

저 에너지 레이저 파장이 화상쥐 혈청면역물질 농도 변화에 미치는 영향

부산가톨릭대학 물리치료학과
노 민 희
동남보건대학 임상병리과
용 준 환

The Effects of the Low Power Wavelengths of Helium-Neon Infra-Red Laser on the Changes of the Serum Immunoglobulin Concentration in Burn Rats

Rho, Min-Hee

Department of Physical Therapy, Pusan Catholic University

Yong, Joon-Hwan

Department of Clinical Pathology, Dongnam Health College

<Abstract>

This studies were to investigate the effects of low power wavelengths Helium-Neon Infra-Red(He-Ne IR) laser on the changes of the serum immunoglobulin(Ig) concentrations in burn rats, The thirty Spraque-Dawley adult male rats were assigned to the 5 groups: the experimental groups(3), the burn control group(1) and the control group(1). There was made three degree burn by the 250 mW IR on the back of each rats, from 3 days after being burned, the experimental laser groups were irradiated low power wavelengths(292 Hz, 1168 Hz, 4672 Hz) He-Ne IR laser for 5 minutes every day during the 7days.

The results were as follows;

1. The concentrations of immunoglobulin G(Ig G) in serum of all experimental groups on the treated with the low power wavelengths of the He-Ne IR laser during the 5 minutes for 7 days were significantly lower than those of burn groups, but those 1168 Hz group were significantly higher than those of the 292 Hz and 4672 Hz groups.
2. There were significantly decreased the change of the level of immunoglobulin M(Ig M) in serum of all experimental groups on the treated with 5 minutes laser for 7 days to the burn control group, and were significantly increased on treated with more higher wavelengths groups to those of lower groups.
3. The concentrations of immunoglobulin E(Ig E) in serum of the 292 Hz wavelengths groups were

significantly lower than those in burn control group.

As above results, the changes of the immunoglobulin in serum levels on the healing process have meaningful effected with the low power wavelengths role on the treated with He-Ne IR laser.

I. 서 론

광범위 화상 후 사망까지 초래할 수 있는 가장 흔한 임상증상은 패혈증으로, 이는 면역기능 억제와 밀접한 관계가 있다(Munster, 1976). 화상 후 숙주방어기전은 어느 단독변화에 의하지 않고 일차적으로 피부의 손상에 의한 염증반응과 이에 따른 비특이성 숙주방어기전인 대식세포의 변화, 증성구 및 림프구 변형, 보체계 변화 등, 화상후 면역기전의 변화는 복잡하여 어느 단독변화로 설명하기란 쉽지 않다(Rapaport 등, 1964). 특히 화상시 면역억제는 여러 가지 실험지표에 의해 증명되고 있다. 즉, 화상 입은 환자에서 동종피부이식 생존기간의 연장, 지연성 피부과민성 반응의 저하와 mitogen에 대한 반응 저하(McIrvine 등, 1982), lymphokine 생산 감소(Xi-Ming 등, 1983)을 볼 수 있으나, 이에 대한 정확한 기전은 확실하게 밝혀지지 않고 있다.

면역조절 저하 상태를 회복시키기 위해 예방접종, 보강제(adjuvant), lymphokine, 단일항체, 전달인자(transfer factor) 등의 면역조절 방법들의 사용이 시도되고 있으나(Johnson 등, 1975; Keeling 등, 1980), 아직 광범위 화상 시 면역조절 제재들이 세포면역능에 어떠한 영향을 미치는지 정확히 밝혀져 있지 않다. Hershman 등(1988)은 쥐에서 화상 후 r-interferone(r-IFN) 생성이 저하되고 감염으로 인한 사망률이 높았으나, r-IFN을 투여한 결과 그로 인한 사망률을 줄일 수 있다고 보고하였다. 또한 Han 등(1991)은 화상을 입힌 흰쥐에게 r-IFN과 polyinosinic polycyidylic acid를 투여한 결과 세포면역력 향진에 영향을 주는 것으로 관찰되었다. Yoon과 Moon(1994)은 실험동물에 면역장애를 일으킨 후 대식세포를 창면 주위에 주사하였더니 상처치유 기간이 단축되었다고 보고하였다.

루비레이저를 처음 소개한 이래 오늘날 의학분야에서 여러 종류 레이저가 다양한 목적으로 이용되고 있다. 특히 저출력 레이저는 최근 물리치료 임상현장에서 널리 이용되고 주목받고 있으나 그 효과와 작용기전에 관해

논란의 여지가 많은 것은 사실이다(Ann, 1997). Kana 등(1984)은 25 mW의 He-Ne 레이저와 45 mW의 Argon 레이저를 사용하여 흰쥐 피부상처의 교원질 합성을 비교하였을 때 He-Ne 레이저가 가장 효과적이라고 주장하였다. Lievens(1991)는 8.8 mW의 IR 레이저를 사용하여 혈액 순환 증가 효과를 관찰하였고, Rochkind 등(1989)은 16 mW의 He-Ne 레이저 조사가 중추신경계와 말초신경계의 회복에 효과가 있었으며, 또한 피부상처와 화상상처 치유에도 효과적이라고 보고하였다. Ann(1997)은 830 nm의 He-Ne IR 레이저를 157 mW로 적용하여 레이저 치료군과 대조군의 창상길이의 변화를 비교한 결과 4일, 7일, 10일, 17일 치료군이 대조군에 비해 창상 길이가 유의하게 감소되어, 레이저 조사로 창상치유가 촉진됨을 보였다고 보고하였다.

Goldman(1996)은 상처의 출혈에 대해 레이저 조사 후 혈액응고의 촉진효과가 증명되었다고 하였고, Basford 등(1986)은 저에너지 레이저 치료가 세포의 분열, 식균, 면역, 호흡의 변화를 촉진하였다고 보고했다.

이에 저자들은 화상 후 발생하는 면역기능의 변화를 좀더 깊이 이해하기 위해 생쥐에 심도 화상을 입힌 후 저에너지 He-Ne IR 레이저를 조사하여 상처치유에 관여하는 면역글로브린(immunoglobulin)의 혈청 내 변화를 측정하고자 본 실험을 시도하였다.

II. 실험재료 및 분석방법

1. 실험동물 및 식이

실험동물은 평균체중이 $260 \pm 18.46g$ 되는 Sprague-Dawley계 숫쥐를 사용하였으며, 1개의 대조군과 1개의 화상대조군, 그리고 3개의 레이저 실험군들로 구분하였다. 각 군당 6마리씩 총 30 마리를 체중이 비슷한 것끼리 배정하였다.

화상 대조군과 레이저 실험군들의 화상을 유발시키기 위해 흉 배부와 요 배부 사이를 탈모연고를 이용하여 한

전히 털을 제거한 다음, 직경 1.5cm 크기의 원통 깔때기를 고정한 후 250mW 단파적외선을 이용하여 1cm 거리에서 10분간씩 조사하여 3도 심부 화상을 유발시켰다.

레이저 치료는 저에너지 He-Ne IR Laser(Lasotronic MED.100, Lasortonic A.G. Switzerland)로 He-Ne 파장은 632nm, 출력 20mW, IR Laser 파장은 830 nm, 출력 20mW×4이다. 상기 기기를 사용하여 화상 후 3일째부터 심부 3도 이상 화상반응으로 나타난 염증조직을 확인하고, 각 군별로 레이저 치료를 각각 292Hz, 1168Hz, 4672Hz으로 실시하였다. 치료 시 움직이지 못하도록 고정 틀에 고정한 후 CANON-1365를 사용하여 약 15cm 거리에서 각 군별로 1일 1회, 그리고 5분간씩 7일 동안 조사하였다.

2. 시료채취 및 분석

모든 실험동물은 레이저 치료 7일째가 되기 전 16시간을 절식시켰으며, ethyl ether로 전신 마취한 다음 흉부를 절개하여 심장 내에서 직접 채혈하였다. 채혈된 혈액은 실온에서 30분 방치한 후 3000rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리한 즉시 각 성분 분석에 사용하였다. Immunoglobulin M(Ig M)과 Immunoglobulin G(Ig G)는 면역혈청자동분석기(Behring Nephelo, Meter in German)를 사용하여 분석하였고, Immunoglobulin E(Ig E)는 면역혈청자동분석기(Cobas Core in Switzerland)를 사용하여 분석하

였다.

본 연구에 실험결과 자료는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성 검증은 $p < 0.05$ 수준에서 student t-test를 이용하여 상호 비교하였다.

III. 결 과

화상 후 발생하는 생체면역기능의 변화를 이해하기 위하여 30마리의 생쥐를 대조군(control group)과 화상대조군(burn group), 그리고 심도 화상을 입힌 후 저에너지 He-Ne IR을 조사하는 3개의 레이저치료군(292 Hz, 1168 Hz, 4672 Hz groups)으로 구분하여 실험을 실시한 후, 상처치유에 관여하는 immunoglobulin의 혈청내 변화를 측정된 결과는 Table 1 과 같았다.

1. Immunoglobulin G(Ig G) 의 농도 변화

화상 쥐에 7일 동안 레이저를 치료한 결과 Immunoglobulin G(Ig G)는 대조군에 비해 모든 실험군에서 유의하게 증가하였다. 그러나 화상대조군에 비해 모든 레이저치료군에서는 유의하게 감소하였다. 또한 292 Hz 레이저치료군에 비해 1168 Hz 레이저치료군은 유의하게 증가되었고, 4672 Hz 레이저치료군들은 증가되었으나 유의성은 나타나지 않았다(Fig 1).

Table 1. The Change of the Serum Immunogloblin Concentration on the Treatment the Wavelengths of He-Ne IR Laser for 7Days

Groups	Ig G(mg/dl)	Ig M(mg/dl)	Ig E(IU/L)
Control	245.67± 6.68 a	47.88±1.68 a	0.17±0.05 a
Burn-control	498.73±35.70 b	55.63±4.51 b	0.28±0.12 ab
292 Hz	342.32±29.17 c	64.65±2.79 c	0.13±0.05 ac
1168 Hz	405.08±37.20 d	70.97±1.68 d	0.27±0.10 ab
4672 Hz	352.63±15.94 ce	86.52±3.26 e	0.22±0.08 ab

All values are Mean±SD(n=6)

Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at $p < 0.05$

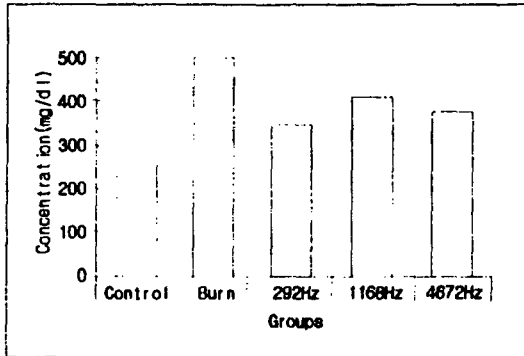


Fig 1. The Changes of the Serum Immunoglobulin G Concentration on the Treatment the Wavelengths of He-Ne IR Laser for 7Days

2. Immunoglobulin M(Ig M) 의 농도 변화

Immunoglobulin M(Ig M)은 대조군이나 화상대조군에 비해 모든 레이저치료군들에서 유의하게 증가되었는데, 292Hz 치료군에 비해 1168Hz 치료군과 4672Hz 치료군들에서 유의하게 증가되었다. 또한 레이저 파장의 빈도가 높을수록 Ig G 혈중농도는 증가되는 것으로 나타났다. 이것은 레이저가 염증반응이나 조직 변성물질 등 처리해야될 항원들을 촉진시켜 면역반응을 활성화시킨 것으로 사료되나 반대로 조직 치유를 지연시키는 결과로도 해석된다. 따라서 앞으로 조직손상의 정도나 질병의 종류에 따른 레이저의 효과를 심층적으로 연구되어야할 것으로 사료된다(Fig 2).

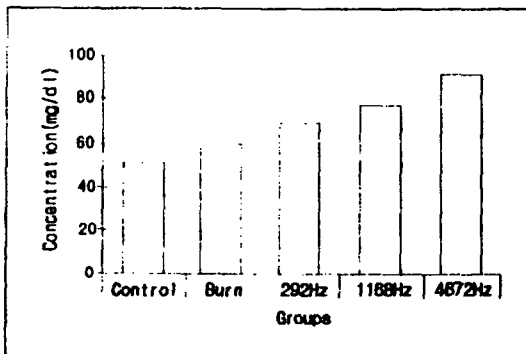


Fig 2. The Changes of the Serum Immunoglobulin M Concentration on the Treatment the Wavelengths of He-Ne IR Laser for 7Days

3. Immunoglobulin E(Ig E) 의 농도 변화

Immunoglobulin E(Ig E) 농도는 대조군에 비해 화상대조군과 레이저치료군 전체에서 약간 상승되었으나, 화상대조군에 비해서는 레이저치료군 모두는 감소되었다. 특히 화상대조군에 비하여 292 Hz 치료군은 유의하게 감소되었는데, 이는 Ig E가 주로 조직 allergy 반응시 나타나는 신체 과민성면역반응에 관여하는 면역물질이기 때문에 화상으로 인한 조직 내의 allergens의 증가로 화상대조군에서는 그 농도가 상승되었으나, 치료군에서는 레이저 조사의 영향으로 대조군에 가깝게 혈중농도가 감소되었을 것으로 여겨진다(Fig 3).

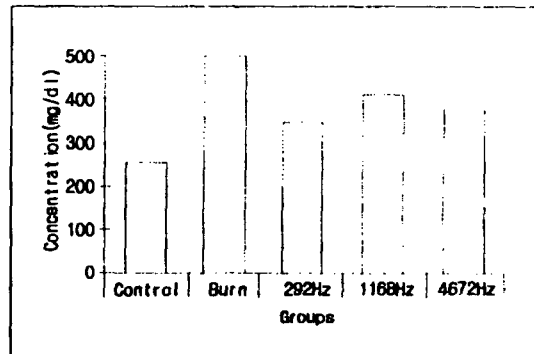


Fig 3. The Changes of the Serum Immunoglobulin E Concentration on the Treatment the Wavelengths of He-Ne IR Laser for 7Days

IV. 고 찰

화상을 입은 환자나 동물에서는 면역반응이 저하되어 있으며, 그 중에서도 세포성 면역능이 심하게 억제되는 것으로 알려져 있다(Munster, 1976). 이와 같은 면역능의 억제는 감염에 매우 중요한 요인으로 보고되고 있다. 특히 화상에서 다양한 면역기능의 감소를 보강시킬 수 있는 치료나 재채를 제공함으로써 억제된 면역기능을 회복시킬 수 있으며 화상으로 발생되는 패혈증 및 사망률을 줄이는데 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

Han 등(1991)은 림프구가 채액성 면역과 세포성 면역에 중요한 매개체로서 화상 후 그 수적 기능 변화를 측정하는 것은 억제된 면역기전을 이해하는데 가장 중요하

고 간단한 방법이라고 보고하고 있다. Casson 등(1996)도 화상 입은 흰쥐의 흉관에서 채취한 림프구가 일시적으로 감소한다고 보고하였다. Han 등(1991)은 화상 후 10일내에 T-세포의 현저한 감소와 기능저하를 보고하였고, 화상과 외상을 입힌 생쥐의 말초혈액 림프구 수의 변화를 관찰한 결과 외상군에 비해 화상군에서 더 오랫동안 림프구의 수적 감소와 더불어 비장의 비대가 나타났다고 보고하였다. 또한 화상쥐에서 림프구 수는 화상 1일부터 감소하여 3일째에 현저하게 감소하였으며, 7일째부터 회복하기 시작하였으나 전반적으로 감소되었다고 하였다.

한편 화상 치유 과정에 있어서 레이저 사용은, Maiman(1960)이 694nm의 루비 레이저를 처음 개발한 이래 Towines(1962)에 가 의학과 생물학 분야에서 레이저를 사용하였으며, 1970년대에 이르러 레이저 효과에 관한 동물실험을 통한 연구가 시작되었고, Karu 등(1984)은 레이저가 세포내 ATP 합성을, Lee와 Ko(1989), 그리고 Pallikaris 등(1993)은 토끼의 상처 치유에 대한 임상실험, Basford 등(1986)과 Rezvani 등(1992)은 돼지 피부에, Kotan 등(1992)과 Nassbaum 등(1994)은 레이저가 흰쥐에 있어서 상처 치유 효과가 있었다고 보고하였다.

이러한 레이저의 생체내 작용기전으로는 histamine, serotonin, acetylcholine 등의 분비를 조절하여 만성통증 감소를 가져오고 미토콘드리아 내의 ATP 생성을 증가시키며, 세포분열을 촉진하고, 세포막의 전위를 안정시키며, 세포막을 통한 물질의 투과성을 변화시켜 세포 활동을 정상화하고 평형을 유지하는 효과 등이 있다고 보고하였다(Rochkind 등, 1989).

본 실험에서 Ig G가 대조군에 비해 모든 실험군들에서 유의하게 증가한 것과 화상대조군에 비해 레이저치료군들에서 유의한 감소를 나타내 대조군에 가까운 농도를 유지하고 있는 것, 그리고 Ig M이 대조군이나 화상대조군에 비해 모든 레이저치료군들에서 유의성 있게 증가하고, 주파수의 빈도가 낮은 레이저 치료에 비해 주파수가 높은 1168Hz이나 4672Hz에서 유의하게 농도가 상승된 것은 화상으로 인한 염증반응의 만성적인 피사·궤양 단계에서 처리해야 할 항원들에 대한 면역반응에 촉진적으로 작용한 결과라고 생각된다. 특히 Ig E가 주로 조직 allergy 반응 시 나타나는 신체 과민성면역반응에 관여하는 면역물질이기 때문에 화상으로 인한 조직 내의 allergens의 증가로 화상대조군에서는 그 농도가 상승되

었으나, 치료군에서는 레이저 조사의 영향으로 대조군에 가깝게 혈중농도가 감소되었을 것으로 사료된다.

V. 결 론

저에너지 레이저의 효과를 알아보기 위하여 흰쥐에 3도 화상을 유발시켜 He-Ne IR 레이저로 1일 5분씩 7일 동안 조사하여 파장에 따른 immunoglobulin 농도변화를 비교·분석하여 얻은 결론은 다음과 같다.

1. Ig G는 화상대조군에 비해 모든 레이저치료군들에서 유의하게 감소하였으나 292Hz와 4672Hz 파장에 비해 1168Hz 파장에서 유의하게 증가되었다.
2. Ig M은 화상대조군에 비해 모든 레이저치료군들에서 유의하게 증가되었으며, 파장 빈도가 증가될수록 유의하게 증가하였다.
3. Ig E는 화상대조군에 비해 292Hz 치료군에서 유의하게 감소되었다.

상기와 같은 결과로 미루어 볼 때 저에너지 레이저의 파장에 따른 효과는 화상치유 활성에 관여할 수 있는 혈청내 immunoglobulin 농도 변화에 영향을 주는 것으로 생각된다.

< 참고 문헌 >

- Ann SY : Effects of low-power laser and TDP on the cutaneous wound healing. D. thesis of the department of biology graduate school, Catholic university of Taegu, 1997.
- Basford JR, Hallman PM, Sheffield CG, Mackey GL : Comparison of cold-quartz ultraviolet, low-energy laser, and occlusion in wound healing in a swine model. Arch. Phys. Med. Rehabi., 67: 151-154, 1986.
- Casson P, Soloway AC, Converse JM, Rapaport FT : Delayed hypersensitivity status of burned patients. Cited from Wood GW, Volence FT, Man MM and Humphrey LJ, Clin. Exp. Immunol., 31: 291-298, 1966.
- Goldman L : Effects of new laser systems on the skin. Arch. Dermatol., 108: 385-390, 1996

- Han Ki Taek, et al : Changes of immune response by immune modulators in burn injury rats. 대한정형외과학회지, 18: 5-13, 1991.
- Hershman MH, Sonnenfeld G, Logan WA, Pietsch JD, Wellhausen SR, Polk HC : Effect of interferon treatment on the course of a burn wound infection. J. Interferon Research, 8:367-373, 1988.
- Johnson HM, Smith BG, Baron S : Inhibition of the primary in vitro antibody response by interferon preparations. J. Immunol., 114: 403, 1975.
- Kana JS, Hutschenreiter G, Haina D, Waidelich W : Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. Arch. Surg., 116: 293-296, 1981.
- Karu TI, Kalendo GS, Lobko VV, Pyatibrat LV : Kinetics of tumor HeLa cells growth under subcutivation after irradiation by low intensity red light at the stationary growth phase. Experimental Oncol., 6-1: 60-63, 1984.
- Keeling P, Winchurch RA, Munster AM : Immunomodulation in major burns : an in vitro system for assaying the effect of modulators. J. Trauma, 830-837, 1980.
- Kotani HS, Kasai, Sawa M, Mito M : Effects of low power laser stimulation on delayed wound healing in rats. 3rd world congress international society for low power laserapplication in medicine, Bologna Italy, 92: 9-12, 1992.
- Lee KM, Han YK : Studies on wound healing effects of human plasma ultraviolet and lowenergy GaAlAs laser. J. Kor. Acad. Rehab. Med., 13: 110-115, 1989.
- Lievens PC : The effect of I.R. laser irradiation on the vasomotricity of the lymphatic system. Laser in Medical Science, 6: 189-191, 1991.
- Munster AM : Post-traumatic immunosuppression is due to activation of suppressor T-cells. Lancet : I: 1329-1334, 1976.
- McIrvine AJ, O' Mahony JB, Saporoschetz I, Mannick JA : Depressed immune response in burn patients. Ann. Surg., 196: 297, 1982.
- Ninnemann JL, Fisher JC, Frank HA : Prolonged survival of human skin allografts following thermal injury. Transplantation, 25: 69-75, 1978.
- Nussbaum EL, Biemann I, Mustard B : Comparison of ultrasound/ultraviolet-C and laser for treatment of pressure ulcers in patients with spinal cord injury. Phys. Therapy, 74: 812-825, 1994.
- Pallikaris IG, Tslimbaris MK, Liaki OE, Naoumide II, Geogiades A, Panagopoulos IA : Effectiveness of corneal neovascularization photothrombosis using photothermalcyamin and a diode laser(675 nm). Laser Surg. Med., 13: 197-203, 1993.
- Rapaport FT, Converse JM, Horn L, Ballantype DL, Mulholland JH : Altered reactivity of skin homografts in severe thermal injury. Ann. Surg., 159: 390-396, 1964.
- Rezvani M, Nissan M, Hopewell JW : Prevention of X-ray-induced late dermal necrosis in the pig by treatment with multi-wavelength light. Laser Surg. and Med., 12: 288-293, 1992.
- Rochkind S, Rousso M, Villarreal M, Barr-Nea L, Rees G : Systemic effect of low-power Laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. Lasers Surg. and Med., 92: 174-182, 1989.
- Xi-Ming G, Tsi-siang S, Chin-Chun Y, Wei-Shia H : Changes in lymphocytes response to phytohemagglutinin and serum immunosuppressive activity after thermal injury. Burns, 10: 86-93, 1983.
- Yoon JH, Moon HB : The effects of macrophage on the wound healing delayed by immunosuppression. J. Surg., 46(1): 10-21, 1994.