

The Radioprotection Effect of Aronia on Livers of Laboratory Rats Radiated to 6 MV X-ray of Linear Accelerator

Jun-Haeng Lee

Department of Radiology of Nambu University

Received: February 14, 2020. Revised: March 13, 2020. Accepted: April 30, 2020

ABSTRACT

This aimed at figuring out if there were the radioprotection effects of aronia on livers of laboratory rats radiated through serum test.

For the objects of animal testing, one group consists of five male laboratory rats (weight 200~250 g), and the groups were set as follows: Group 1, normal; Group 2, 5 Gy radiated control group; and Group 3, 5 Gy radiated experiment group with aronia. Group 1(A) was prescribed with ordinary meal without radiation while the control group, Group 2(B) was prescribed with ordinary meal and radiation, and the experiment group, Group 3(C) was orally prescribed with aronia (daily oral dosage: 100 mg/kg/day) diluted with distilled water at the amount of 50 mg/kg/day twice a week, using oral zonde needle for rats for 14 days before being radiated, and then, radiation were made on them. For the study, using Linac (Linear Accelerator) 6 MV X-ray therapy device, rats were irradiated on their whole bodies once, and their blood was sampled for conducting five blood serum tests with regard to liver. For statistical analysis, ANOVA test was conducted.

In conclusion, as a result of the analysis, it seemed that there were no the radioprotection effects of aronia on liver. However, it was confirmed statistically that ALB ($P>0.05$) showed no significance and that TP ($P<0.05$) showed significant differences. It is expected that there should be more tests in future.

Keywords: Linear Accelerator, Aronia, Radioprotection, Radiation

I. INTRODUCTION

방사선은 우주의 탄생과 함께 나타나서 바로 이 순간에도 우리 옆에 존재하지만, 보고 느끼고 만질 수도 없다는 특징을 지니고 있다. 1895년 엑스선이 발견된 이후 여러 과학자들이 끊임없이 노력한 결과 이제는 방사선의 본질과 특징과 종류까지 이해하게 되었다.^[1]

2011년 일본 후쿠시마 원전사고로 인해 방사능 오염 우려가 높아지면서 방사선방호물질이 주목받고 있다고 생각된다. 방사선방호제는 방사선증감제와는 반대효과, 즉 방사선에 의한 장애를 억제하는 효과가 있는 약제이다. 방사선 간접작용에 의해서

생체 내에 발생한 유리기를 배제하는 역할을 갖고 있다. 원래의 유리기는 SH기를 갖는 화합물과 반응하기 쉬운 것으로 알려져 있고, 시스테인과 시스테인아민이 먼저 방사선방호제로 개발되어 왔지만, 부작용이 강하고, 실용화에는 도달하지 못하고 있다.^[2]

방사선방호제(radioprotector)는 분자적 수준에서부터 개체적 수준에 이르기까지 넓은 범위에 걸쳐 인정되나 그 작용은 대부분의 경우 분자적 수준, 세포적 수준에서 각각 다르게 나타난다. 또한 방사선에 대한 방호효과를 나타내기 위해서는 모든 방호 물질이 피폭 시 생물체 내에 존재하여야만 되며, 일반적으로 조사 후에 방호제를 투여하면 방호효과가 나타나지 않는다.^[3]

* Corresponding Author: Jun-Haeng Lee

E-mail: jj1809@nambu.ac.kr

Tel:+82-62-970-0158

간의 방사선의 장해는 간 기능의 저하, 간 비대, 복수 등이 보이며, 이것은 간내에 울혈이나 혈전, 출혈이 일어나서 간세포가 위축하여 간 장해를 일으킨다.^[3]

간은 오른쪽 명치부위에 있는 무게 1 kg 정도의 장기로 피부를 제외하고 인체에서 가장 크다. 간의 기능은 당 대사, 단백질 대사, 지질 대사, 혈장 단백질합성, 비타민 호르몬 대사, 해독작용, 쓸개즙 생성 등으로 알려져 있다.^[4]

아로니아(Aronia melanocarpa)는 18세기경에 북아메리카 동유럽 등지에서 재배되던 다년생의 관목으로, 블랙초크베리(black chokeberry), 블랙베리(black berry)등으로 불린다.^[5] 아로니아는 안토시아닌 색소가 다량 함유되어 있어서 짙은 자주색을 나타내기 때문에 천연식품산업에 천연색소의 원료로서 광범위하게 사용되고 있으며,^[6] 다양한 안토시아닌 계열의 물질들과 폴리페놀 성분이 함유되어 있어 항산화 효능이 베리류 중에서 가장 높고, 동맥경화, 심혈관질환, 암, 당뇨병, 위염, 알러지성 피부질환 등에 대한 보호효과를 가지고 있다고 알려져 있다.^[7]

아로니아는 체르노빌 원자력발전소 폭발 사고에서 유일하게 살아남은 작물이라고 알려져 있다.^[8]

ko 동^[9]의 연구에서 "방사선 조사 및 Paraquat 투여를 한 생쥐 간에 대한 홍삼의 보호효과"의 관련된 논문을 제시한 바 있다.

이에 본 저자는 아로니아의 간에 관한 방사선방호효과의 국내 논문이 없는 실정이다. 그래서 본 연구의 필요성이 제기되었다.

따라서 본 연구의 목적은 방사선이 조사된 흰쥐의 간에서 아로니아의 방사선방호효과가 나타나는가를 혈청검사를 통하여 알아보려고 하였다.

도는 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도는 50~60%로 유지시켰으며, Stainless wire cover 플라스틱 cage 에서 오전 9시와 오후 9시를 기준으로 하여 12시간 명암주기로 하였다. 흰쥐는 사육장에 각 군별로 5 마리씩 사육하였고, 사료와 물은 자유롭게 공급하였다. 실험 전 7일 동안 순응기간을 걸쳐서 건강한 상태에서 실험을 실시하였으며, 사육장은 전남대학교 식품공학과 동물실험실을 이용하였다.

2. 시료

아로니아 분말가루는 (주)천지가약초에서 동결건조된 아로니아 분말가루(150g/pack)를 구입하였다. 구입한 분말가루들을 증류수 1L에 희석하여 사용하였다.

3. 방사선 조사

화순전남대학교병원 방사선종양학과 방사선치료실 Fig. 1과 같이 Linac(선형가속기) 6 MV X선 치료장치(LINAC 21 IX model, VARIAN IX USA, 2007)를 이용하여 흰쥐에 1회 전신조사를 하였다.

조사야는 균등한 조사야는 30 cm×30 cm로 하였으며, 선원과 피부면과 거리(SSD)는 100 cm로 설정하였고, 선량률은 500 cGy/min로 5 Gy를 전신조사하였다.



Fig. 1. Linear Accelerator.

II. MATERIAL AND METHODS

1. 실험동물

실험동물은 Sprague-Dawley(SD)계 Rat 6주령(체중 200~250 g) 수컷 15마리를 (주)샘타고 바이오코리아(경기도 오산)로부터 구입하였다. 사육실의 온

4. 실험장비

동물전용 자동혈액분석기(Automatic hema Analyzer for multi species Hemavet 950), 증류수 제조기

(MILLIPORE Milli-Q), 채혈용기, Chemistry는 (heparin Tube), Linac 6 MV X선 치료장치(CLINAC 21 IX model, VARIAN IX USA, 2007), 쥐용 경구투여 존대를 사용하였다.

5. 실험방법

실험동물은(체중 200~250 g) 수컷 흰쥐 5마리씩 1군(A)으로 정상군, 5 Gy 방사선대조군 2군(B), 5 Gy 방사선조사 아로니아 실험군은 3군(C)으로 설정하였다. 정상군 1군은 일반식이와 방사선조사를 실시하지 않고, 대조군 2군(B)은 일반식으로 하여 방사선조사를 하였고, 실험군 3군(C)은 방사선조사 전 14일 동안 아로니아에 증류수를 희석하여 경구투여량(100 mg/kg/day)로 1일 2회씩 아침과 저녁에 (50 mg/kg/day)로 각각 흰쥐에 14일 동안 쥐용 존대를 사용하여 경구투여 후 방사선조사를 실시하였고, 실험방법은 Table 1과 같다.

방사선조사 후 24시간 후에 혈액의 채취를 위해 Ether 마취 하였으며, 채혈은 Fig 2와 같이 개복하여 후대정맥에서 혈액을 채취 후 경추탈골로 희생시킨 다음에 분석시료로 사용하였다.



Fig. 2. Blood Collection of rats.

6. 실험의 검사 종류 및 혈액분석기

검사의 종류는 ALT, ALB, ALKP, TP, CHOL 등 5가지이며, 정확한 검사를 위해 채혈용기(EDTA tube)를 이용해서 Fig. 3과 같이 동물전용 자동혈액분석기(Automatic hema Analyzer for multispecies Hemavet 950)를 사용하여 분석하였다.



Fig. 3. Automatic hema Analyzer for multi species Hemavet 950.

7. 통계학적 분석

각 실험결과에 대한 통계처리는 평균 및 표준편차(Mean±S.D.)로 표시하였으며, 각 실험그룹 간의 유의성 검정은 SPSS 10.1 개인용 컴퓨터 통계프로그램을 통한 분산분석(ANOVA test)를 수행하였고, 통계적으로 유의성 검정은 유의수준 $P < 0.05$ 수준으로 검증하였다.

III. RESULT

본 실험을 통해 얻은 생화학적 검사는 5 Gy 방사선을 조사한 후 간(Liver)에서 방사선방호효과 회복 관련 지표를 확인하였다. 분산분석(ANOVA test)한 실험결과는 table 2와 Fig. 4-8과 같이 나타내었다.

1. ALT의 결과는 Fig. 4와 같이 방사선 단독조사군에 비교해서 아로니아를 투여한 군에서 간 기능 회복 효과는 통계적으로 유의성은 관찰하지 못했다.

2. ALB의 결과는 Fig. 5와 같이 방사선 단독조사군에 비교해서 아로니아를 투여한 군에 통계적으로 유의한 차이는 없었다(* $P > 0.05$).

3. ALKP의 결과는 Fig. 6과 같이 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

4. TP의 결과는 Fig. 7과 같이 방사선 단독조사군에 비교해서 아로니아를 투여한 군에서 유의한 차이가 있는 변화를 확인할 수 있었다(** $P < 0.05$).

5. CHOL의 결과는 Fig. 8과 같이 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

Table 1. Experimental method

Division	Normal groups (A)	Control groups (B)	Experimental groups (C)
Treatment	General food	General food+ radiation (5 Gy)	Aronia (100 mg/kg/day) + saline radiation(5 Gy)
Rats (number)	5	5	5

Group 1: Normal + General food

Group 2: Control + General food + was fed after 5Gy radiation.

Group 3: Experimental + oral administration of aronia (100 mg/kg/day) and saline for 14 day + 5Gy radiation.

Table 2. The effects of aronia on liver components after radiation irradiation

Division	ALT	*ALB	ALKP	**TP	CHOL
Group 1	22.8	3.8	595	6.4	75.4
Group 2	27.2	4	737	5.9	78.6
Group 3	24.6	3.4	779	6.1	86.2
Mean	24.9	3.7	703.7	6.1	80.1
SD	2.21	0.31	96.42	0.25	5.55
P-value	3.262	*0.062	6198.222	**0.042	20.516
Maximum	27.2	4	779	6.4	86.2
Mnimum	22.8	3.4	595	5.9	75.4
Unit	U/L	g/dL	U/L	g/dL	mg/dL

* P>0.05 as compared with Group 2

** P<0.05 as compared with Group 2

Group 1: Normal + General food

Group 2: Control + General food + was fed after 5 Gy radiation.

Group 3: Experimental + oral administration of aronia (100 mg/kg/day) and saline for 14 day + 5 Gy radiation.

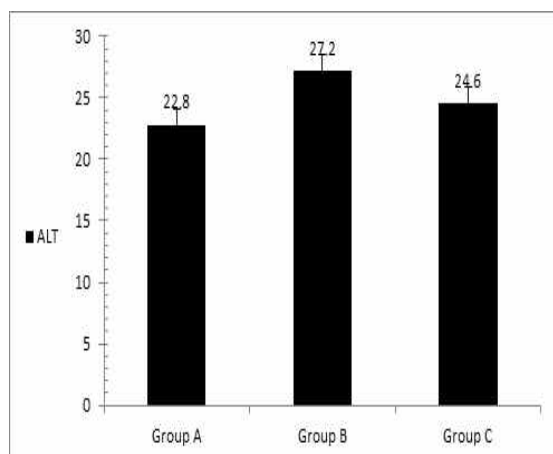


Fig. 4. The effects of aronia on liver components (:Alanine amino transferase, ALT, U/L) after radiation irradiation.

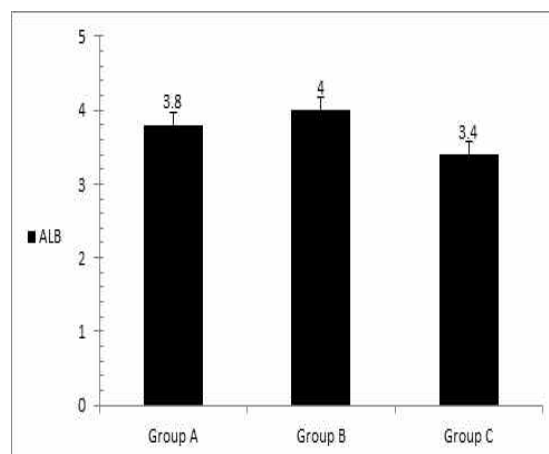


Fig. 5. The effects of aronia on liver components(Albumin: ALB, g/dL) after radiation irradiation.

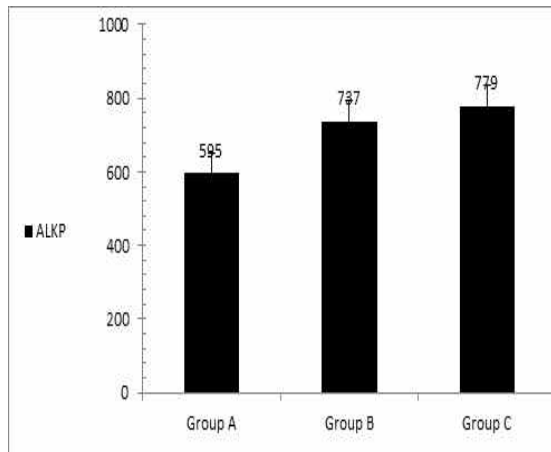


Fig. 6. The effects of aronia on liver components (:alkaline phosphatase: ALKP, U/L) after radiation irradiation.

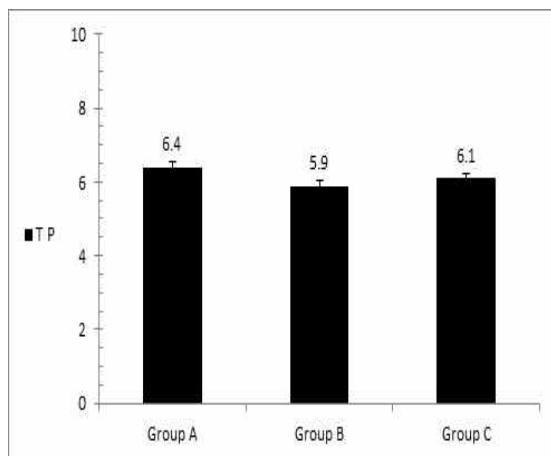


Fig. 7. The effects of aronia on liver components (total protein: TP, g/dL) after radiation irradiation.

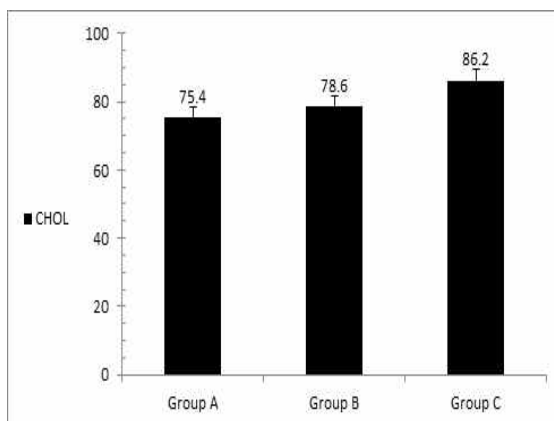


Fig. 8. The effects of aronia on liver components (cholesterol: CHOL, mg/dL) after radiation irradiation.

IV. DISCUSSION

본 연구에서는 방사선이 조사된 흰쥐의 간에서 아로니아의 방사선 방호효과가 나타나는가를 혈청 검사를 통하여 알아보려고 하였다. 방사선조사는 화순전남대학교병원 방사선종양학과에 있는 Linac (선형가속기) 6 MV X선 치료장치(CLINAC 21EX model)를 사용하여 5 Gy 방사선이 1회 전신조사된 흰쥐의 혈액을 채취하여 5가지 혈액검사를 실시하였다. 본 연구에서는 간과 관련이 있다고 생각되는 5가지의 혈청검사는 ALT, albumin, ALKP, TP, CHOL 이었다.

혈청검사 ALT는 담즙이 간세포에서 잘 배출되지 못하거나 담도가 막혔을 때 증가한다. 본 연구에서 ALT의 경우 Fig. 4와 같이 정상군은 22.8 U/L 방사선조사군이 27.2 U/L, 아로니아 투여군 24.6 U/L이며, 통계적으로 유의성은 확인되지 않았으나, 아로니아 투여군의 수치가 경감되는 것을 보여주었다. albumin은 간세포가 지닌 단백질 합성 능력을 말하며, 간기능을 알 수가 있다. 특히, Albumin의 경우에는 Fig. 4와 같이 정상군이 3.8 g/dl 방사선조사군이 4.0 g/dl 인 반면 아로니아 경구투여군은 3.4 g/dl로 나타났다($P>0.05$). 이는 방사선조사군 보다 아로니아 투여군에서 Albumin의 수치가 정상군보다 감소하여 통계적으로 유의성이 확인되지 않았다. 이 결과로 보아 아로니아 투여군이 방사선조사군 비해 방호효과가 있다고 볼 수는 없다. ALKP는 해독능력 부족으로 간에 독소가 쌓이던 간세포가 파괴되어 혈중으로 흘러나온 간 효소의 정도(간세포 손상정도)를 파악하는데, Fig. 6과 같이 정상군은 595 U/L 방사선조사군 737 U/L, 아로니아 투여군은 779 U/L로 현저하게 높게 나타났다. 통계적으로는 유의성을 확인할 수는 없었다.

TP(total protein, 총단백질) 결과는 Fig. 7과 같이 방사선조사군이 5.9 g/dl로 아로니아 투여군 6.1 g/dl에 수치의 상승으로 회복하는 것을 실험을 통해서 확인하였다($P<0.05$). 방사선조사군에서 수치가 낮아진 것은 방사선의 민감성으로 면역이 떨어진 것으로 사료된다. 따라서, 결과에 나타나는 것처럼 아로니아 투여군에서 방사선방호효과가 있다고 사

료된다. CHOL의 결과는 Fig. 8과 같이 살펴보면, 방사선조사군의 수치가 정상군에 비교해서 높게 나타났다. 아로니아 투여군도 방사선조사군에 비해 현저하게 높게 나타났다. 통계적으로 유의성은 없었다. 본 결과로 보면, 아로니아를 장기간 복용하면 콜레스테롤이 높아져서 지방간이 생길 것으로 사료된다. CHOL는 간에 대한 아로니아 방사선방호 효과는 없는 것으로 나타났다.

ko동¹⁹연구에서 "방사선조사 및 Paraquat를 투여한 생쥐 간에 대한 홍삼의 보호효과"가 있다고 보고되었다. 이 연구는 간 조직을 관찰해 보는 연구이었다.

본 연구의 결과와 유사한 연구는 "방사선에 조사된 쥐 간에서 블루베리의 방사선 방호효과"에서 혈청검사 시 Albumin의 결과가 유의성이 있다고 보고되었다.^[10]

본 연구의 결과에서 전체적으로 보았을 때는 아로니아 방사선방호효과는 없는 것으로 나타났지만, 세부적으로는 방사선방호효과가 있는 것을 실험을 통해서 확인하였다.

본 연구에서는 몇 가지 연구제한점은 다음과 같다. 첫째, 본 연구재료인 아로니아는 폴란드에서 생산된 것이 아니고, 국내에서 재배하여 생산된 것을 사용하여서 실험결과가 좋지 않는 것으로 사료된다. 둘째, 본 실험은 14일 보다는 21일로 설정하여 6 Gy, 7 Gy로 방사선을 전신조사를 실시하였다면, 다양한 결과가 나왔을 것으로 사료된다. 셋째, 실험재료가 아로니아 분말이 아닌 아로니아를 용액으로 하여 쥐의 구강에 투여보다는 복강에 투여 했으면 좋은 결과가 있었을 것으로 사료된다. 넷째, 방사선조사 하기 위해서 장시간 이동하여 흰쥐가 스트레스를 많이 받았을 것으로 사료된다.

향후의 연구에서는 간의 조직검사 등 지금보다 다양한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

V. CONCLUSION

방사선이 조사된 흰쥐의 간에서 아로니아의 방사선 방호효과가 나타나는가를 혈청검사를 통하여 알아보려고 하였다. 이 연구를 위해서 Linac (선형

가속기) 6 MV X선 치료장치 (CLINAC 21EX model)를 사용하여 5 Gy 방사선이 1회 전신조사된 흰쥐의 혈액을 채취하여 5가지 혈액검사를 실시하였다. 결론적으로 5가지 혈액검사의 실험분석을 확인한 결과는 아로니아의 간에 대한 방사선방호 효과가 전체적으로는 없는 것으로 나타났다. 하지만, 통계적으로 ALB는 유의성이 없었다($P>0.05$). TP는 유의한 차이가 있다고 확인되었다($P<0.05$). 따라서, 통계적으로 방사선 방호물질로 효과가 있다고 사료된다.

본 연구를 바탕으로 향후에는 다양한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Acknowledgement

이 논문은 2018년도 남부대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

Reference

- [1] Radiation Biology Research Society, *Radiation Biology*, Chung ku Publisher 3th Edition pp. 294, 2015.
- [2] Y. H. Goo, H. S. Kim, Y. S. Park, Y. R. Kim, *Radiation Biology*, JMK, pp. 212-213, 2015.
- [3] Y. S. Park, H. T. Kim, S. J. Go, S. S. Lee, *Radiation Biology*, 2th Edition, JMK, pp. 316, 2019.
- [4] H. L. Kim, et. al., *Human Anatomy*, Medicine science publisher, pp. 192-195, 2011.
- [5] W. u. Xianli, G. u. Liwei, P. Ronald, M. Steve, "Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity," *Journal of agricultural and food chemistry*, Vol. 52 No. 26, pp. 7846-7902, 2004.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf0486850>
- [6] A. W. Strigl, E. Leitner, W. Pfannhauser, "Qualitative und Quantitative Analyse der Anthocyane in Schwarzen Apfelbeeren (*Aronia melanocarpa* Michx. Ell.) mittels TLC, HPLC und UV/VIS-SpektrometrieQualitative and quantitative analyses of the anthocyanins in black chokeberries (*Aronia melanocarpa* Michx. Ell.) by TLC, HPLC

and UV/VIS-spectrometry," European food research and technology, Vol. 201 No. 3, pp. 266-268. 1995.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF01193001>

- [7] I. Jakobek, M. Drenjancevic, V. Jukic, M. Seruga, "Phenolic acids, flavonols, anthocyanins and antiradical activity of "Nero", "Viking", "Galicianka" and wild chokeberries," SCIENTIA HORTICULTURAE, Vol. 147 No. 12, pp. 56-63, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2012.09.006>
- [8] <https://news.v.daum.net/v/20161102173203870>
- [9] I. H. ko, J. D. Yeo, "The Protective Effect of Red Ginseng(RG) Extracts on the Liver of Mice by X-ray Irradiation and Medication of Paraquat Orally," Journal of the Korean Society of Radiology, Vol. 8, No. 3, pp. 157-145, 2014.
<http://dx.doi.org/10.7742/jksr.2014.8.3.137>
- [10] S. I. Jang, J. H. Lee, "Radioprotective Effects of Blueberry on the Liver of Radiation Irradiated Rats," Journal of the Korean Society of Radiology, Vol. 7, No. 3, pp. 239-244, 2013.
<http://dx.doi.org/10.7742/jksr.2013.7.3.239>

선형가속기 6 MV X선에 조사된 흰쥐의 간에서 아로니아의 방사선 방호효과

이준행

남부대학교 방사선학과

요 약

방사선이 조사된 흰쥐의 간에서 아로니아의 방사선 방호효과가 나타나는가를 혈청검사를 통하여 알아보 고자 하였다. 실험동물은 (체중 200~250g) 수컷 흰쥐 5마리씩, 1군으로 정상군, 5 Gy 방사선대조군은 2군, 5 Gy 방사선조사 아로니아 실험군은 3군으로 설정하였다. 정상군 1군(A)은 일반식을 투여하고 방사선 조사를 실시하지 않고, 대조군 2군(B)은 일반식을 투여하여 방사선 조사를 하였고, 실험군 3군(C)는 방사선조사 전 14일 동안 아로니아, 경구투여량(100 mg/kg/day)로 1일 2회씩 50 mg/kg/day로 증류수에 희석하여 각각 흰 쥐에 14일 동안 쥐용 존데를 이용하여 경구투여 후 방사선조사를 실시하였다, 이 연구를 위해서 Linac (선형가속기) 6 MV X선 치료장치를 사용하여 5 Gy 방사선이 1회 전신조사 된 흰쥐의 혈액을 채취하여 간에 관련된 5가지 혈청검사를 실시하였으며, 통계분석은 분산분석(ANOVA test)를 실시하였다.

결론적으로 실험분석을 확인한 결과는 아로니아의 간에 대한 방사선방호 효과가 없는 것으로 나타났다. 그러나 통계적으로 ALB ($P > 0.05$)는 유의성이 없고, TP ($P < 0.05$)는 유의한 차이가 있다고 확인되었다.

향후에는 다양한 검사가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

중심단어: 선형가속기, 아로니아, 방사선방호, 방사선조사

연구자 정보 이력

	성명	소속	직위
(단독저자)	이준행	남부대학교 방사선학과	부교수