

치료 방사선량이 쥐의 난포 퇴축에 미치는 영향

이원정*, 선종률†, 유세중‡, 안봉선‡

*근로복지공단 직업성폐질환연구소, †대전보건대학교 방사선과, ‡건양대학교병원 영상의학과

2012년 11월 8일 접수 / 2012년 12월 5일 1차 수정 / 2012년 12월 11일 2차 수정 / 2012년 12월 12일 채택

쥐의 난포를 대상으로 한 연구는 대부분 임상에서 암 치료에 사용되는 선량보다 높은 선량이 사용되어 왔다. 본 연구에서는 암 치료에 사용되는 단일조사 방사선 선량이 쥐의 난포 퇴축에 미치는 영향에 대해 알아보고자 하였다. 본 연구에는 4 주령의 흰쥐(Sprague-Dawley계통)를 실험 동물로 사용하였다. 방사선을 조사하지 않은 대조군, 2 cGy 조사군, 2 Gy 조사군으로 나누어 방사선을 4 Gy min⁻¹ 선량으로 조사하였다. 이때 사용된 방사선속은 6 MV-X선 (Mevatron 67, Siemens, Germany)을 사용하였으며, 조사 면적은 30×30 cm, SSD (source-surface-distance)는 100 cm 거리에서 배측 방향으로 난소를 향해 단일 전신조사하였다. 2 cGy군과 2 Gy군은 조사 24 시간 후에 경추 탈구사 시킨 후 회복하고, 생리적 식염수 내에서 난소를 적출하였다. 방사선에 의한 난포의 형태학적인 변화와 난포의 발육단계 정도를 파악하기 위해 H & E 염색을 실시하였다. 난포의 폐쇄가 진행되면서 나타나는 난포 과립세포의 세포고사 정도를 면역조직화학적으로 관찰하기 위해 절편화된 DNA를 염색할 수 있는 TUNEL 염색을 실시하였다. SPSSWIN (ver.19.0)프로그램을 이용하여, 전체난포에 대한 폐쇄된 난포의 비율과 난포의 각 발육단계에서 전체난포 중 폐쇄가 일어나지 않은 정상난포의 비율을 구하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 비모수검정의 Mann Whitney 테스트를 이용하여 비교하였다. 전체난포에 대한 퇴축난포의 비율이 2 Gy군은 대조군(p=0.011)과 2 cGy군(p=0.025) 보다 통계학적으로 유의하게 높았다. 난포동형성전 난포에서는 2 Gy군이 대조군 보다 유의하게 낮은 정상난포의 비율을 보였다 (64.0 vs. 87.7, p=0.027). 난포동 난포에서는 2 cGy군이 대조군과(53.4 vs. 39.8, p=0.020) 2 Gy군(vs. 33.9, p=0.053) 보다 정상난포의 비율이 유의하게 증가하였고, 2 Gy군이 대조군 보다 낮은 정상난포 비율(33.9 vs. 39.8, p=0.522)을 보였다. 임상에서 암 치료에 사용되는 2 Gy의 단일조사 방사선 선량은 쥐의 난포 퇴축에 유의한 영향을 미쳤다.

중심어 : 방사선 치료, 난포 퇴축, 방사선 선량

1. 서론

인체를 구성하고 있는 조직과 세포는 종류에 따라 방사선 감수성이 다르고[1], 특히 생식세포는 민감도가 높은 것으로 알려져 있다[2]. 생식세포에 대한 방사선의 영향은 주로 실험동물의 난포를 대상으로 많은 연구가 이루어지고 있다[3-7]. 난포의 퇴축(atresia of ovarian follicle)은 난포가 발육하는 단계에서 일어나는 자연스러운 과정이지만[8] 방사선에 의해서 난포 퇴축과정은 가속화될 수 있고 발육단계에 따라 미치는 영향도 다른 것으로 보고된 바 있다[4,5].

방사선 노출은 기형을 유발시키고[9], 방사선 노출에 대한 위해성은 역치 선량 없이 선형적인 비례관계(linear no-threshold theory)가 정설로 여겨지는 만큼[10], 암 치료를 위한 높은 방사선 선량[11]은 체내 세포에 급성적인 영향[12]과 피로(fatigue)와 위식도염(oesophagitis) 등의 신체적 증상[13,14]을 가져올 수 있다.

지금까지 난포를 대상으로 한 연구 결과는 대부분 임상에서 암 치료에 사용되는 선량보다 높은 선량이 사용되어[3,5,6], 실제 임상에서 암 치료를 위한 방사선 선량이 난포에 어느 정도의 영향을 미치는지는 알 수 없었다.

따라서, 본 연구에서는 임상에서 암 치료에 이용되는 방사선 선량이 난포 퇴축에 미치는 영향을 실험동물을 통하여 알아보았다.

2. 대상과 방법

2.1 연구대상

본 실험에서는 생후 3 주령의 흰쥐 암컷(Sprague-Dawley 계통, 대전 소재 한국화학연구소)을 구입한 후, 동물사육장에서 온도 20±2℃, 습도 60±10% 로 일정하게 유지된 환경에서 일반식이(삼양사료주식회사 제품)와 충분한 양의 수돗물을 공급하면서 임신이 가능한 4 주령이 될 때까지 사육하여 실험동물로 사용하였다.

책임저자 : 이원정, atomlwj@daum.net

경기도 안산시 상록구 구룡로 87번지 근로복지공단 직업성폐질환연구소 임상연구부

2.2 방사선 조사

실험군은 방사선을 조사하지 않은 군(이하 대조군, 4 마리), 2 cGy 조사군(이하 2 cGy군, 5 마리), 2 Gy 조사군(이하 2 Gy군, 5 마리)으로 분류하였다. 대조군을 제외한 2 실험군을 각각 폴리우레탄 박스 내에 가두고 4 주령이 시작되는 날 치료방사선과에서 방사선을 4 Gy min⁻¹ 선량으로 조사하였다. 이때 사용된 방사선속은 6 MV-X선 (Mevatron 67, Siemens, Germany)을 사용하였으며, 조사 면적은 30×30 cm, SSD (source-surface-distance)는 100 cm 거리에서 배측 방향으로 난소를 향해 단일 전신 조사하였다. 사용된 6 MV-X선은 피하 1.5 cm 깊이에서 최대선량이 형성된다. 방사선량의 결정은 보고된 문헌을 참고로 2 cGy [15]와 암 치료에 단일조사 선량으로 사용되는 2 Gy [11]로 정하였다.

2.3 광학현미경적 관찰

대조군과 방사선을 조사한 2 cGy군과 2 Gy군은 조사 24 시간 후에 경추 탈구사 시킨 후 회복하고 생리적 식염수 내에서 난소를 적출하였다. 광학현미경적으로 관찰하기 위해 적출된 난소를 10% 중성 포르말린 용액에 24 시간 고정된 후, 통상적인 방법에 따라 파라핀 포매를 하고 5 μm 두께로 박절하여 슬라이드를 제작하였다. 방사선에 의한 난포의 형태학적인 변화와 난포의 발육단계 정도를 파악하기 위해 H & E (staining with hematoxylin and eosin) 염색을 실시하였다.

2.4 면역조직화학적 관찰

난포의 폐쇄가 진행되면서 나타나는 난포 과립세포의 세포고사 정도를 면역조직화학적으로 관찰하기 위해 절편화된 DNA를 염색할 수 있는 TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase biotin-dUTP nick end labeling) 염색을 실시하였다. TUNEL 염색은 5 μm 두께로 박절한 조직절편을 silanized coating slide (DAKO Corporation, USA) 위에 부착시켜 슬라이드를 제작하고 탈파라핀 후 ApopTag kit (Intergen Co., USA)를 사용하여 실시하였다. 파라핀이 제거된 조직절편을 0.05 M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) 용액으로 5 분간 수세한 다음 proteinase K (20 μg ml⁻¹ in 0.05 M PBS) 로 실온에서 25-30 분간 반응시킨 후 증류수로 2 분간 3 회 수세하여 핵산을 둘러싸고 있는 단백질을 제거하였다.

또한 내재성 peroxidase의 활성 제거를 위해 2% H₂O₂ 액에 30 분간 반응시킨 다음 0.05 M PBS용액으로 5 분간 2회 세척하고 equilibration buffer에 10분간 반응시켜 주변부에서 일어날 수 있는 비특이적 반응을 억제하였다. 이후 reaction buffer 77 μl와 terminal deoxynucleotidyl transferase(TdT) 33 μl를 혼합하여 working strength TdT(110 μl/slide)를 만든 후, 조직절편에 떨어뜨린 다음 커버글라스(cover glass)를 덮고 37℃ humidified chamber에서 1시간 동안 반응시켰다. 이들 조직은 37℃로 데운 working strength stop/wash buffer에 10 분간 실온에서 반응시켰다. 이후 0.05 M PBS용액으로 5 분간 3회 세척하고 anti-digoxigenin-peroxidase를 실온의 humidified chamber에서 5시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 조직절편은 0.05 M PBS용액으로 5분간 3회 세척 후 0.05 % diamino-benzidine(DAB)에 0.3 % H₂O₂를 첨가하여 20 분간 실온에서 발색시켰으며, 0.1 M sodium acetate buffer solution으로 0.5 % methylgreen(pH 4.0) 을 만들어 10 분간 실온에서 대조염색을 하였다. 염색이 끝난 조직절편은 수세 후 100% ethanol로 탈수하고 xylene 처리한 다음 permanent mounting media(DAKO Corporation, USA)로 봉입하였다.

2.5 관찰 방법

본 실험에서 얻은 H & E 염색 슬라이드에서는 난포의 형태학적 변화와 발육단계를, TUNEL 염색 슬라이드에서는 난포의 폐쇄와 과립세포의 세포고사(apoptosis) 정도를 광학현미경(Nikon Eclipse E600, Digital Sight-UI)하에서 영상을 촬영한 후 컴퓨터 모니터에 투사하여 경시적으로 관찰하였다. 난포의 발육단계는 일차 난포(primary follicle), 이차 난포(secondary follicle)는 다시 난포방형성전 난포(preantral follicle), 난포방 난포(antral follicle)로 분류[16]하여 관찰하였다(Table 1). 폐쇄난포(atretic follicle)는 난모세포만 세포고사체를 형성하고 과립세포는 온전한 상태의 난포, 하나 이상의 과립세포에서 세포고사체가 형성되고 비교적 온전한 난모세포막을 가지는 난포, 난모세포와 과립세포에서 세포고사체를 형성하는 난포 등의 세 가지로 나눌 수 있다[4]. 본 연구에서는 세 가지의 경우에 해당하는 모든 난포를 폐쇄가 진행중인 것으로 보고 결과를 산출하였다. 일차 난포와 난포방형성전 난포와 난포방 난포를 현미경 관찰 비율 100배, 200배,

Table 1. Classification of Developmental Stage of the Follicles in Rat Ovary.

Stage	Characteristics
Primary	Below two to three layers of cuboidal to columnar follicle cells. As maturation progresses, the oocyte enlarges.
Preantral	Several(above three to five) concentric layers of granulosa cells surround the oocyte. Antrum is not formed. Theca interna layer is not yet apparent. Zona pellucida is appeared, encasing the oocyte.
Antral	Antrum is formed. Oocyte within cumulus oophorus projects into antrum. The theca layers are well developed. The wall of a antral follicle has three layers of cells 1) Avascular epithelioid granulosa layer adjacent to the antrum. 2) Vascularized theca interna layer separated from the granulosa layer by a thin basement membrane(not seen) 3) Outer theca externa layer composed of smaller flattened stromal cells.

Table 2. Criteria for Identification of Normal and Atretic Follicles in Rat Ovary.

	Normal follicles	Atretic follicles
Granulosa cells	No apoptotic body	Apoptotic body, one or more
Germinal vesicle	Round and clear	Irregular, absent
Basement membrane	Regular, undulating	Irregular
Antrum(in antral follicle)	Clear	Numerous cell

Table 3. Comparison in Ratio of Atretic Follicle to Total Follicle among Groups.

Group	Follicle			Ratio(%) [*]
	Total	Normal	Atretic	
Control	49.7(13.5)	32.5(8.3)	17.1(5.7)	34.2(4.8)
2 cGy	62.3(3.5)	41.3(2.0)	21.0(3.4)	33.5(4.2) [†]
2 Gy	53.0(5.9)	27.6(3.5)	25.4(5.4)	47.6(6.5) [‡]

Data are presented as mean (standard deviation). ^{*}Ratio of atretic follicle to the total follicle. Statistical analysis was performed by the Mann Whitney test: [†]Significantly different from 2Gy group(p = 0.025); [‡]Significantly different from control group (p = 0.011).

400 배 그리고 1,000 배의 시야에서 정상난포와 폐쇄과정에 있는 난포를 Table 2의 분류 기준에 따라 구분하여 관찰하였다[17].

2.6 분석방법

본 실험에서는 측정된 계측치들을 SPSSWIN(ver.19.0) 프로그램을 이용하여, 전체난포에 대한 폐쇄된 난포의 비율과 난포의 각 발육단계에서 전체난포 중 폐쇄가 일어나지 않은 정상난포의 비율을 구하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 대조군, 2 cGy군과 2 Gy군 간에는 비모수검정의 Mann Whitney 테스트를 이용하여 비교하였다. 모든 분석은 95% 신뢰 수준(유의 수준 0.05)에서 P값이 0.1보다 작을 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

3. 결과

3.1 전체난포 중 퇴축난포 빈도

각 실험군의 전체난포 수는 대조군 49.7, 2 cGy군 62.3, 2 Gy군 53.0 으로 관찰되었다(Table 3). 전체난포에 대한 퇴축난포의 비율은 대조군 34.2%, 2 cGy군 33.5%, 그리고 2 Gy군 47.6% 이었다. 전체난포에 대한 퇴축난포의 비율은 대조군과 2 cGy군 간에는 비슷한 결과를 보였지만(34.2 vs. 33.5, p=0.897), 2 Gy군은 대조군(p=0.011)과 2 cGy군(p=0.025) 보다 퇴축난포의 비율이 통계학적으로 유의하게 높았다.

3.2 난포의 발육단계에 따른 정상난포의 빈도

난포의 각 발육단계에서 전체난포에 대한 정상난포의 비율을 Fig. 1.에서 보여주고 있다. 모든 실험군에서 난포의 발육단계가 성숙할수록 정상난포의 비율이 감소하는 경향을 보였고, 일차 난포에서는 모든 군 간에 정상난포 비율이 유의한 차이를 보이지 않았다(p>0.05). 난포동형성전 난포에서는 2 Gy군이 대조군 보다 유의하게 낮은

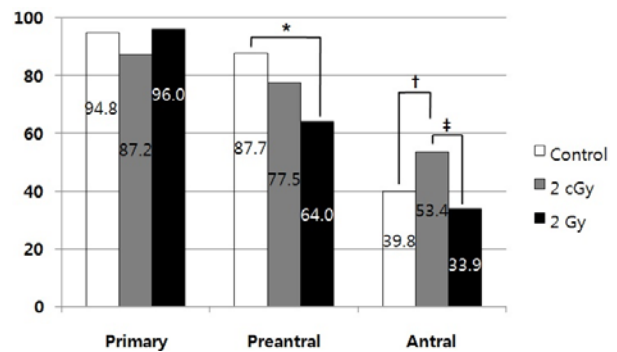


Fig. 1. This graph shows that ratio of normal to total follicles in each stage of developmental follicle (^{*}p=0.027; [†]p=0.020; [‡]p=0.053).

정상난포의 비율을 보였다(64.0 vs. 87.7, p=0.027). 난포동 난포에서는 2 cGy군이 대조군과(53.4 vs. 39.8, p=0.020) 2 Gy군(53.4 vs. 33.9, p=0.053) 보다 정상난포의 비율이 유의하게 증가하였고, 2 Gy군이 대조군 보다 낮은 정상난포 비율(33.9 vs. 39.8, p=0.522)을 보였다.

4. 고찰 및 결론

암 치료에 사용되는 방사선 선량은 암의 종류와 위치에 따라 여러 번의 분할 치료가 이루어지고, 1.8-3 Gy의 높은 단일조사 선량이 사용[11] 되기 때문에 세포에 급성적인 영향을 미치고[12], 식도염[14]이나 피로[13] 등의 부작용을 가져올 수 있다. 또한, 유전과 관련 있는 생식세포에 대한 방사선의 유의한 영향도 동물 실험을 통해 밝혀졌다[3,5,6].

방사선으로부터 난포 퇴축에 대한 이전의 연구와 우리 연구의 다른 점은 이전 연구들은 방사선에 의한 난포 퇴축의 확실한 결과를 얻기 위해 4-8 Gy 고선량을 사용했지만[3,5,6], 우리 연구에서는 임상에서 암 치료를 위해 단일조사 선량으로 사용하는 2 Gy 선량으로부터 난포의 퇴

축이 유의하게 일어났다.

김수일 등[5]의 연구결과에서 4 Gy와 8 Gy 선량 간에 퇴축난포 비율이 유의한 차이를 보이지 않았으나, 본 연구결과에서는 전체난포에 대한 퇴축난포의 비율이 2 cGy 군 보다 2 Gy군에서 유의하게 높게 나타났다. 이와 같이 두 연구에서 다른 결과를 보인 것은 임계 선량 이전까지는 방사선 선량과 난포 퇴축이 유의한 선형적인 관계가 있지만 어느 정도 이상의 고선량에 대해서는 방사선에 의한 난포 퇴축에 대한 영향은 적어지고 자연적인 퇴축에 의한 결과로 여겨진다.

포유동물의 난소에 존재하는 일차난포, 이차난포(난포 동형성전 난포, 난포동난포) 등 모든 난포는 성숙난포로 성장하면서 배란되지 않는 난포는 퇴축을 하게 된다[8]. 본 연구결과에서 난포동형성전 난포에서는 2 Gy군의 정상난포 비율이 대조군 보다 유의하게 낮게 나타났지만, 난포동 난포에서는 두 군 간에 정상난포의 비율이 유의한 차이를 보이지 않았다. 이와 같은 결과는 난포는 성숙할수록 방사선에 대한 저항성이 증가되기 때문이다[5,6]. 난포동 난포에서 2 cGy군이 대조군 보다 오히려 정상난포의 비율이 유의하게 증가한 것은 호르몬시스 효과의 영향 [15]으로 추측할 수 있지만 명확한 규명을 위해서는 추가적인 연구가 필요하다. 일차난포는 난소의 안쪽에 깊숙이 위치하고 난포가 발육하면서 난포동형성전 난포와 난포동 난포는 표면으로 나온다[8]. 본 연구결과와 일차난포에서 모든 실험군 간에 정상난포 비율이 큰 차이가 없었던 것은 난소 깊숙이 위치한 일차난포는 방사선에 의한 영향이 적었기 때문으로 생각할 수 있다. 모든 실험군에서 난포의 발육단계가 성숙할수록 정상난포의 비율이 감소하는 경향을 보였다. 방사선이 조사되지 않은 대조군에서도 난포가 성숙할수록 정상난포 비율이 감소하는 본 연구결과와 이전의 연구결과를 참조했을 때[3,5,6], 2 cGy군과 2 Gy군에서는 자연적인 퇴축과정에 방사선에 의한 영향이 퇴축과정을 가속화 시킨 것으로 보인다.

난포가 방사선에 노출된 후 퇴축 양상을 알아본 송근일 등[6]의 연구결과에서 8 Gy 방사선 조사 후 6 시간에 모든 난포 발육단계에서 난포 퇴축이 대조군에 비해 급격히 증가하였으나, 12 시간과 24 시간 후에는 점점 감소하여 정상난포 비율이 높아졌다. 이와 같은 결과는 김수일 등[5]의 4 Gy와 8 Gy 조사에서도 같은 결과를 보여 방사선에 의해 퇴축된 난포는 고사된 과립층 세포가 시간이 지남에 따라 방사선에 대한 저항성으로 다시 회복되는 것으로 나타났다. 우리 연구는 방사선 조사 후 24 시간 후에 관찰했기 때문에 방사선에 의해 퇴축된 난포가 어느 정도 회복된 결과로 생각된다.

본 연구결과로부터 난포의 퇴축에 관여하는 인자와 기전을 알 수는 없었지만, 인히빈(inhibin)과 대식세포가 난포 퇴축에 관여하고[7], 난포가 발육하는 과정에서 자연적인 난포 퇴축[7] 뿐만 아니라 방사선에 의한 난포 퇴축 [5,6]도 과립세포(granulosa cells)의 고사(apoptosis)로부터 시작되는 것으로 밝혀졌다.

본 연구는 다음과 같은 일부 제한점이 있었다. 첫째, 같은 실험군내에서도 실험동물 간에 방사선에 의한 정상

또는 퇴축난포 비율의 차이가 나타나 실험동물 각각의 감수성 등에 의한 영향을 배제할 수 없다. 둘째, 본 연구에서 사용된 선량은 암 치료를 위한 단일조사 선량으로 실제 임상에서는 여러 차례 분할 방사선 조사가 이루어지고 있어 향후에는 분할조사 선량이 난포에 미치는 영향을 연구할 필요가 있다.

위와 같이 본 연구는 일부 제한점이 있었지만, 임상에서 암 치료에 사용되는 2 Gy의 단일조사 방사선 선량은 쥐의 난포 퇴축에 유의한 영향을 미쳤다.

참고문헌

1. 고성진, 김광욱, 김현수, 김홍태, 박영선, 박영순, 박종배, 박철수, 이규수, 이덕규, 이상석, 이원정, 이준행, 임재동, 정문택, 조영호, 조경근, 지태정, 최준구. 방사선 생물학; 생물학적 단계. 서울; 정문각. 2011;75-202.
2. Erickson BH. Effects of ionizing radiation and chemical on mammalian reproduction. *Ver. Hum. Toxicol.* 1985;27(1):409-416.
3. Kim JK, Lee CJ, Song KW, Do BR, Yoon YD. Gamma-radiation accelerates ovarian follicular atresia in immature mice. *In Vivo.* 1999;13(1):21-24.
4. Lee CJ, Park HH, Do BR, Yoon Y, Kim JK. Natural and radiation-induced degeneration of primordial and primary follicles in mouse ovary. *Anim. Reprod. Sci.* 2000;59(1):109-117.
5. 김수일, 허대영, 이영호, 조문준, 김무강, 김원식. 방사선 조사에 의한 흰쥐 난포의 퇴축과 난포세포의 방사선 감수성. *충남의대잡지.* 2002;29(1): 1-17.
6. 송근일, 노홍태, 이윤이, 손성경, 김원식, 김수일. 방사선에 의한 난포 퇴축과 난포 대식세포에 관한 형태학적 연구. *대한산부회지.* 2004;47(1): 1940-1948.
7. Kim SS, Lee CJ, Yoon HT, Yoon YD. Expression of inhibin in the whole-body r-irradiated mouse ovary. *Kor. J. Fertil. Steril.* 2006;33(1):35-43.
8. McGee EA, Hsueh AJ. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr. Rev.* 2000;21(2):200-214.
9. 이원정, 한승로, 정옥, 김수일, 조문준, 김원식. 방사선 조사로 유도된 흰쥐태자의 선천성 기형 분석. *대한체질인류학회지.* 2001;14(2):159-168.
10. Mossman KL. The LNT Debate in Radiation Protection: Science vs. Policy. *Dose. Response.* 2012;10(2):190-202.
11. 윤원섭, 양대식, 김철용. 고령의 비소세포성폐암 환자의 방사선 및 병용치료에 대한 효과 평가. *대한방사선종양학회지.* 2007;25(2):101-108.
12. Jun HJ, Kim YM, Park SY, Park JS, Lee EJ, Choi SA, Pyo H. Modulation of ionizing radiation-induced G2 arrest by cyclooxygenase-2 and its inhibitor celecoxib. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2009;75(1):225-234.

13. Brown WT, Wu X, Wen BC, Fowler JF, Fayad F, Amendola BE, García S, De La Zerda A, Huang Z, Schwade JG. Early results of CyberKnife image-guided robotic stereotactic radiosurgery for treatment of lung tumors. *Comput. Aided. Surg.* 2007; 12(5):253-261.
14. De Ruysscher D, Van Meerbeeck J, Vandecasteele K, Oberije C, Pijls M, Dingemans AM, Reymen B, van Baardwijk A, Wanders R, Lammering G, Lambin P, De Neve W. Radiation-induced oesophagitis in lung cancer patients. Is susceptibility for neutropenia a risk factor? *Strahlenther. Onkol.* 2012;188(7):564-567.
15. Macklis RM, Bresford B. Radiation hormesis. *J. Nucl. Med.* 1991;32(1):350-359.
16. Fukumatsu Y, Katabuchi H, Naito M, Takeya M, Takahashi K, Okamura H. Effect of macrophage on proliferation of granulosa cells in the ovary in rats. *J. Reprod. Fert.* 1992;96(1):241-249.
17. Hofmann GE, Scott RT, Brzyski RG, Jones HW. Immunoreactive epidermal growth factor concentrations in follicular fluid obtained from in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 1990;54(2):303-307.

Effect of Radiation Dose for Radiotherapy on Ovarian Follicle Atresia in Rat

Won-Jeong Lee*, Jong-Ryul Seon†, Se-Jong Yoo‡, and Bong-Seon Ahn†

*Occupational Lung Diseases Institute, KCOMWEL,

†Department of Radiological Technology, Daejeon Health Science College,

‡Department of Diagnostic Radiology, Konyang University Hospital

Abstract - In previous studies, ovarian follicle in rat has been used a higher radiation dose than that for cancer radiotherapy in clinical practice. The aim of this study was to evaluate the effect of radiation dose used for cancer radiotherapy on ovarian follicle atresia in rat. Mice of 4-week-old female were whole body irradiated with 2 cGy or 2 Gy (Mevatron 67, Siemens, Germany) and sacrificed by cervical dislocation. Ovaries were collected at 24 hours after irradiation to observe the degree of follicular atresia. Ovaries were fixed in neutral formaldehyde solution for 24 hours and embedded with paraffin. Cutted in 5 μ m thickness with microtome and stained with hematoxylin and eosin (H&E) and TUNEL immunohistochemical stain, and examined histologically under a light microscope. All data were presented as mean \pm SD, calculating the ratio of normal or atretic follicles to total ovarian follicles. Statistical analysis was performed by the Mann Whitney test using the SPSS ver 19.0. Ratio of atretic to total follicles of 2 Gy group was significantly higher than control or 2 cGy groups ($p < 0.05$). Ratio of normal to total follicles of 2 Gy group was significantly lower than control group in preantral follicle (64.0 vs. 87.7, $p = 0.027$). Ratio of normal to total follicles of 2 cGy group was significantly increased more than control or 2 Gy groups in antral follicle, and there were no significant difference between control and 2 Gy groups ($p = 0.522$). Radiation dose of 2 Gy for cancer radiotherapy have a significant effect on ovarian follicle atresia in rat.

Keywords : Radiotherapy, Ovarian follicle atresia, Radiation dose