

초음파가 생쥐의 혈소판에 미치는 영향

대구카톨릭대학교병원 방사선과

조 광 호

대구카톨릭대학교 생물학과

박 상 옥

대구대학교 물리치료학과

박 래 준

The effects of Ultrasound on the Platelet of Rats

Cho, Kwang-Ho, M.S.

Department of Radiology Taegu Catholic University Hospital

Park, Sang-Ock, Ph.D.

Department of Biology Taegu Catholic University

Park, Rae-Joon, Ph.D., P.T.

Department of Physical Therapy Taegu University

< Abstract >

We found out that there exists threshold dose for the decreased platelet count when we apply change of the platelet count to the defense of the ultrasound experiment.

Those diminution is definite effects from the defense of the ultrasound.

The number of the platelet count is decreased when we are exposed to ultrasound simultaneously.

This should not be occurred.

It is easy to use the number of the platelet count in the measurement of the biological dosage and intensity in high dosage relatively due to definite quantative relationship.

The biological index to understand synergic effects. which are present when two harmful environmental factors are operating at the same time is functionally assending and antagonistic.

There are scattered many factors as physical, Chemical, or physiochemically elements which are harmful to human body in the environment in consideration of ultrasound and the other factors.

This experiment is demonstrating that we can use the change of the platelet as an index representing synergic effects of ultrasound.

I . 서 론

초음파는 의료분야 중에서도 특히 진단영역에서는 없

어서는 안될 위치를 점하면서 최근 치료분야에도 더불어 이용되고 있고 공업분야(일본 전자기계공업회, 1985)에서도 널리 사용되고 있어 일상생활과도 가까운 존재이다.

이에 따라 피폭의 기회나 피폭하는 사람의 수는 계속 늘어나고 있어 초음파의 방호 및 관리의 중요성(박수성 등, 1985)은 더욱 절실하여져 가고 있다.

특히 1986년 4월에 일어난 체르노빌 원자력발전소 사고와 같은 원자력관계 사고와 의료 목적 방사선의 일방적 사용의 정당화 판단도 문제화되는 등 많은 사람들에게 있어서 방사선과 초음파에 대한 관심과 관심이 더해가고 있다(Prasad, 1982; 박영선 등, 1999). 앞으로 방사선과 초음파의 각 관련 분야가 더욱더 발전해 나가기 위해서는 공공의 이해를 얻어 발전을 해야 할 것이다.

공공의 이해를 얻기 위해서는 방사선과 초음파의 관리를 충실하게 하여 사고를 미연에 방지하거나 사고가 일어났다 하더라도 피해를 최소한으로 줄일 수 있도록 방사선과 초음파 시설이 안전하다는 것을 일반에게 인식시키지 않으면 안 된다(Prasad, 1982; 박영선 외, 1999). 그러기 위해서는 방사선과 초음파의 방호와 관리를 고려한 상황에서 그 지표가 될 수 있는 기초정보를 입수하기 위하여 이의 영향에 관한 최신 정보를 파악하지 않으면 안 된다(손정영, 1993).

초음파에 대한 유·무해론에 대하여 각각의 관심도와 함께 복수의 요인이 겹쳤을 경우 단독 영향보다 증대하거나 감소할 가능성 때문에 복수의 유해 요소의 작용 가능성이 있을 때에는 새로운 기준을 검토해야 할 필요성이 있다. 이러한 복수의 유해요소 즉, 공동효과를 고려하였을 때에 생물학적 선량 혹은 초음파 강도의 자료로서 적절한 지표를 선정하는 것이 중요한 과제이다(일본 전자기계공업회, 1985). 그래서 공동의 효과판정에 있어서 생물학적 선량 혹은 강도의 지표로서 초음파에 대한 감수성이 높은 동물의 염색체, 백혈구 및 혈소판이 유용하다고 생각되고 있다. 이 중 1986년에 일어난 체르노빌 원자력 발전소의 사고 발생 시 혈소판이 새로이 주목을 끌었다. 혈소판은 응집 경향을 보이기 때문에 지금까지는 측정이 곤란하였으나, 최근에 이르러 의공학의 발전으로 각종 검사용 기기와 시약의 발달로 측정이 매우 용이해지고 있다(김남균 등, 1995).

동일한 초음파 강도를 조사할 경우에도 분할 조사한 때가 1회 조사한 때보다도 영향의 정도가 감소한다는 것은 배양세포를 이용한 실험에서 생존율 관찰 실험으로 밝혀져 있다(Liebeskind, 1979). 또한 초음파에 의한 세포사(細胞死)에 대한 영향은 원칙적으로 분열하고 있는 미분화된 세포일수록 감수성이 높다고 한다(Anderson, 1976). 이것은 방사선에 의한 혈소판수의

변화는 말초 혈액중의 혈소판에 직접적인 영향보다는 방사선 조사에 의해 골수중 간세포로부터 분열중인 아세포(芽細胞)가 영향을 받은 결과라고 볼 수 있다(Bond, 1965; Prasad, 1982; Hall, 1978).

물론 초음파도 Mechanism은 다르지만 방사선과 동일하다. 생쥐의 골수세포는 세포증식이 동조(同調 : synchronize)된 계(係)가 아니고 모든 생성세포가 동시에 존재하는 비동조계 세포집단이다. 그래서 방사선과 초음파의 분할조사에 의해 골수 중 혈소판 생성과정의 각 단계에 있어 방사선과 초음파의 감수성 정도를 파악할 수 있다(김남균 등, 1995).

본 연구는 초음파의 영향에 있어 생물학적 지표로서 혈소판을 착안하여 그 가능성을 검토하기 위하여 골수 중 혈소판 생성 각 과정에 있어서 초음파의 감수성을 파악함에 따라 혈소판수의 변화를 방사선과 초음파에 대한 영향의 지표로 사용할 때 그 해석과 평가에 필요한 정보로 될 것이다.

혈소판은 방사선과 초음파 영향의 생물학적 지표로서 유용하지만 혈소판의 세포동태를 고려한 양적 관계에 대한 연구는 충분치 못하다.

그래서 본 연구에서는 생쥐의 혈소판 변형에 대해 초음파가 끼치는 영향에 관한 기초정보를 얻기 위해 그 점을 중점으로 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 동물

7주의 생쥐를 구입하여 일정한 조건(온도 : $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 습도 : 60%)에서 1주간 예비 사육 후 실험에 도입하여 조사시 생후 8주된 생쥐 10마리를 사용하였다.

측정 시 건강 상태를 관찰하여 감염이나 혈구수의 변화를 일으킨 것은 실험에서 제외하였다.

2. 초음파 조사

초음파 조사는 최대 출력-550W, 발전기 면적-108cm² (8×13.5), 단위당 출력(cm²)-5.5W/cm², 발전주파수-1MHZ로 조사하였다.

3. 채혈과 측정방법

Surgical Blade를 사용하여 꼬리 정맥으로부터 Micro pipet로서 0.01ml 채혈하였다. 채혈된 혈액은 회석액에 2×10^6 배로 희석하여 자동 혈구측정기로 측정했다.

생쥐는 조사 전 control치를 얻기 위하여 조사 전 0일에 채혈하여 혈소판수를 측정하였다. 조사 후 혈소판 등의 측정은 조사 후 6시간, 1일, 4일, 6일, 7일, 11일, 14일, 18일, 21일, 25일에 각각 측정하였다.

본 실험에 사용한 자동 혈구측정기는 인간혈구용이기

때문에 사용하기 전에 인간용 교정 표준액으로 교정하여 사용하였다. 그리고 혈소판 수가 표준치 범위내라는 것을 확인하면서 혈구측정은 3번 반복 측정하여 그 평균치를 이용하였다.

4. 관찰기간

혈소판의 관찰 측정은 방사선과 초음파 조사 후 감소한 수치가 정상치로 돌아 왔을 시점인 약 25일까지 하였다.

표 1. Time of split exposure and numbers of mouse

Time of Split (Time)	One of time Intensity (W/cm)	Interval of Exposure (Day)	One time	Mouse		Observation Period (Date)
			per Exposure time	U(No)		
			Ultra(min)	M	F	
1	3.0	0	10	10	10	25
2	15	3	10	10	10	25
3	1.0	1	10	10	10	25

Ⅲ. 결 과

1. 혈소판수에 미치는 분할 조사의 효과

1) 초음파 조사

각 생쥐는 조사 전에 control치를 구하기 위하여 채혈 후 측정하였으며 방법은 강도 효과 실험과 같이 시행하였다. 초음파 강도율은 1W/cm²로 하여 총 3W/cm² 조사하였다. 인간의 경우 간세포(幹細胞)로부터 말초혈액 중에 유출하는 혈소판이 생성되기까지의 기간은 약 10일 이므로 생쥐의 혈소판 생성과정도 인간과 같이 간주하여 10일 이내에 분할조사를 마치기로 하였다.

2) 실험 결과

총 초음파 강도를 역시 3W/cm²으로 하여 그것을 2, 3회로 각기 나누어서 10일간 조사한 후 혈소판수의 경시적 변화를 각 Group 전체 평균치의 표준편차를 각기 표시하였다.

(1) 초음파 2회 분할 조사 Group

평균치로 보았을 때나 개체별로 보았을 때 모두 2-3일간은 약간의 감소를 보이나 그후 점차 감소의 추세가 증가하였다. 최저치에 달한 것은 조사 후 4일이며, male과 female 모두 $32 \times 10^4/\mu$ 이었다. 그 후 2-3일간 최저치를 보이다가 회복하였다. 초음파에 대한 감수성은 male 보다는 female쪽이 컸다(그림 1.2).

(2) 초음파 3회 조사 Group

male은 조사 후 6시간이 지나고 평균치가 $30 \times 10^4/\mu$ 정도로 떨어졌으나, female은 $17 \times 10^4/\mu$ 밖에 떨어지지 않았다. 이로 보아 male이 female보다 감수성이 높음을 나타낸다. 조사 후 7일째 최소치에 달하고 $32 \times 10^4/\mu$ 정도가 되었다. 그후 male과 female이 같은 경향을 보이며 회복해 나갔다. 감소 및 회복과정에 있어서의 개체차는 없었다(그림 3, 4, 5, 6).

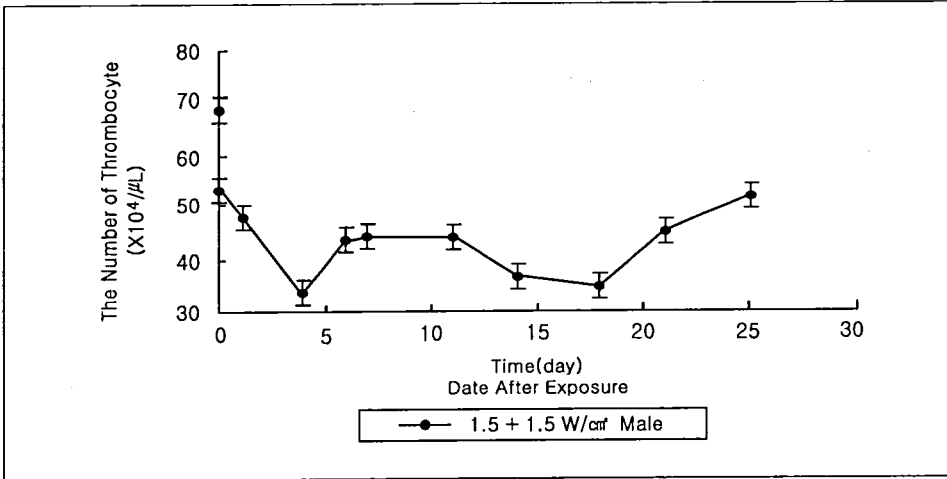


그림 1. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

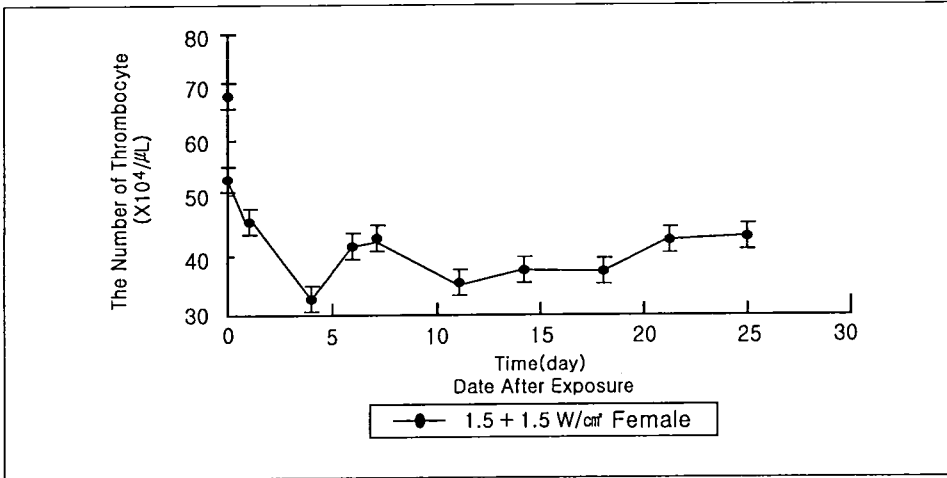


그림 2. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

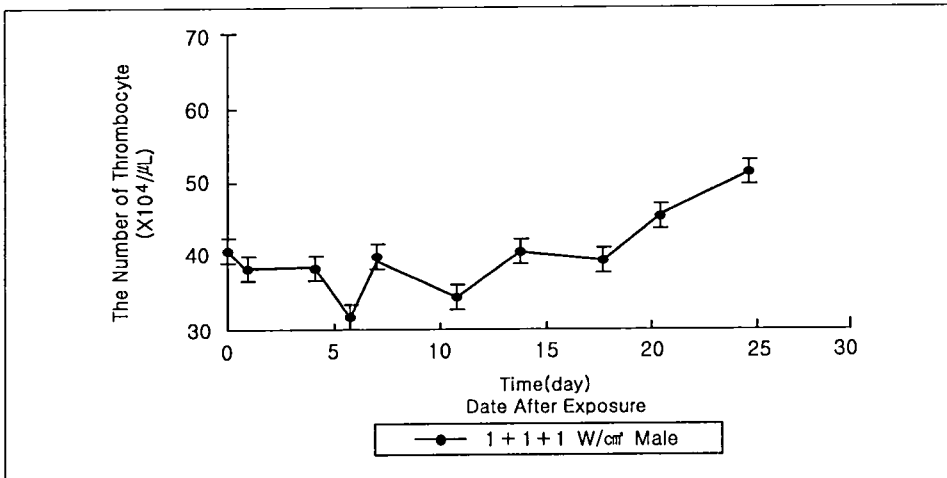


그림 3. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

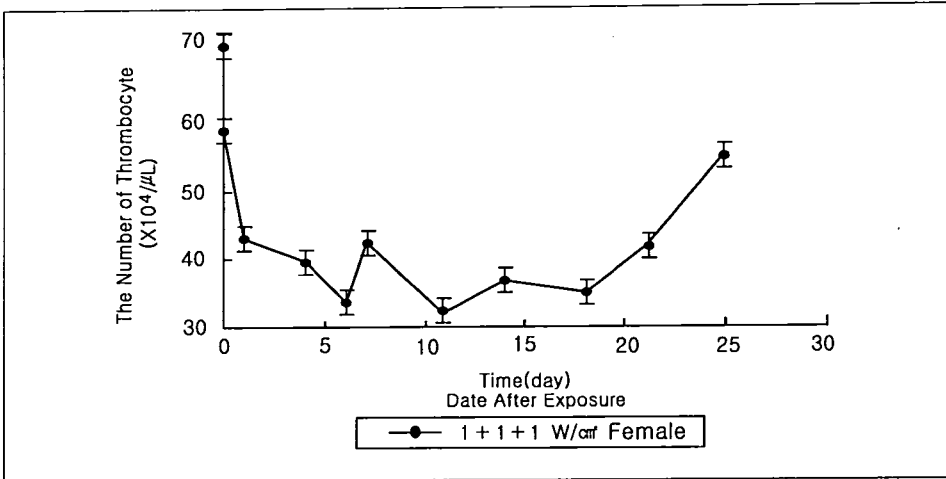


그림 4. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

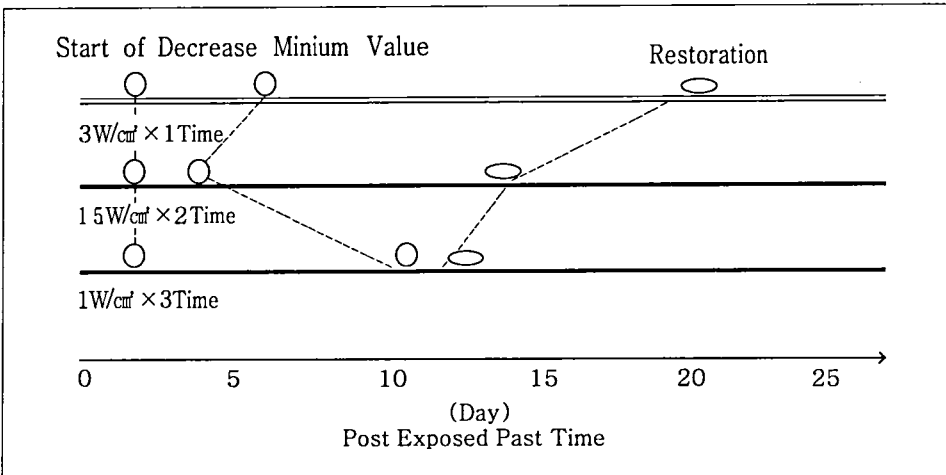


그림 5. The pattern of decrease on thrombocyte changed split intensity

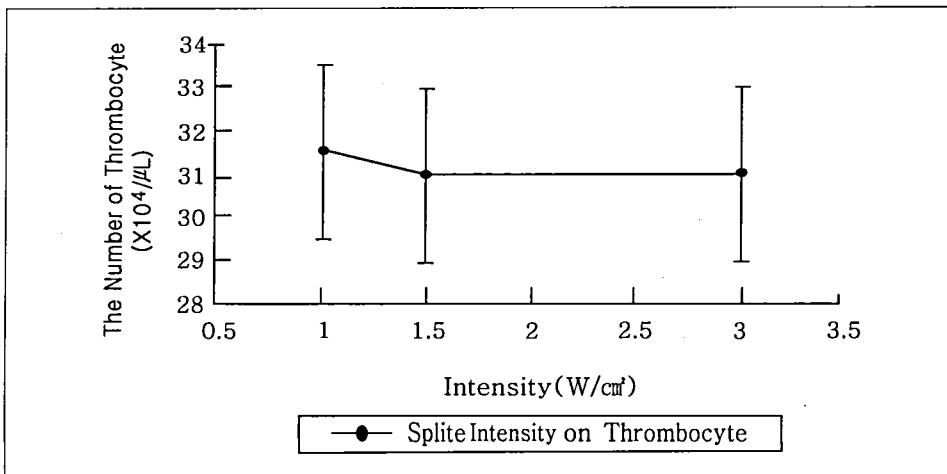


그림 6. Relationship between split intensity and thrombocyte decrease in minimum

(3) 분할 조사시의 혈소판 감소

강도가 같을 경우에 최대 감소율은 분할 회수가 많을수록 작아졌다. 감소 속도는 분할 회수가 많을수록 완만해졌다. 1회 조사로부터 혈소판수가 최저로 될 때까지의 일수는 분할 회수가 많을수록 길어졌다. 혈소판의 수가 최저치에서 조사전의 수치로 회복이 될 때까지의 소요 일수는 분할 회수가 많을수록 짧아졌다. 혈소판의 수가

최저치를 가리키는 기간은 분할 회수가 많을수록 짧았다. 전체강도 3W/cm²를 조사한 직후부터 회복까지의 일수는 분할조사의 경우에 회수가 많을수록 짧아짐을 알 수 있었다.

2. 최저 감소율과 강도와의 관계

표 2. Dose and experiment of material No

Intensity (W/cm ²)	Exposure time	Ultrasound of Mouse (No)		Observation period (Date)
		Ultrasound	Male	
3.0	10	10	10	25
2.0	10	10	10	25
1.0	10	10	10	25
0.5	10	10	10	25
-	-	-	-	25

1) 실험결과

(1) 초음파 조사

① 3W/cm² 조사 Group

조사 후 5일까지는 control에 비교했을 때 감소되나 정상치이고 그후 5일에서 8일까지 감소를 보였다(최저 감소치 : 32×10⁴/μl). male과 female의 차는 거의 없었다(그림 7.8).

② 2W/cm² 조사 Group

조사 후 3일까지는 감소를 보이다가 그후 7일까지 정상치로 돌아오고 7일 후 다시 감소하여 그후 장기간 감

소 추세를 보이다가 정상치로 회복했다. male과 female의 차가 크고 female쪽의 감소성이 컸다. 최대 감소치는 35×10⁴/μ였다(그림 9.10).

③ 1W/cm² 조사 Group

male과 Female은 거의 같은 감소율을 보이나 male은 조사 후 3일간이 극소치에 달하고(33×10⁴/μ) female은 조사 후 10일째 극소치에 달했다(32×10⁴/μ).

④ 0.5W/cm² 조사 Group

control group과 비교해 초음파 조사 group은 혈소판의 수가 감소하나 정상치 범위 내였다.

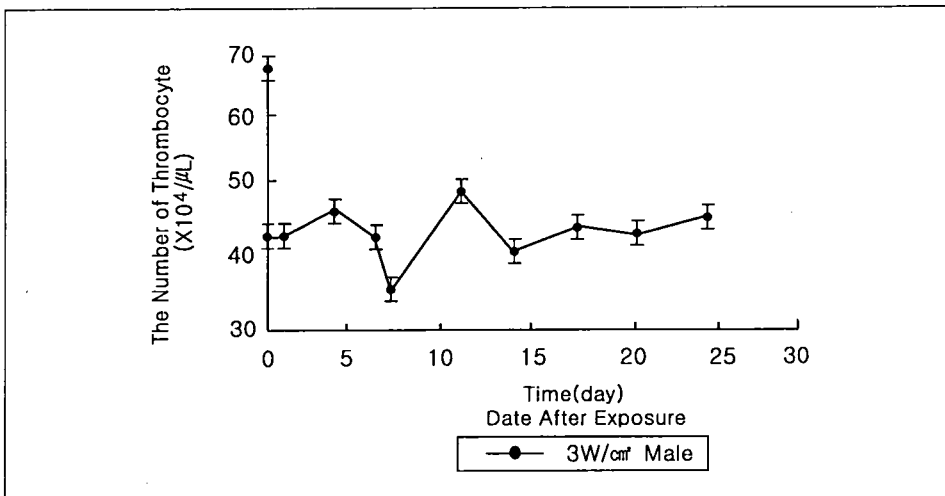


그림 7. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

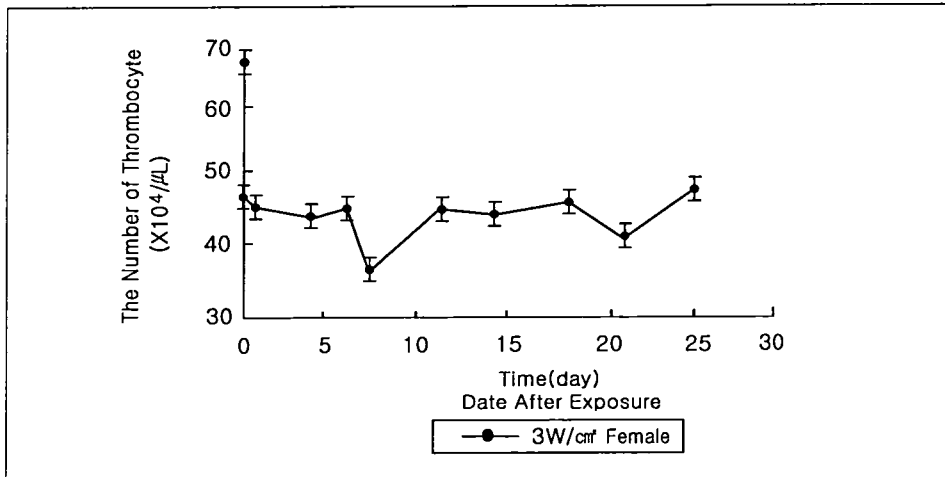


그림 8. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

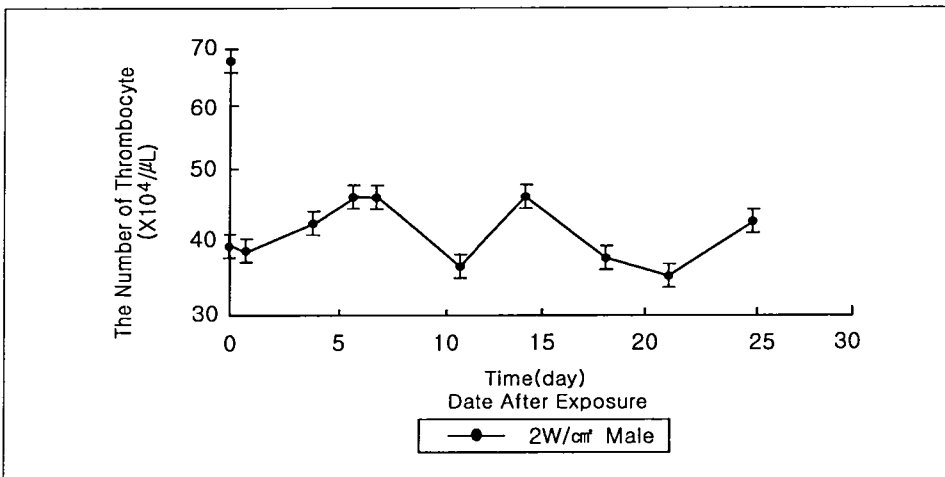


그림 9. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

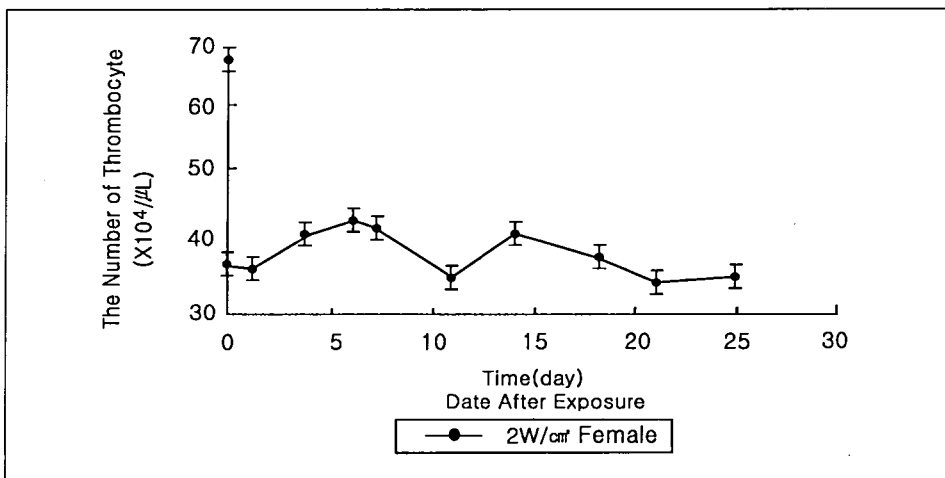


그림 10. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

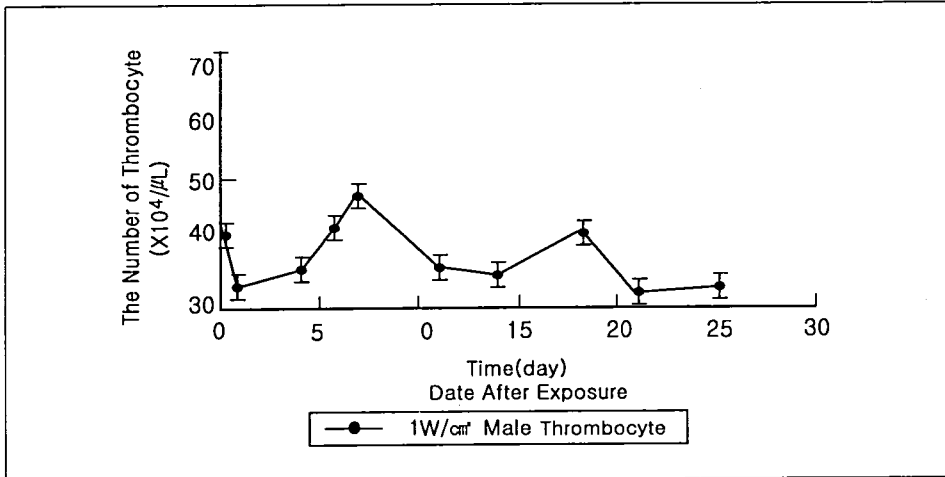


그림 11. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

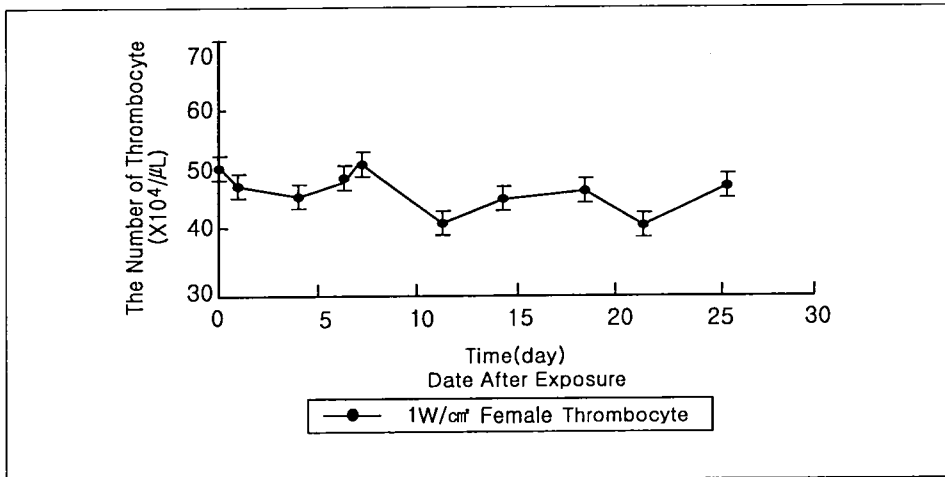


그림 12. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

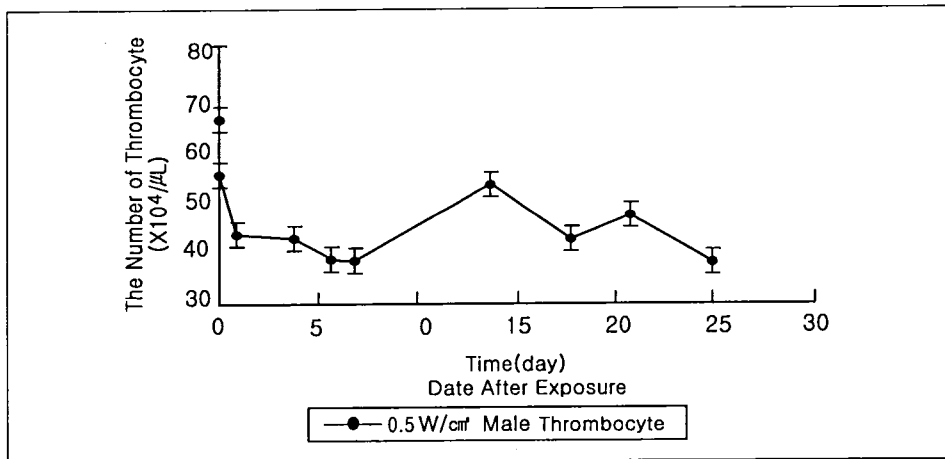


그림 13. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

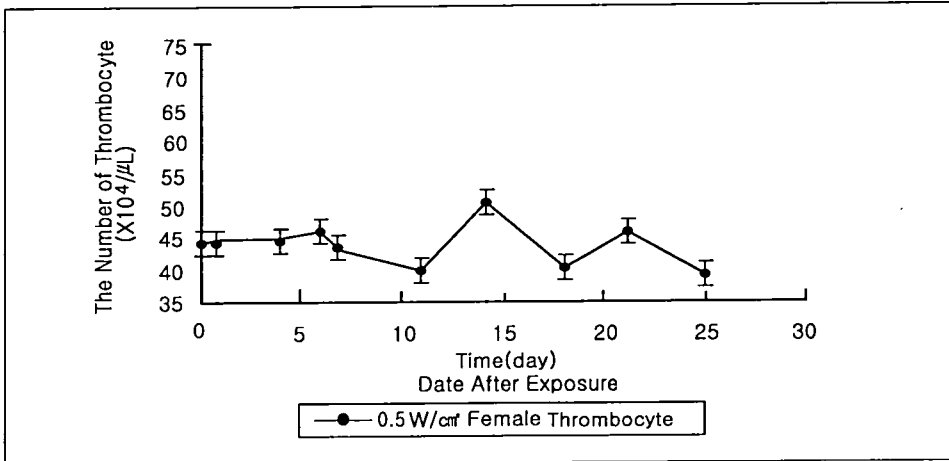


그림 14. The variation of numbers of thrombocyte after exposure

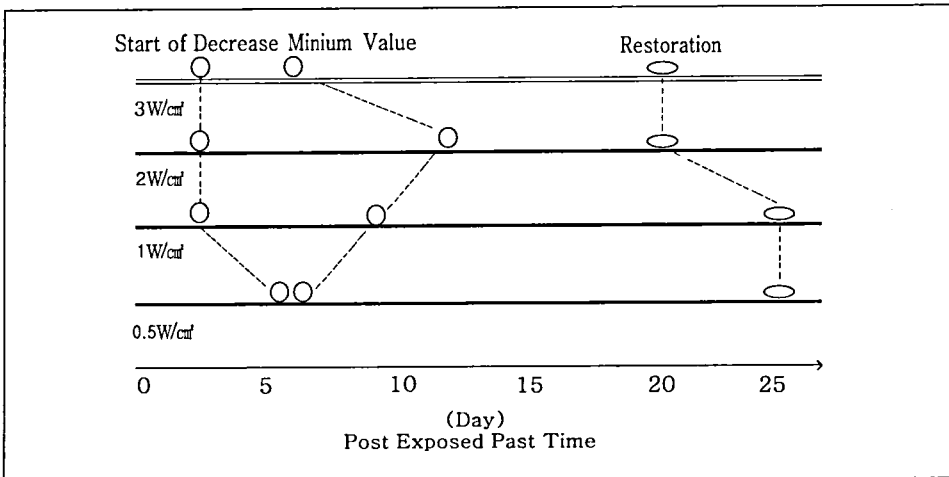


그림 15. The pattern of decrease on thrombocyte changed intensity

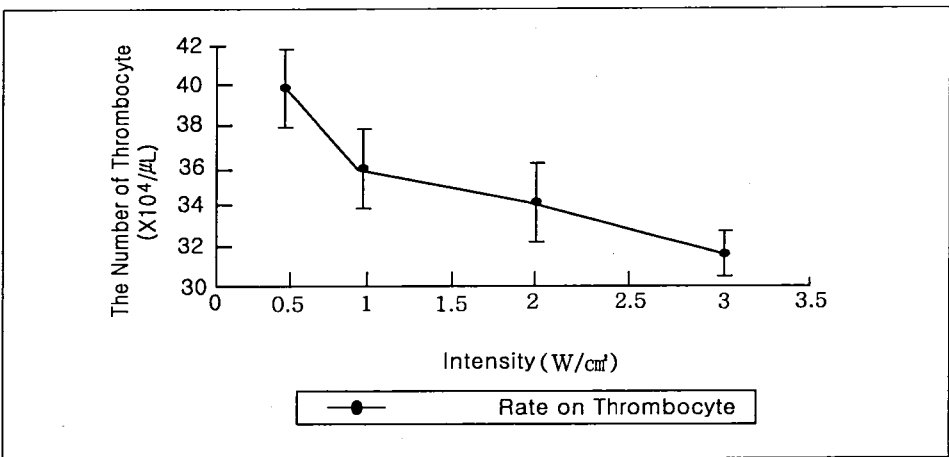


그림 16. Relationship between intensity and thrombocyte decrease in minimum

IV. 고 찰

혈소판은 초음파의 공동작용(cavitation)에 의해 파괴됨을 본 실험을 통하여 증명되었다. 혈소판은 조사 후 3일부터 현저하게 감소되며 생쥐에서 말초혈액중의 수명은 3일 이내로 인간에 비해 짧다는 것을 보여준다(Casarett, 1968; Prasad, 1982; Broerse, 1984).

혈소판은 적혈구와 백혈구보다도 감소 기간이 길고 회복기간이 짧다. 이것은 골수 중 혈소판계 생성과정에 있는 세포가 외적요인(外的要因-방사선과 초음파)에 대하여 감수성이 높다는 것을 의미한다(Patt, 1963; Bond, 1965).

혈소판계의 경우는 골수 중에서 생성과정에 대한 감수성이 똑같지 않고 특히 감수성이 높은 세포는 국한된 한 시기만이 있는 대신에 백혈구는 골수 중에서 생성과정이 비교적 긴 단계를 거쳐 이루어지기 때문에 장시간 감수성이 높다고 볼 수 있다(Bond, 1965).

따라서 혈소판은 생성과정이 비교적 짧다는 것을 알 수 있었다(Bond, 1965; Kallman, 1962; Thomson, 1953). 초음파의 경우는 골수 내에서의 생성과정에 영향을 미치기보다는 생성된 말초혈액중의 혈소판에 직접적인 영향을 주어 파괴함을 알 수 있었다.

3W/cm² 조사 Group에서는 7일에 최저 치에 달했음에도 불구하고 0.5W/cm² Group에서는 11일에 최저 치에 달했음으로 보아 골수에 있는 혈소판 생성과정의 세포가 방사선에 대하여 차이가 있음을 나타내며 또한, 다능성간세포(多能性幹細胞)로부터 분화한 후 생성과정의 초음파 감수성이 생성 후 단계의 세포에 비하여 높음을 알 수 있었다.

혈소판은 골수에서 생성 과정중의 세포에 물리적인 인자에 관한 감수성의 차이가 있고 1회 조사보다 분할 조사의 경우가 영향이 적었다.

분할에 의한 혈소판수의 최대 감소율의 차이는 방사선과 초음파 모두에서 분할 회수가 많을수록 혈소판수의 최대 감소율은 적어진다. 분할 조사함에 따라 일시 조사에 비하여 10% 정도가 감소했다. 따라서, 1회당 선량과 강도가 적어짐에 따라 조사 후 회복현상이 커진다는 것을 알 수 있었다.

세포 생존을 곡선에서 확인된 Elkeind Type 회복현상이 혈소판에서도 나타났다.

간세포(幹細胞)에 대한 초음파의 감수성은 분할 회수에 관계없이 혈소판수는 회복했다. 이것은 혈소판 생성

과정의 세포가 초음파 조사에 의하여 손상을 입은 결과 혈소판수가 감소한 것으로 다능성간세포(多能性幹細胞)는 3W/cm² 정도의 초음파에 의해서 세포사(細胞死)에 이를 정도는 아니었다. 즉, 다능성간세포(多能性幹細胞)는 혈소판 아구계세포(芽球系細胞)보다 감수성이 낮다고 생각 할 수 있었다.

최저 감소율과 강도와의 관계는 완만한 sigmoide곡선으로 나타날 수 있다. 강도에 의한 혈소판 감소율은 shoulder가 있는 곡선을 가리킴으로 배양 세포의 생존을 곡선과 유사하였다. 혈소판 감소에 관한 초음파의 threshold dose는 1W/cm²였다. 혈소판수가 최저로 될 때까지의 기간은 강도가 강할수록 짧은 경향이였다. 혈소판이 최저치를 가리키는 기간은 강도가 클수록 긴 경향이였다. 혈소판의 수가 정상치로 되돌아올 때까지의 기간은 강도가 클수록 길었다. 이 실험으로서 방사선 초음파 3W/cm²까지는 일단 감소한 혈소판수가 회복이 된다는 사실이다.

혈소판수를 백혈구와 적혈구 감소의 역치 도수와 비교했을 때 혈소판만이 감소 현상을 보였으나 적혈구와 백혈구는 오히려 증가하였다

혈소판수의 감소는 초음파에 대한 역치 도수 1W/cm²에 존재한다는 것이 확실히 밝혀졌다. 또한 감소율, 감소 기간 등에 영향을 미치는 정도는 강도의 크기에 따라 증가한다는 사실로부터 확정적 영향이라는 것을 알 수 있었다.

혈소판수를 백혈구와 적혈구 감소의 역치 도수와 비교했을 때 혈소판만이 감소 현상을 보였으나 적혈구와 백혈구는 오히려 증가하였다.

혈소판은 초음파의 파괴작용(cavitation)에 의해 파괴됨을 본 실험을 통하여 증명되었다.

V. 결 론

혈소판수의 변화에 대하여 초음파 방어에 적용시킬 경우 혈소판수의 감소에 threshold dose가 존재한다는 것을 실험적으로 밝혔다. 혈소판 감소는 초음파 방어상 확정적 영향으로 구분이 된다.

일반적으로 초음파의 이용시 피폭으로 인하여 혈소판의 수가 감소한다는 것은 있을 수 없고 또한 일어나서도 안 된다. 혈소판수는 비교적 높은 강도에서는 양적 관계가 확실하기에 생물학적 강도 측정법 등에 이용하기가

용이하다.

공동효과(共同效果)를 이해시키기 위해서 생물학적 지표는 환경 중에 존재하는 개개의 유해 요인이 두 개 이상 작용(공동작용-효과)할 경우에 출현하는 영향으로서 그 형태가 상승적(相承的), 길항적(拮抗的) 작용을 한다.

환경 중에는 인체에 유해한 물리적, 화학적 혹은 물리화학적 요인으로서 여러 많은 인자들이 산재해 있다.

초음파와 그 외의 여타 요인과의 공동효과를 고려할 경우 초음파 이외의 방어 지표로서 혈소판수가 공동효과를 나타내는 지표로서 혈소판수의 변화를 이용할 수 있음을 본 실험으로 가능해졌다.

〈 참고 문헌 〉

- 김남균 등 : 의공학개론, 여문각, 1995.
- 박수성 등 : 진단방사선원리, 대학서림, 1985.
- 박영선, 유장수, 김동윤 : 의료방사선관리학, 신광출판사, 1999.
- 손정영 : 레이저응용 - 의과학분야, 전기공학회지, 42(6), 1993.
- 일본전자기계공업회 편 : 의료용 초음파기기 핸드북, 코로나사, 1985.
- Anderson RE, Warner NL : Ionizing radiation and the immune response, Adv immunol, 24, 215, 1976.
- Bond VP, Nd Easterday OD : Effects of heavy particle radiation on acute mortality and survival time in the mouse, Radiat, Res, 10, 20, 1959.
- Broerse JJ, Mac Vittie TJ : Eds. Respones of Different Species to Total Body Irradiation, Boston, Martinus Nijhoff, 1984.
- Casarett AP : Radiation Biology, Englewood Cliffs : Prentice-Hall, 1968.
- Hall EJ : Radiobiology of the Radiologist, New York : Harper and Row, 1978.
- Kallmam RT : The effect of dose rate on ode of acute radiation death of C57BL and BALB/C mice, Radiat Res, 16, 796, 1962.
- Liebeskind P : Dagmstic Ultrasound, Effects on the DNA and growth Patterns of animal cells Radiolo, 131, 1979.
- Patt HM : Quastler H : Radiation Effects on Cell Renewal and Related Systems, Physiol Rev, 43, 357-396, 1963.
- Prasad KN : Human Radiation Biology, New York : Harper and Row, 1974.
- Thomson JF, Tourtelotte WW : The effect of dose rate on the LD50 of mice exposed to gamma radiation from cobalt-60 source, Am. J. Roentgenol. Rad. Therap. Nucl. Med., 69 : 826, 1953.
- Ullrich RL, Storer JB : Influence of gamma ray irradiation on the development of neoplastic disease in mice, I, Reticular tissue tumors, Radiat. Res, 80, 303, 1979a.