

토끼에서의 청형광 광선에 의한 실험적 급성 망막독성

영남대학교 의과대학 안과학교실

박영훈 · 차순철 · 한덕기

서 론

신생아 황달에 대한 광선치료는 오늘날 널리 이용되고 있는 효과적인 치료 방법이나, 이때 사용되는 425-475 nm의 청형광광선에 의해 여러 가지 전신적 부작용이 발생하는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 특히, 안구에 미치는 영향을 밝히기 위한 많은 연구중, 1970년 Sisson 등²⁾은 newborn piglet의 좌안을 차폐시키고 우안은 산동시킨 상태에서 광선치료를 실시하고 3주가 경과한 후 광학현미경 및 전자현미경검사를 실시하여, 차폐 시킨 좌안에서는 이상소견을 발견할 수 없었으나, 산동시킨 우안에서 조직학적 손상이 있었다는 보고를 하였으며, 같은 해 Kuwabara 등³⁾과 O'steen 등⁴⁾은 광선치료를 시행한 rat eye에서 망막손상이 발생한 것을 보고하였다. 하지만, 1975년 Dobson 등⁵⁾은, 양안차폐를 한 상태에서 42시간 이상의 광선치료를 받고 4년이 경과한 어린이를 대상으로 망막전위도검사를 실시하여, 광선치료를 받지 않은 대조군과 진폭의 차이가 없다는 보고를 하여 양안에 철저한 차폐를 할 경우 광선에 의한 망막손상을 예방할 수 있는 것으로 주장하였다.

광선에 의한 망막손상은 빛의 파장이 짧을수록 더 심한 것으로 알려져 있는데, 1976년 Ham 등⁶⁾은 파장의 길이가 감소할수록 즉, 자외선이나 푸른색과 같은 파장이 짧은 광선이 광손상에 대한 감수성을 증가 시킨다고 하였다. 손상기전은 열에 의한 광응고, 파장에 의한 기계적 손상, 광화학적 손상으로 나눌수 있으며⁷⁾ 1916년 Verhoeff와 Bell⁸⁾은 광선 망막증은 광응고에 의해 일어난다고 주장 하였으나, 1971년 White 등⁹⁾은 광화학적 작용 또는 온도에 의해 가속화된 광화학적 작용에 의해 망막손상이 발생한다고 보고하였다.

광선치료후 상당 기간이 흐른 뒤에 관찰한 망막의 기능적, 조직학적 변화와 차폐의 역할에 대해서는 많은 실험적 연구들이 있어 왔지만, 광선치료후 급성기의 망막손상 정도와 이에 영향을 미치는 인자에 대하여서는 알려진 것이 부족한 실정으로 저자들은 어린 백색 가토를 이용하여 광선치료 시간, 조사 방법, 차폐의 유무등의 조건을 변화시키면서 광선치료를 실시하여 급성기의 망막손상 정도를 안저검사와 전자현미경 검사로 비교 조사하였다.

대상 및 방법

실험동물은 세극등 검사 및 간접검안경에 의한 안저검사상 이상 소견이 없는 체중 1.0 kg 내외의 백색가토 12마리를 암수 구별없이 사용하였다. 모든 실험 토끼의 우안에 1% Atropine을 1일 1회 점안하여 산동시켰으며 광원으로부터 46cm의 거리에서, 물리적 구속을 가지 않은 상태로 광선치료를 실시하였다. 광선치료기는 Wallaby phototherapy unit를 이용하였으며, 425-475nm의 청형광 광선이 나오는 형광Tube를 이용하여 300-350 ft-cd의 조도를 유지하였다.

대상을 2마리씩 6군으로 나누어, 제1군은 12시간 동안, 제2군은 24시간 동안 연속적으로 광선을 조사하였으며, 제3군은 1시간 조사하고 4시간 소등하는 방법으로 총 24시간동안 간헐적으로 광선치료를 실시하였다. 제4군은 48시간 동안 연속적으로 조사 하였으며, 제5군은 1시간 조사하고 4시간 소등하는 간헐적인 방법으로 총 48시간 조사하였다. 2마리는 대조군으로서 양안에 안검봉합술을 실시하여 양안 차폐를 한 후 각각 24시간, 48시간 동안 연속적으로 광선치료를 실시하였다(표 1). 광선 조사 후 간접검안

경을 이용하여 안저검사를 실시한 후, 즉시 안구를 적출하였다. 안구의 전자현미경적 검색을 위하여 총경동액으로 3% glutaraldehyde 용액(0.1M, phosphate buffer, pH 7.4, 4°C)을 서서히 주입, 생체고정을 한 후 안구를 적출하였다. 적출된 안구는 평면부에서 절개하고 초자체를 제거한 후 시선부(visual streak) 및 주위 망막과 시신경을 1 mm³크기의 절편으로 만들고, 3% glutaraldehyde 용액에 2시간동안 후고정을 하였다. 고정된 조직은 계열 ethanol용액으로 탈수하여 propylene oxide로 치환한 후 epon혼합물로 포매하였다. 포매된 조직을 1μm 두께로 박절, alkaline toluidine blue로 염색하여 관찰부위를 결정한 다음 MT-2B Porter-Blum ultramicrotome으로 diatome을 이용, 두께 40~60 nm로 초박절하여 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 후 Hitachi H-7000전자현미경으로 관찰하였다.

성 적

간접 검안경을 이용한 안저검사상 실험군과 대조군 모두 정상소견을 나타내었다. 전자현미경 검사에서, 12시간 연속 조사한 군에서는 광

Table 1. Various type of phototherapy and results

Group	Duration of exposure (hours)	Mode of phototherapy	Number of eyes	Result
1	12	continuous	4	irreversible
2	24	continuous	4	irreversible
3	24	intermittent*	4	irreversible
4	48	continuous	4	irreversible
5	48	intermittent*	4	irreversible
control** group	24	continuous	2	negative
	48	continuous	2	negative

*intermittent:1 hour of illumination followed by 4 hours with the light off

**control group: both eyes were occluded by tarsorrhaphy

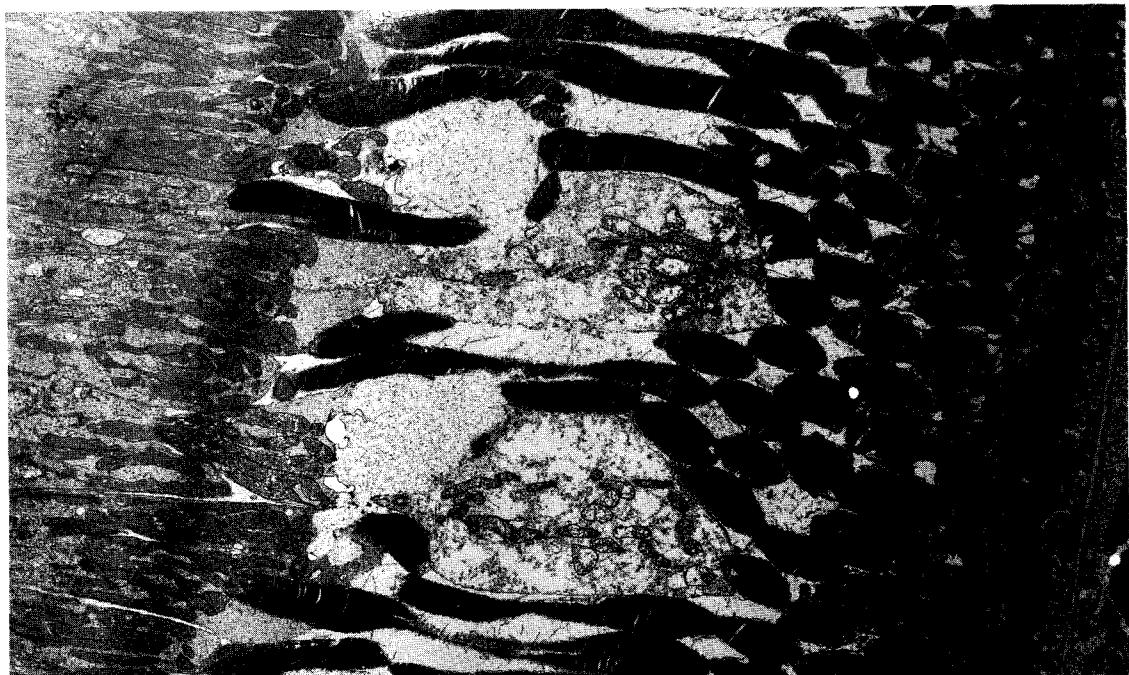


Fig. 1. Rabbit retina, after continuous 12 hours phototherapy. Occasional swelling of photoreceptor is noted(right eye).
× 4250.

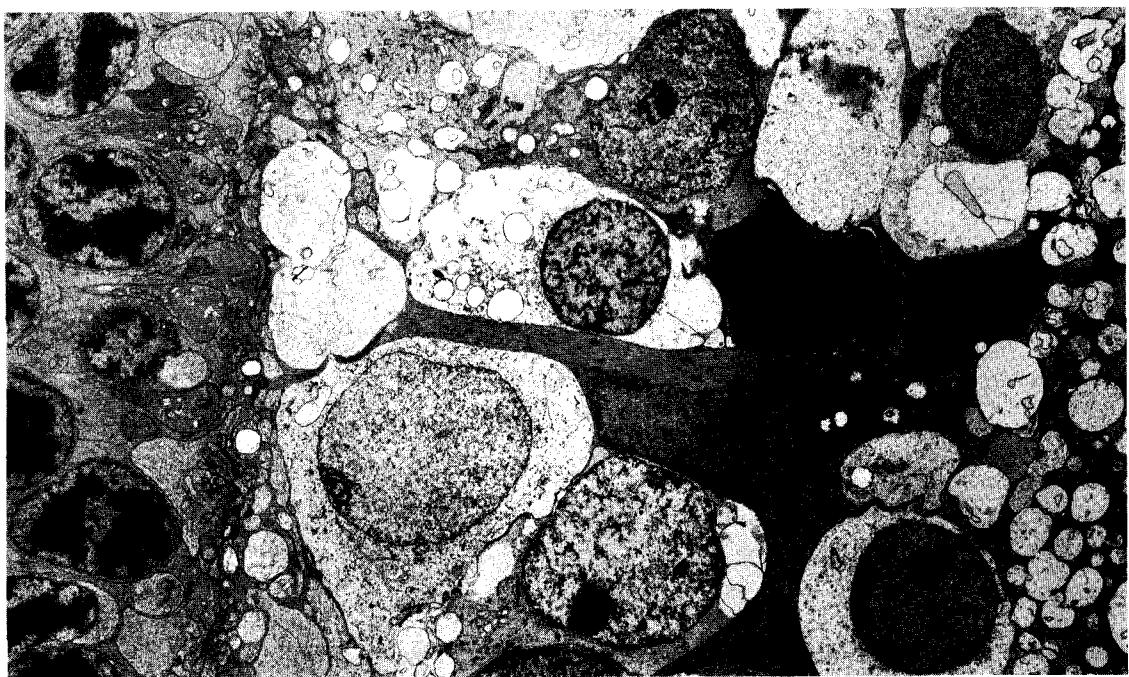


Fig. 2. Rabbit retina, after continuous 12 hours phototherapy. Bipolar cells are markedly swollen(left eye). × 3400.

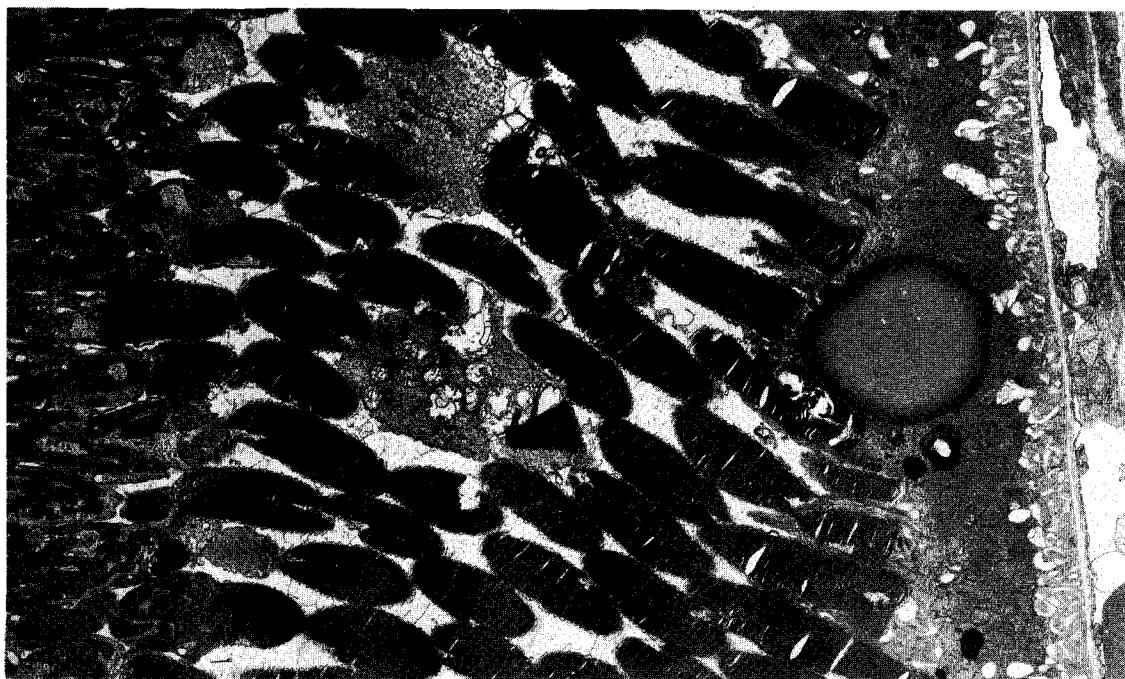


Fig. 3. Rabbit retina, after continuous 24 hours phototherapy. Mitochondrial swelling of inner segment and frequent cellular swelling of photoreceptor are demonstrated(left eye). $\times 5100$.

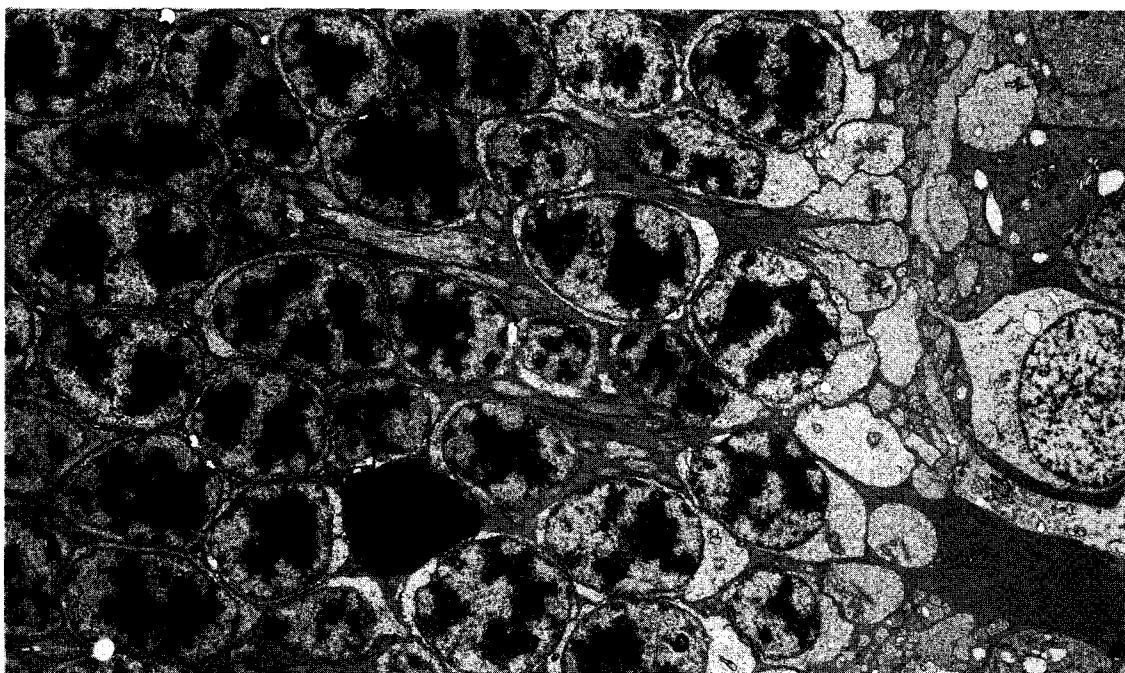


Fig. 4. Rabbit retina, after intermittent 24 hours phototherapy. Swelling of inner segments and bipolar cells are demonstrated. Pyknosis of photoreceptor is characteristic(left eye). $\times 3400$.



Fig. 5. Rabbit retina, after continuous 48 hours phototherapy. Swelling of photoreceptor and widened extracellular spaces between outer segments are characteristic(left eye). $\times 5100$.

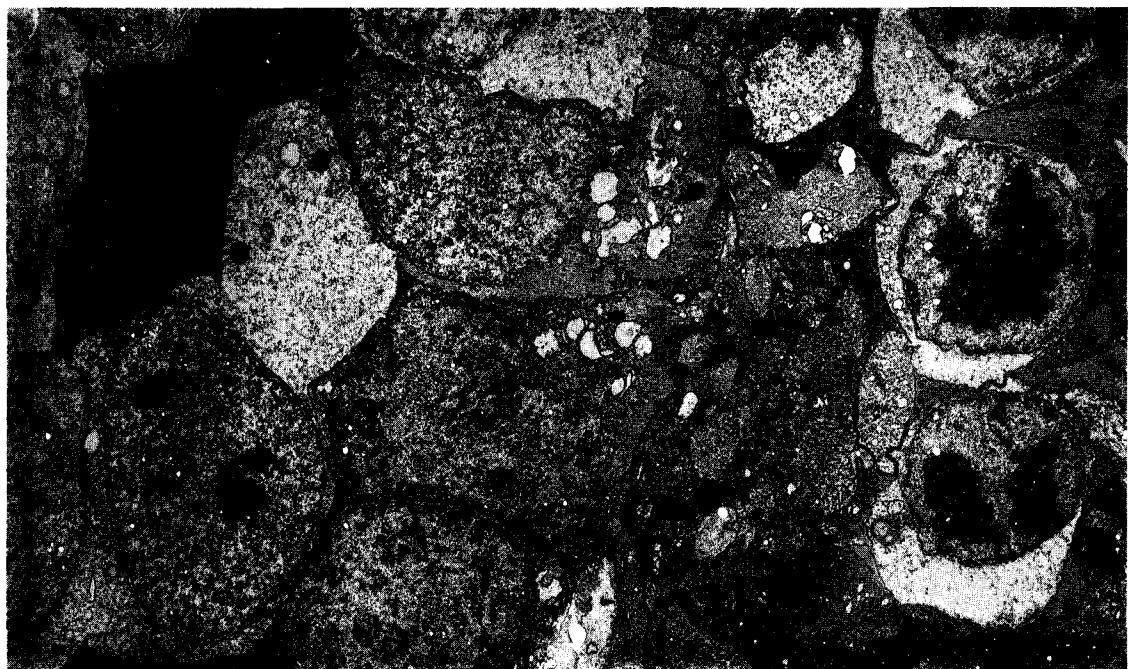


Fig. 6. Rabbit retina, after intermittent 48 hours phototherapy. Swelling of inner segments and pyknosis of bipolar cells are noted(right eye). $\times 4250$

수용체 외절(그림 1)과 양극세포의 경미한 종창을 관찰할 수 있었고(그림 2), 양안에서 손상의 정도는 비슷 하였으나, 산동시킨 우안에서 손상의 범위가 더 넓게 관찰 되었다. 24시간 연속 조사군에서는, 광수용체 외절의 종창과 내절 사립체의 팽창을 관찰할 수 있었고(그림 3), 24시간 간헐적 조사군에서는 광수용체 내외절의 종창과 핵농축, 양극세포의 종창을 나타내어(그림 4), 24시간 연속 조사군에 비해 손상의 범위가 망막 내층으로 확대된 소견을 보였다. 48시간 연속 조사군의 경우 양안에서 비슷한 정도의 광수용체 종창과 부종이 있었으나(그림 5), 48시간 간헐적 조사군에서는 광수용체, 양극세포의 부종과 종창(그림 6), 신경절세포의 종창을 보이는 심한 손상을 나타내었다.

안검봉합술로 양안 차폐를 한 상태에서 광선치료를 실시한 대조군에서는, 24시간 연속조사군, 48시간 연속 조사군 모두에서 정상 소견을 나타내었다. 12시간 이상 노출된 실험군의 경우 손상의 정도는 비슷하였으나 노출시간이 증가함에 따라 손상이 망막내층으로 확대되는 경향을 나타내었으며, 간헐적으로 조사한 경우에서, 연속적으로 조사한 경우에 비해 더 심한 손상을 나타내었다. 산동시킨 모든 실험 토끼의 우안에서 손상의 정도는 산동을 시키지 않은 좌안과 비슷하였으나, 손상의 범위가 더 넓은 것으로 관찰되었다.

고 찰

신생아 황달에 대한 광선치료는 1958년 Cremer가 태양광선 또는 청형광 광선에 노출된 미숙아의 혈중 빌리루빈치가 감소하는 것에 착안하여 고안한 치료방법으로, 그 기전은 425-

475nm 청형광 광선을 조사하여 피부의 빌리루빈을 광산화, configurational isomerization structural isomerization을 통해 다른 광합성물로 변환시켜 간의 conjugation system을 통하지 않고 체외로 배출시키게 된다. 빌리루빈은 황색소이므로 violet, blue, green light만을 흡수하고 또, 피부를 통과 하기 위하여 425-475 nm의 청형광 광선이 가장 적절한 광원으로 이용되고 있다.¹⁾

외부에서 들어오는 광선에 대하여 각각은 300nm내외의 자외선에 대해¹⁰⁾ 수정체는 300-400nm의 자외선에 대해¹¹⁾ 차단벽 역할을 하지만, 광선치료에 이용되는 425-475nm의 청형광 광선을 차단 하지는 못하므로 쉽게 망막손상이 올 수 있으며 특히, 신생아는 수정체의 투과성이 좋아 광손상에 대한 감수성이 높은 것으로 알려져 있다. 1970년 Sisson 등²⁾과 Kuwabara 등³⁾이 광선치료를 실시한 동물에서 망막손상이 생기는 것을 보고한 이래, 광선치료시 망막손상에 대해 많은 연구가 있었다. 실험동물을 이용한 여러 실험에서 광선치료 후 비록 안저검사에서는 이상소견이 없더라도 광학현미경 및 전자현미경검사에서 광수용체 내외절의 손상이 있다고 하였으며 이때 발생하는 손상의 정도는 광선량이 적을때는 시광색소(visual pigment)에서부터 시작하여 추체의 손상이 오게되고 광선량이 증가함에 따라 망막색소상피, 양극세포, 신경절세포 등으로 손상의 범위가 확대되는 것으로 알려져 있다.⁷⁾

저자들은 신생아 황달치료를 위한 광선치료 후 급성기에 발생하는 광손상을 관찰하기 위하여 1.0 kg 내외의 어린 백색가토를 이용하여 12시간, 24시간, 48시간 연속 혹은 간헐 조사하였으며, 동물실험에서 광손상은 나이, 성별, 먹이, 마취 등에 의해서는 영향을 받지 않는 것으로 알려져 있지만¹²⁾ 본 실험에서는 신생아와 비

슷한 조건을 갖추기 위해 체중 1.0kg 내외의 어린 토끼를 이용 하였으며, Melanin이 광손상과 상관관계가 없다는 점을 염두에 두고 백색의 토끼를 사용하였다.¹³⁾ 실험의 결과 12시간 이상 노출된 실험군 전체에서 광수용체의 망막손상이 있었다.

또 노출 시간이 증가함에 따라 손상의 범위가 양극세포, 신경절세포, 신경섬유층등의 망막내층으로 확대되는 소견을 볼 수 있어, 12시간 이상 노출된 경우에 있어 광수용체의 부분적인 비가역적 손상이 있었고 광선조사시간이 증가함에 따라 망막의 손상 정도가 심해지는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 본 실험에서 보였던 망막내층의 손상은 망막외층의 손상과 달리 가역적 손상으로 시간이 지남에 따라 회복가능한 것으로 생각된다.

광선 조사방법에 있어 종래에는 연속적인 조사가 효과적이라는 주장이 있었으나, Lau와 Fung 등¹⁴⁾은 간헐적인 치료방법이 보다 효과적이라고 보고 하였으며, 그 근거로 피부에 부착된 빌리루빈이 혈장으로 이동하는 데는 수 nanosecond 밖에 소요되지 않으나 혈장에서 피부로 이동하는 데는 1-3시간이 걸리므로 간헐적인 조사방법이 광선의 총량을 줄이는 효과적인 치료방법이라고 주장하였다. 요즘 대부분의 신생아실에서 간헐적인 광선치료 방법을 선호하는데 착안하여 간헐적 치료군과 연속적 치료군의 망막 손상정도를 비교 관찰하였는데, 간헐적 조사군에서 망막손상의 정도가 더욱 심하게 나타나, 1978년 Santella 등¹⁵⁾의 보고와 1984년 김과 송¹⁶⁾의 연구 결과와 일치하였으며, 망막손상을 줄이기 위해서는 조사되는 광선의 총량과 함께 조사방법에 대한 고려가 있어야 할 것으로 생각된다.

본 실험의 결과 차폐를 실시한 대조군에서는,

안저검사와 조직검사 모두에서 정상소견을 나타내어 적절한 차폐를 할 경우 급성기의 망막독성을 예방 할 수 있었으나 만약 부적절한 차폐로 인하여 안구가 광선에 장기간 노출된 경우 망막전층의 비가역적 손상에 따른 시력저하가 예상됨으로 적절한 차폐가 매우 중요한 것으로 생각된다. 1975년 Dobson 등¹⁷⁾이 양안 차폐를 하고 광선치료를 받은지 4년이 지난 어린이를 대상으로 망막전위도검사를 실시하여 정상적인 결과를 얻은 보고와 종합하면, 적절한 양안 차폐를 할 경우 광선치료의 급성기 또는 만성 독성을 예방 할 수 있는 것으로 생각되었다.

요 약

광선치료는 신생아 황달의 효과적인 치료방법이나 광선에 의한 망막손상을 예방하기 위해 양안에 적절한 차폐를 실시하여야 한다.

광선치료후 급성기의 망막 손상정도와 차폐의 역할을 조사하기 위하여, 저자들은 토끼를 이용하여 광선치료시간, 조사방법, 차폐 유무 등을 변화 시키면서 광선치료를 실시하고 즉시, 간접검안경을 이용한 안저검사와 전자현미경 검사를 실시하여 광선치료후 수시간에서 수일후에 검사한 보고들과 비교 하였다. 모든 실험 토끼에서 안저검사상 정상소견을 나타 내었으나, 전자 현미경 검사상 12시간 이상 조사한 모든 실험군에서 광수용체 부종 및 망막내층의 부종 및 팽윤이 있었으나 광선치료후 수일이 경과한 후 검사하였던 경우에서 볼 수 있었던 광수용체 배열의 변화, 광수용체 내외절의 파괴, microvilli의 확장 및 유착 등의 소견은 볼 수 없었고, 노출시간이 증가 할수록 손상의 정도가 심해졌으며, 광선 조사량이 같은 경우 간헐적인

방법으로 조사를 실시한 경우에서 망막손상이 심한 것으로 나타났다. 산동시킨 경우에서, 손상의 정도는 산동시키지 않은 경우와 비슷 하였으나 손상의 범위가 더 넓게 관찰 되었으며 차폐를 실시한 경우 망막손상을 예방할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG: Neonatology, pathophysiology and management of the Newborn. 4th ed, J.B. Lippincott company, Philadelphia, 1994 pp 697-708.
2. Sisson TRC, Glauser SC, Glauser EM, Tasman W, Kuwabara T: Retinal changes produced by phototherapy. *J PEDIATR* 77:221-227, 1970.
3. Kuwabara T, Gorn RA: Retinal damage by visible light, an electron microscope study. *Arch Ophthalmol* 79:69-78, 1968.
4. O'steen WK: Retinal and optic nerve serotonin and retinal degeneration as influenced by photoperiod. *Exp Neurol* 27: 194-205, 1970.
5. Dobson V, Cowett RM, Riggs LA: Long-term effect of phototherapy on visual function. *J PEDIATR* 86: 555-559, 1975.
6. Ham WT Jr., Mueller HA, Sliney DH: Retinal sensitivity to damage for short wave length light. *Nature* 260: 153-155, 1976.
7. Andrew PS, Robert PH, Awall P: *Retina*. 1st ed, C.V.Mosby Co, Toronto, pp 749, 1989.
8. Verhoeff FH, Bell L: The pathologic effect of radiation energy on the eye. *Proc Am Acad Arts Sci* 51:628-635, 1916.
9. White TJ, Mainster MA, Wilson PW, Tips JH: Chorioretinal temperature increase from solar observation. *Bull Math biopsys* 33:1-7, 1971.
10. Boettner EA, Wolter JR: Transmission of ocular media. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1: 776-783, 1962.
11. Mainster MA : Spectral transmission of intraocular lens and retinal damage from intensive light source. *Am J Ophthalmol* 85: 167-170, 1978.
12. Nowel WR, Walker VS, Berman S: Retinal damage by light in rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 5: 450-473, 1966.
13. Kapp LM, Smith SC: Evidence against melanin as the mediator of retinal phototoxicity by short wave length light. *Esp Eye Res* 54(1): 55-62, 1992.
14. Sanrella RG, Rosenkranz HS, Speck WT: Intracellular deoxyribonucleic acid modifying activity of intermittent phototherapy. *J PEDIATR* 93:106-109, 1978.
15. 김상하, 송준경: 간접검안경 조사로 인한 실험적 광독성 망막증. *한안지* 25:189-199, 1984.

-Abstract-

Acute Phase Retinal Phototoxicity Induced by Blue Fluorescent Light

Young Hoon Park, Soon Cheol Cha, Duk Kee Hahn

Department of Ophthalmology

College of Medicine, Yeungnam University

Taegu, Korea

Even though phototherapy is an effective means of treating hyperbilirubinemia, adequate binocular shields are essential to prevent light hazard of retina during phototherapy.

The phototherapy to young albino rabbits was performed under various conditions; exposed for 12, 24, and 48 hours, continuity or intermittence of irradiation, and use of shields.

Although there was no definite pathologic change in indirect ophthalmoscopic examination, severe damage was seen at electron microscopic level. In all experimental groups, swelling and edema of photoreceptor were seen at right after phototherapy. Furthermore, more severe damage was seen in case of intermittent irradiated group and prolong exposed group. In mydriatic eyes, severity of damage was similar to non mydriatic eyes, but area of retinal damage was more extensive than non-mydriatic eyes. In control group which was protected by binocular shields during phototherapy, no significant abnormality was found.

Key Words : Hyperbilirubinemia, Phototherapy, Retinal phototoxicity