

<원저>

주산기 암컷 백서의 태아에 방사선피폭에 따른 선천성기형 발생 시 셀레늄과 엽산 혼합물의 방사선 방호효과

정도영¹⁾·최형석¹⁾·김장오¹⁾·신지혜¹⁾·김주희¹⁾·박경진¹⁾·민병인²⁾

¹⁾인제대학교 재난관리학과·²⁾인제대학교 원자력응용공학부

Radiation Protective Effect of Selenium and Folic Acid Mixtures in the Development of Congenital Anomalies Following Radiation Exposure to the Fetus of Perinatal Female White Rats

Do-Young Jung¹⁾·Hyung-Seok Choi¹⁾·Jang-Oh Kim¹⁾·Ji-Hye Shin¹⁾·Joo-Hee Kim¹⁾
Gyeong-Jin Park¹⁾·Byung-In Min²⁾

¹⁾Department of Emergency Management, Inje University

²⁾Department of Nuclear Applied Engineering, Inje University

Abstract This study is a search for radiation protection effects of radiation exposure on the organogenic period during the prenatal period, which is known to be the most likely to have congenital malformations by radiation exposure. To study the radiation protection for the mixture of selenium that is strong antioxidant and folic acid that is essential vitamin for DNA synthesis, 2 Gy of radiation was irradiated to pregnant female rats, then, after 14 days of fetal birth, observing blood components, SOD(Superoxide Dismutase), histological changes and external malformations. There was a significant protective effect to reduce blood cell damage($p<0.05$) in the irradiation group after selenium and folic acid mixture were administered than irradiation group, and the activation of SOD which is antioxidant enzymes was increased. In addition, confirmed the effect of suppressing the expression of apoptosis of small intestinal cells and the reduction of cerebral cortex layer reduction by radiation, thus, it was confirmed that the congenital malformations were reduced as a result of these protective effects. Based on these results, selenium and folic acid mixture may reduce the incidence of congenital malformations, and it will reduce the damage of the fetus caused by the exposure of the organogenic period due to accidents.

Key Words: Selenium, Folic acid, Congenital Malformations, Antioxidant, Radiation protection

중심 단어: 셀레늄, 엽산, 선천성기형, 항산화, 방사선 방호

I. 서 론

방사선의 이용 중 사고 등의 재난이 일어나면 인명피해, 경제적 손실, 심리적 충격의 큰 손실이 일어난다. 그 중 경제적 손실과 심리적 충격은 복구가 가능할 수 있지만, 인명피해 특히, 선천성기형 발생은 복구할 수 없으며 한 인

간이 평생 고통을 안고 살아야 하는 매우 큰 손실이라 할 수 있다.

방사선에 의해 선천성기형이 발생할 수 있는 시기는 태아기 중 기관형성기이다. 태아는 일반 성인에 비해 방사선에 더욱 취약한 개체이다. 따라서 소량의 방사선으로도 기형이 발생 할 수 있는바 소규모의 방사선 사고 등에 치명적일 수

Corresponding author: Byung-In Min, Department of Nuclear Applied Engineering, Inje University, 197, Inje-ro, Gimhae-si, Gyeongsangnam-do, 05834, Korea / Tel : +82-55-320-3910 / E-mail: rimbi@inje.ac.kr

Received 09 March 2018; Revised 23 April 2018 ; Accepted 24 April 2018

Copyright ©2018 by The Korean Journal of Radiological Science and Technology

있어 특별한 관리가 필요하다.

본 논문에서는 GPx(Glutathione Peroxidase)와 TR (Thioredoxin Reductase)의 생성에 관여하여 강력한 항산화 작용[1]을 하는 셀레늄과 태아의 성장과 기형 발생예방 [2]을 위해 임신부에 필수 영양소로 알려진 엽산 혼합물을 임신한 쥐에 경구투여하여 기관형성기 피폭 시 방사선에 의해 발생하는 선천성기형의 예방 효과를 확인하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 시료준비 및 투여

Sigma-Aldrich(St. Luis, MO, USA)에서 셀레늄(Sodium Selenite, Na₂SeO₃, 98%)과 엽산(Folic Acid, C₁₉H₁₉N₇O₆, 97%)을 구입하여 탈이온수에 물혀서 사용하였다. 셀레늄은 3 mg/kg/day(EMA, European Medicines Agency의 Sodium selenite 동물실험 Oral LD₅₀), 엽산은 2mg/kg diet(AIN-76)로 경구 투여하였다.

2. 실험동물 사육 및 교배

하나바이오(Gyeonggi-do, Korea)로부터 생후 7주령의 Sprague-Dawley Rat(SD Rat)를 암수 2:1 비율로 구입하였다. 실내온도 21±2 °C, 습도 55±5%, 조명시간 12시간/Day cycle 조건의 사육실에서 표준사료와 탈이온수를 자유급식 하며 동기화를 1주간 실시하였다.

동기화 후 군당 암컷 6마리 수컷 3마리를 2:1 비율로 합사하여 교배를 하였다. 아침에 질전을 확인하여 임신 여부를 확인하였으며 임신이 확인된 암컷을 대조군, 방사선조사군, 셀레늄 엽산 혼합물 투여군(이하 혼합물 투여군), 셀레늄 엽산 투여 후 방사선조사군(이하 혼합물 투여 후 방사선 조사군)으로 나누어 실험하였다(Table 1).

3. 방사선 조사

선형가속기(Agility, ELEKTA, Stockholm, Sweden)를 이용하여 6 MV X-선으로 Dmax 지점(1.5 cm)에 복부를 향해(Gantry 180°) 선천성기형 발생에 가장 적합한 방사선량인 2 Gy[3,4]를 임신 10.7일[5]에 1회 전신조사 하였다.

4. 표본 채취

출산 후 14일 경 육안으로 충분히 외부기형이 확인 가능한 정도로 사육 후 외부기형 확인한 뒤 Rat을 희생시켜 혈액과 조직을 채취하였다. 2% Isoflurane으로 흡입 마취시키고 개복한 후 복강 정맥에서 전혈을 채취하였다. 그리고 소장, 뇌를 적출하여 10% 포르말린에 고정하였다.

5. 혈구분석

혈액을 채취하고 EDTA(ethylenediamine- tetraacetic acid) 튜브에 넣고 Coulter mixer 위에서 혼합한 뒤 동물전용 혈구분석기(BC-2800VET, Mindray, Shenzhen, China)를 이용하여 림프구, 호중구, 백혈구, 혈소판의 4가지 혈구를 분석하였다.

6. SOD 활성 관찰

초과산화이온을 환원시켜 초과산화물로부터 발생하는 질병이나 노화를 억제할 수 있는[6] SOD(Superoxide Dismutase)의 활성도를 측정하였다. 4 °C에서 600g로 10분간 원심분리한 혈액을 SOD Assay kit - WST(Dojindo Inc, Rockville, MD, USA)를 사용하여 판매사에서 제공하는 매뉴얼로 측정하였다.

7. 외부기형 관찰

육안으로 관찰이 용이할 만큼 성장한 Rat의 외부 기형을

Table 1 Data of Experimental Animal

Unit: Rat

Division	Female	Male
Group 1	6	3
Group 2	6	3
Group 3	6	3
Group 4	6	3

Group 1. Normal control

Group 2. Selenium + Folic acid

Group 3. Irradiation

Group 4. Selenium + Folic acid + Irradiation

육안으로 관찰하였다. 그리고 성장의 정도를 확인하기 위해 키를 측정하였다.

8. 조직학적 관찰

소장염 세포의 장애에 의한 소장 용모의 길이 차이 관찰을 위하여 십이지장-공장 부분을 2 cm가량 절개하였고 지능발달 관찰을 위하여 뇌를 적출하였다. 10% 포르말린(Formalin)으로 고정한 후, 일반적인 파라핀절편법(Paraffin method)으로 표본을 제작하고 H-E staining 하였다.

9. 통계 분석

실험결과의 통계는 SPSS 22.0(IBM, USA)을 이용하였다. 평균 및 표준편차 (Mean±S.D)로 표시하였으며, $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

III. 결 과

1. 혈구분석

출산 후 14일 차 혈구 검사에서 림프구, 호중구, 혈소판에서 유의한 효과가 나타났다. 방사선조사군에 비해 혼합물 투여 후 방사선조사군에서 현저히 작은 감소를 보였다 ($p < 0.01$), ($p < 0.05$), (Table 2).

2. SOD 활성 관찰

방사선 조사 후 3.5일 차 혈액 검사에서 SOD 활성화를

관찰한 결과, 방사선조사군에 비하여 혼합물 투여 후 방사선조사군에서 활성화의 감소가 작았다(Table 3).

3. 외부기형 관찰

방사선조사군에서 눈의 기형이 전체 태아 102마리 중 18마리(17.64%) 나타났다. 이는 혼합물 섭취 후 방사선조사군(4/98, 4.08%)에 비해 현저히 많이 나타난 것이다. 꼬리 기형(21/102, 20.58%)은 혼합물 투여 후 방사선조사군(7/98, 7.14%)에 비해 현저하게 나타났다(Fig. 1, 2).

태아의 성장 부분에 있어서 방사선에 피폭된 태아는 실험물 투여에 상관없이 대부분 대조군(가운데, 11 ± 0.7 cm)보다 성장지연(7 ± 1.1 cm)이 나타났다(Fig. 3).



Fig. 1 Photo of the congenital malformation of the eye

4. 조직학적 관찰

장기에서 비교적 방사선 감수성이 높은 소장염에서 형성

Table 2 Changes of Blood Corpuscle in Rat at 14 days after 2 Gy irradiation

Unit: $10^3/\mu$

Division	Lymphocyte	Neutrophil	Platelet
Normal	12.5±2.47	3.4±0.74	898±118.26
Rad	3.3±1.82	1.33±0.5	708.29±69.06
Se+Folic acid	12.26±3.07	3.64±1.52	911.6±82.3
Se+Folic acid+Rad	7.42±1.85**	2.1±0.9*	830±41.7*

* $p < 0.05$ as compared with Rad Group

** $p < 0.01$ as compared with Rad Group

Table 3 Changes of SOD activity in Rat at 14 days after 2 Gy irradiation

Unit: U/ml

Division	3,5day
Normal	410.4
Rad	254.34
Se+Folic acid	395.28
Se+Folic acid+Rad	369.9

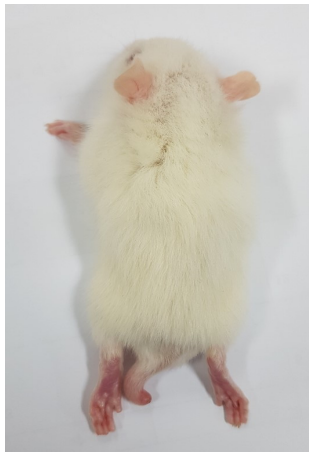


Fig. 2 Photo of the congenital malformation of the tail



Fig. 3 Photo of the congenital malformation of the growth
② : Normal Control, ①, ③ : Normal Control + 2 Gy radiation

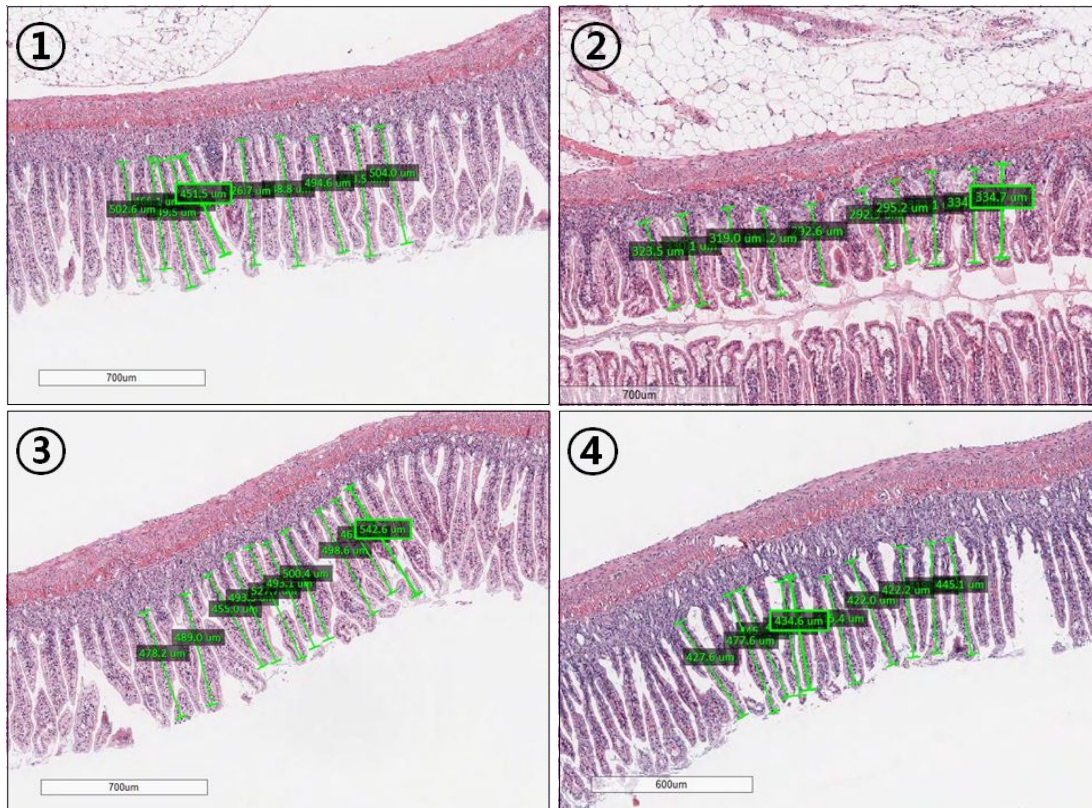
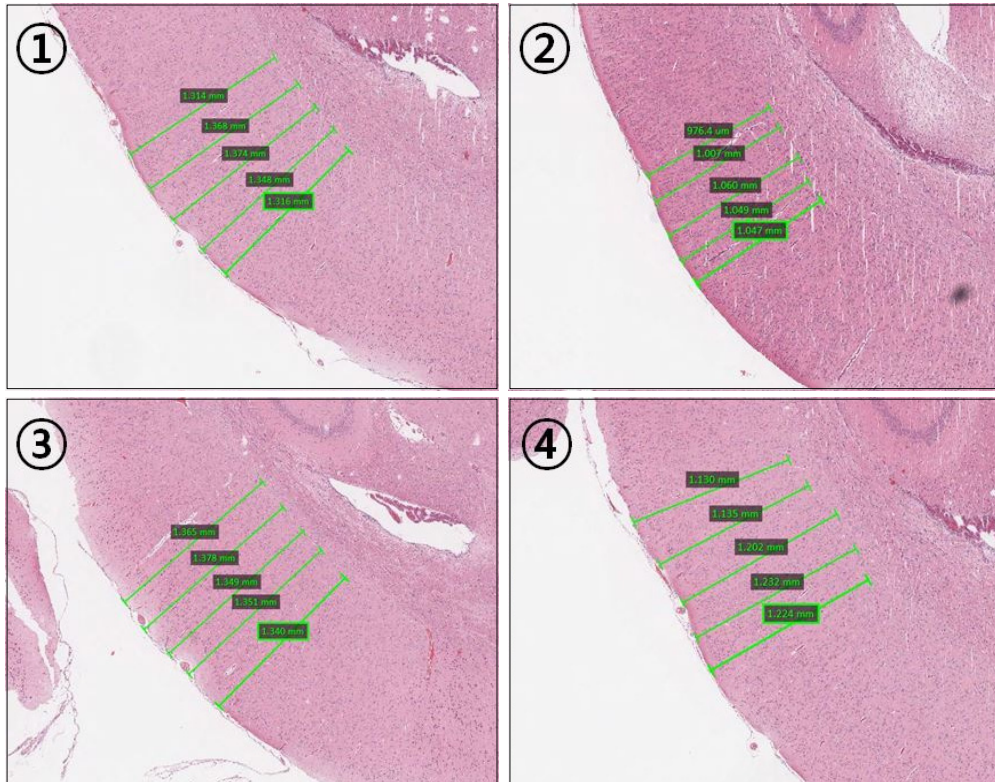


Fig. 4 Photomicrographs of the Villi Length(①, ②, ③, ④) in the jejunal circumference
① : Normal control, ② : Irradiation control, ③ : Se + Folic acid, ④ : Se + Folic acid + Irradiation

되는 소장용모의 길이를 관찰하였다. 출산 후 14일 후의 소장용모 길이에서 방사선조사군의 소장용모 길이는 아주 짧아진 것을 볼 수 있다($316 \pm 18 \mu\text{m}$). 이에 반해 화합물 투여 후 방사선조사군에서는 방사선조사군에 비해 비교적 소장용 세포의 피해가 작은 것으로 나타났다($442 \pm 17 \mu\text{m}$), (Fig. 4).

뇌에서 비교적 방사선 감수성이 높은 대뇌피질의 두께를 관찰하였다. 출산 후 14일의 대뇌피질의 두께 관찰에서 방사선조사군의 피질 두께가 아주 얇아진 것을 볼 수 있다($0.99 \pm 0.003 \text{ mm}$). 이에 반해 화합물 투여 후 방사선조사군은 비교적 정상수치에 가깝게 나타났다($1.13 \pm 0.005 \text{ mm}$), (Fig. 5).



[Fig. 5] Photomicrographs of the Cortical thickness(①, ②, ③, ④)

① : Normal control, ② : Irradiation control, ③ : Se + Folic acid, ④ : Se + Folic acid + Irradiation

IV. 고 찰

방사선과 원자력은 높은 효용성에 의해 사용의 빈도가 점차 늘어나고 있는바, 그로 인한 사고의 증가도 불가피하다 할 수 있다. 특히 인체의 생존 기간 중에서 태아기는 가장 방사선에 약하여 같은 양의 방사선에도 더 큰 피해를 입을 뿐만 아니라 선천성기형 등을 가지고 태어난다면 평생을 짊어져야 할 풀지 못할 큰 숙제로 남는다 할 수 있다.

비 효소 항산화제로서 자유라디칼(free radical)을 제거하고 다른 세포의 파괴를 억제하는 역할을 하며, 자유라디칼을 제거한 후 SOD, GPx 등의 항산화 효소를 재생하여 항산화 능력을 배가시키는[7,8] 셀레늄과 DNA, 단백질, 핵산, 지방산, 인지질 등 100여 가지 이상의 생화학물질 반응에 관여하여[9,10] 태아의 발달 및 신경학적 기능에도 관여하여 임신부의 필수 영양소로 알려진 엽산 화합물의 방사선에 기인한 선천성기형 예방 효과를 확인하였다.

방사선조사군과 혼합물 투여 후 방사선조사군의 비교에 있어, 혈구분석 14일 차에서 림프구($p < 0.01$), 호중구($p < 0.05$), 혈소판($p < 0.05$)의 감소를 완화해 주었다. 그리고 SOD 활성에서도 셀레늄과 엽산 화합물이 도움을 주는 것이 관찰되었다. 그리고 외부기형 관찰에서 화합물 투여 후 방사선조사

군에서 외부기형 발생확률이 현저히 줄어드는 것을 확인하였다. 이는 엽산, 셀레늄 화합물의 방사선방호에서 비롯된 것으로 사료된다.

또한 조직관찰에서 화합물이 방사선으로 인한 소장용도의 길이 감소를 완화하여 주는 것이 관찰되었으며 대뇌피질층의 두께 감소를 완화해 주는 것을 확인하였다. 이는 셀레늄과 엽산 화합물의 방사선방호작용에 의한 결과라 사료된다.

V. 결 론

임신한 랫드의 방사선 과 피폭 시 태아의 선천성기형 발생률 감소를 위한 천연물 발견을 위하여 강력한 항산화제로 알려진 셀레늄과 태아의 기형발생방지 및 신경관결손 예방 등을 위해 임신부의 필수 영양소로 알려진 엽산 화합물의 항산화 작용으로 인한 방사선에 의한 선천성기형 발생 예방 효과를 확인하였다.

방사선조사군에 비해 혼합물 투여 후 방사선조사군에서 혈구의 감소 완화 및 SOD 활성화됨을 확인하였다. 또한 혼합물 투여 후 방사선조사군에서 소장용 및 대뇌피질의 피해

가 완화(감소)됨을 확인하였다. 이의 결과로 방사선에 의한 선천성기형 발생이 감소하였다.

이에 본 연구에서는 셀레늄과 엽산 혼합물은 태아기의 기관형성 시기의 방사선 과피폭에 의한 선천성기형 발생을 완화시킬 수 있는 천연물로 사용될 수 있을 것이라 사료된다.

REFERENCES

- [1] Yang YK, So IC, Lee SH, Lee HY. The Effect of Selenium and Vitamin E Simultaneous Administration on Blood Fatigue Factor and Cardiorespiratory Function: The Kor. J. of Exercise Nutr. 2006;10(1):43-8.
- [2] Hibbard BM. Folate and fetal development. Br. J. Obstet. Gynaecol.. 1993;100:30.
- [3] Hoffman DA, Felten RP, Cyr HW. Effects of Ionizing Radiation on the Developing Embryo and Fetus. a Review. U.S. Dept. of Health and Human Service Publication(F.D.A) 81-8710. 1981;30183.
- [4] United Nations. Genetic and Somatic Effects of Ionizing Radiation. Report of United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation to the General Assembly, With Annexes, United Nations, New York. 1986;1-365.
- [5] Lee WJ, Han SR, Jeong O, Kim SI, Cho MJ, Kim WS. Radiation-induced Congenital Anomalies in the Rat Fetuses. The Kor. Jour. of Physical Anthropology. 2001;14(2):159-168.
- [6] Pryor WA. Oxy-radicals and related species: Their formation, lifetime, and reactions. Am. Rev. Rhysiol. 1986;48:657-67.
- [7] Packer L & Colman C. The Antioxidant Miracle: Your Complete Plan for Total Health and Healing, USA, John Wiley & Sons, Inc., 1999
- [8] Chung SW, Choi CS, Choi SK, Sung KS, Yang YK. The Effect of Vitamin E and Selenium Administration on Antioxidant Enzyme Activity and Blood Fatigue Factor, The Kor. Jour. of Sports Sci., 2010;19(1): 1127-38.
- [9] Bamaekers VT, Blau N. Cerebral Folate Deficiency, Dev. Med. Child Neurol., 2004;46:843-51.
- [10] Chae EH, Kim SJ, Lee HY, Chang NS. Effects of Maternal Folic Acid Nutritional Status on the Expression of Myelin Basic Protein in the Offspring. The Kor. Jour. of Nutr., 2007;40(2):130-7.