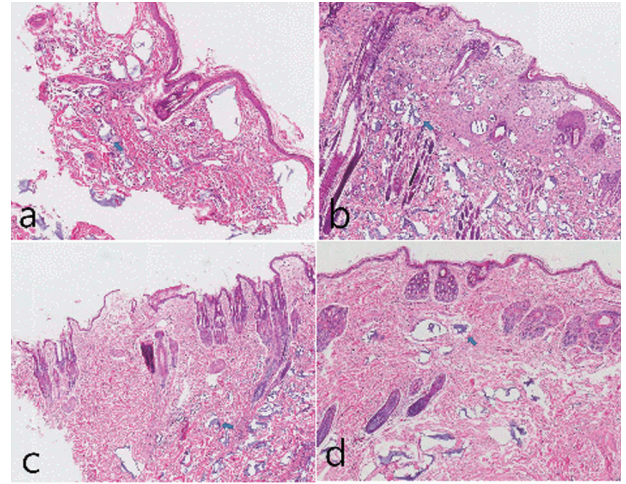


Fig. 5. Histological changes of the hyaluronic acid filler injection site. a. 4 days after injection, mild acute inflammation was seen and the arrow is hyaluronic acid filler. b. 2 weeks after injection, the the arrow is hyaluronic acid filler. c. 4 weeks after injection, d. 16 weeks after injection. residual hyaluronic acid filler was seen (arrow).

산이 가지는 장점을 가지면서 자가혈을 재료로 만들기 때문에 경제적이어서 언제든지 구할 수 있다는 장점이 있다. 1999년 Krajcik 등이 자가혈장을 이용한 필러를 소개하였고 현재까지 사용되고 있다.⁸ 전혈의 40% 정도의 혈장을 얻을 수 있는데 이 혈장은 수분, 알부민, 혈소판 등의 단백질로 구성되어 있고 단백질 성분이 많아서 고온에서 가열을 하면 고체 상태로 단단해지므로 필러로서 형태를 가지게 된다. 하지만 열을 가하는 방식에 따라 만들어지는 고형물의 경도나 수분 함량에 차이가 발생할 수 있으며, 이러한 차이는 인체내 주입시 지속되는 시간에 영향을 줄 수 있다. 전통적인 방식에서는 채혈한 뒤 2500rpm에서 3분간 원심분리한 뒤 혈장만을 채취하여 70도에서 5분, 95도에서 2분간 열을 가하여 자가혈장 필러를 만든다. 전통적인 방식의 자가혈장 필러를 Zyderm, Zyplast와 함께 털이 없는 쥐에게 주입하여 분석한 결과, Zyderm, Zyplast는 550일 정도 지속된 반면, 자가혈장 필러는 800일 정도 지속되어 콜라겐 제품보다 더 오래 지속된다고 보고하였다.⁸ ALSA는 공동개발자인 Alamouti와 Sattler의 앞 두 글자를 이용하여 만든 이름으로 ALSA S-1 (KFDA허가: 제허 09-572, FDA 등록번호: 300-544-2885)은 ALSA ultra dermal system에 10분간 100°C로 가열처리하고 경과 과정을 거쳐 실온상태가 되도록 하여 만들게 되며, 만들어진 ALSA 자가혈장 필러는 기존의 논문에서 나오는 끓는 물을 이용하여 만드는 방식보다 지속성에서 우월한 결과를 보였다.

주입한 물질의 지속성 및 효과는 주입부의 위치, 주입한 물질의 양, 주입한 깊이, 주입 물질의 형태에 따라 변화할 수 있

다.⁴ 본 실험결과에서는 앞서 이루어졌던 동물실험보다 못 미치는 결과를 보였는데, 이는 다른 연구에서 사용한 무모쥐의 사용이 아니라 토끼를 이용했다는 점이다. 무모쥐에 비해 토끼의 성장 속도가 빠르고 크기 및 개체의 무게 또한 증가하면서 개체의 대사가 활발해지고 주입부의 피부도 두꺼워지면서 지속성에 있어 감소한 결과를 보인 것으로 생각된다.

실험 1주째 남아있는 볼륨에서 ALSA 자가혈장 필러와 히알루론산 필러 각각 90%, 96.5%를 보였고, 2주째 각각 65.1%, 66.6%를 보여 유의한 차이가 없었다. 4주째 각각 49.1%, 58%를 보여 ALSA 자가혈장 필러가 감소한 소견을 보였으나 유의하지 않았다. 8주째가 되면서 각각 34.2%, 50.6%, 16주째 각각 2%, 39.9%를 보여 지속성에서 유의하게 감소된 결과를 보였다. ALSA 자가혈장 필러는 2달째부터 급격한 볼륨의 감소를 보여 기존에 존재하는 히알루론산 필러에 비해 지속성에서 한계가 있었다.

본 교실에서 시행한 임상적 적용 후 ALSA 자가혈장 필러는 시술 후 1주일 경과 시에 비교적 효과적이었으나, 3개월 경과 후에는 대부분이 흡수되어 시술 전과 큰 차이가 없는 결과를 보였다. 환자의 만족도에 있어서도 간단한 채혈만으로도 시술이 가능하여 경제적인 면에서는 만족하였으나, 흡수 속도가 빨라 지속성에 있어서 다른 필러들에 비해서 낮은 편이었다.¹³

하지만 ALSA 자가혈장 필러는 원가가 들지 않는다는 점, 양의 제한이 없어 결손이 큰 부위에도 저렴하게 시술가능하다는 점, 이물반응의 부작용이 없으며 재시술에 대한 부담이

없는 점 등 많은 장점이 있다. 여러 장점에도 불구하고 채혈을 하는 것에 대한 거부감, 필러 제작 시간이 걸린다는 점이 문제가 될 수 있고, 무엇보다도 지속성 연구에 있어 임상에서 Vitamin C, lidocaine, estriol 첨가 등의 시도가 이루어 졌으나 그 결과는 미미하며⁸, 지속성 측면에서 좀 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다. 이후 지속성 측면에서 개선이 이루어진다면 이상적인 필러의 조건을 부합하는 훌륭한 필러로서 보다 광범위한 임상적 적용이 이루어질 것이다.

V. 결론

본 연구에서는 가토에서 ALSA 자가혈장 필러와 히알루론산 필러를 비교한 결과, 주입후 4주가 되는 시점에서 ALSA 자가혈장 필러의 유의한 볼륨 감소가 있었으며, 주입후 16주가 되는 시점에서 처음 주입 볼륨의 2% 미만의 볼륨이 남았다. 그에 비해 히알루론산 필러는 16주가 되는 시점에서 39.9%의 볼륨이 남았다. ALSA S-1를 이용한 ALSA 자가혈장 필러 제조가 기존의 전통적인 방법보다 주입 후 지속성에서 우월하다는 보고가 있으나, 히알루론산 필러에 비해 지속성에서 미흡한 결과를 보였다.

임상에서 Vitamin C, lidocaine, estradiol 첨가 등의 시도가 이루어 졌으나 그 결과는 미미하며, 지속성 측면에서 좀 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다. 이후 지속성 측면에서 개선이 이루어진다면 이상적인 필러의 조건을 부합하는 훌륭한 필러로서 보다 광범위한 임상적 적용이 이루어질 것이다.

REFERENCES

1. Rohrich RJ, Rios JL, Fagien S: Role of new fillers in facial rejuvenation: a cautious outlook. *Plast Reconstr Surg* 112(7): 1899, 2003
2. Rohrich RJ, Ghavami A, Crosby MA: The role of hyaluronic acid fillers (Restylane) in facial cosmetic surgery: review and technical considerations. *Plast Reconstr Surg* 120(6 Suppl): 41S, 2007
3. Jacovella PF, Peiretti CB, Cunille D, Salzamendi M, Schechtel SA: Long-lasting results with hydroxylapatite (Radiesse) facial filler. *Plast Reconstr Surg* 118(3 Suppl): 15S, 2006
4. Broder KW, Cohen SR: An overview of permanent and semi-permanent fillers. *Plast Reconstr Surg* 118(3 Suppl): 7S, 2006
5. Prather CL, Jones DH: Liquid injectable silicone for soft tissue augmentation. *Dermatol Ther* 19(3): 159, 2006
6. Smith P, Adams WP Jr, Lipschitz AH, Chau B, Sorokin E, Rohrich RJ, Brown SA: Autologous human fat grafting: effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival. *Plast Reconstr Surg* 117(6): 1836, 2006
7. Fagien S, Klein AW: A brief overview and history of temporary fillers: evolution, advantages, and limitations. *Plast Reconstr Surg* 120(6 Suppl): 8S, 2007
8. Krajcicik R, Orentreich DS, Orentreich N: Plasmagel: A novel injectable autologous material for soft tissue augmentation. *J Aesthet Dermatol Cosmet Surg* 1(2): 109-15, 1999
9. Eppley BL, Dadvand B: Injectable soft-tissue fillers: clinical overview. *Plast Reconstr Surg* 118(4): 98e, 2006
10. Fournier PF: Fat grafting: my technique. *Dermatol Surg* 26(12): 1117, 2000
11. Coleman SR: Structural fat grafting: more than a permanent filler. *Plast Reconstr Surg* 118(3 Suppl): 108S, 2006
12. Matarasso SL, Carruthers JD, Jewell ML; Restylane Consensus Group: Consensus recommendations for soft-tissue augmentation with nonanimal stabilized hyaluronic acid (Restylane). *Plast Reconstr Surg* 117(3 Suppl): 3S, 2006
13. Kim SK, Yoon CM, Lee KC, Park SS: Clinical Use & Problems of ALSA[®] Gel Filler, *Arch Aesthetic Plast Surg* 17(3): 159, 2011