

## 취외분비선에 미치는 사염화탄소의 영향

延世大學校 醫科大學 藥理學教室

(指導 洪 思 爽 教授)

裴 玲 淑

=Abstract=

### Studies on the Effects of $\text{CCl}_4$ on Exocrine Pancreas

Young Sook Pae, M.D.,

*Department of Pharmacology, Yonsei University College of Medicine,  
Seoul, Korea*

(Directed by Professor Sa Suk Hong)

The metabolism of many drugs and also of steroid hormones is mediated by enzymes located in the microsomal fraction in smooth surfaced endoplasmic reticulum of mammalian liver. The duration and intensity of action of many drugs are largely determined by the speed at which they are metabolized in the body.

Repeated administration of phenobarbital results in the induction of enzymes that metabolize a number of drugs. Lee et al. reported that daily administration of phenobarbital in rats significantly increased the activities of amylase in the pancreatobiliary juice, but the concentration of cholate in the bile was significantly lower in the treated group than that in the control group.

After animals were treated with  $\text{CCl}_4$ , histological changes were shown in the endoplasmic reticulum, decreased microsomal enzyme activity and decreased hepatic protein synthesis were apparent.

The purpose of the present report was to study the interaction between a "microsomal-stimulating" agent such as phenobarbital and a "microsomal-depressing" agent such as  $\text{CCl}_4$  on hepatic and pancreatic functions in rats.

The results obtained are summarized as follows:

1. The mortality rate of  $\text{CCl}_4$  treated group was 34% and was decreased this figure to 15% with phenobarbital pretreatment.
2. In animals treated with phenobarbital the volume of biliary-pancreatic secretion was markedly elevated but the volume was decreased significantly in animals treated with  $\text{CCl}_4$ .
3. Total bilirubin output was elevated markedly in the  $\text{CCl}_4$  treated group of rats pretreated with phenobarbital. The bilirubin concentration was increased in  $\text{CCl}_4$  treated group and decreased in the group treated phenobarbital alone.
4. The concentration and total output of cholate in the bile were significantly lower in the all experimental group than control group.

\* 본 논문은 1974년도 유한연구비 YH-12 의 보조로 이루어 졌음.

5. In the animals treated with phenobarbital alone and phenobarbital plus  $CCl_4$ , the activity of lipase in pancreaticobiliary juice was elevated, while in the animals treated with  $CCl_4$  alone no change was observed.

6. The activity of amylase in the pancreaticobiliary juice was decreased in the  $CCl_4$  treated group, but elevated markedly in phenobarbital group and also elevated in phenobarbital- $CCl_4$  group.

By the above results, it is concluded, when the liver was damaged by  $CCl_4$ , the exocrine function of pancreas and liver was decreased simultaneously. However, in the animals pretreated with phenobarbital, the toxicity of  $CCl_4$  on the liver and pancreas was reduced.

## I. 서 론

대부분의 약물 혹은 독물은 생체내에서 대사분해되어 약효가 감퇴되거나 독성이 감약되어 체외로 배설된다. 그러나 약물에 따라서는 대사과정에 활성화되어 약효가 증강되고 독성 물질로 변하는 예도 있다. 약물대사는 주로 간장 smooth surfaced endoplasmic reticulum에 존재하는 약물대사 효소에 의해 일어나며 약물의 작용기간이나 강도는 대략 이 효소의 대사속도에 따라 결정된다. 과거 십여년 동안 여러가지 홀몬, 살충제, 발암물질 및 수면제를 동물에 투여하여 간장 microsome의 효소량의 변동을 관찰한 보고에 의하면 간대사효소량이 상당히 증가됨을 지적하고 있다. Conney 등(1956)은 polycyclic aromatic hydrocarbones 투여로 효소작용이 증가되고 또 효소작용이 증가할 경우 효소단백농도가 증가됨을 관찰하여 이는 microsome 효소항진에 기인한다고 주장하고 유발물질은 microsome 효소항진인자라 하였다. 이러한 microsome 효소항진인자는 대사효소를 격증시켜 동계약물은 물론 관련성없는 다른 계통의 약물대사까지 항진시킨다(Conney 등, 1960. 洪, 1975). 대표적으로 phenobarbital을 들 수 있으며 이 약물의 간세포접촉 대사과정중 산화, 환원, glucuronide conjugation, deesterification 등의 화학반응에 관여하는 여러가지 효소를 증가시킨다. Lee 등(1970)은 phenobarbital을 투여한 흰쥐에서 간및 취외분비 기능을 검색하여 담취액 분비량 및 bilirubin 배출은 증가하며 cholate 함량은 감소되고, 담취액 amylase 및 lipase 활성치는 현저히 증가되며 trypsin 치는 별변동이 없었다고 보고한 바 있다. Lavigne 및 Marchand(1972)도 전기보고와 일치하는 성적을 얻었으며 atropine 처치는 phenobarbital의 담취외분비 효과를 억제하지 못하였다고 기술하고 있다. 또한 Lee 등(1972)은 ethionine장기투여 동물에서도 phenobarbital의 담취외분비 반응

에 지장이 없었다고 보고하고 있다.

태생기 또는 성장기 동물은 간장 microsome에서 약물대사 효소기능이 저하되었다(Parke, 1968. 金 등, 1973)하며 Gram 등(1968)은 간장재생기간중인 쥐에 phenobarbital과 3-methylcholanthrene 투여시 간장 효소치는 낮음에도 불구하고 이런 효소항진인자에 대해 반응함을 볼 수 있었다고 한다. 襄 등(1974)은 간장 재생기간중 phenobarbital을 투여하면 대조군에 비해 간중량이 상당히 증가되고 bilirubin 농도와 담취액 분비량 및 담취액 amylase, lipase 치가 약간 증가되며 cholate 농도는 오히려 감소된다고 하였다.

Cameron 및 Karunaratne(1936)가 사염화탄소를 쥐에 투여하여 간손상을 유발시킨 이래 사염화탄소, chloroform 및 arsenics 등이 간손상의 실험적 유발물질로 널리 이용되고 있다. 그중 사염화탄소는 주로 간장지방대사에 변동을 동반하는 간손상을 일으키는 것으로 알려져 있으며 또한 간장 endoplasmic reticulum에 조직학적변화를 일으켜 microsome 효소작용이 감소되며 간장 단백질함정도 저하된다고 한다. 간장손상기전에 대한 많은 추구가 있으나 아직 명백히 규명되지는 않았으며 사염화탄소가 mitochondria의 증장을 일으키는 것은 mitochondria 막의 투과력을 증가시키기 때문이라(Recknagel 및 Malamed, 1958)는 mitochondria 설 외에 Brody 등(1961)은 사염화탄소가 교감신경 흥분을 일으켜 간장혈관을 수축시키고 결국 간의 혈액공급에 장애를 일으켜 산소결핍을 초래하는 것과 epinephrine 유리로 지방조직에서 유리지방산이 유리되기 때문이라 하였다. Hashimoto 등(1968)은 간세포지방의 peroxidative 분해로 간손상이 온다고 주장하였다. 간독성을 가진  $CCl_4$ 가 소화선 특히 취외분비기능에 미치는 실험보고는 태무하므로 이에 저자는 사염화탄소를 쥐에 투여하여 이로 인한 간장손상시 담취외분비기능에 미치는 영향을 관찰하고 또한 phenobarbital 전처치간에 대하여 검토하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### A. 실험동물 및 실험군

체중 180g 내외의 수컷 흰쥐를 사용하여 4개군으로 배치하였다. 실험기간중 사료는 단백질 15% 이상 및 지방 3% 이상 함유된 시판의 혼합사료로 사육하였다.

제 1군, 대조군

15마리의 흰쥐에 매일 0.9% NaCl 0.2 ml를 복강내로 1주일간 투여하였다.

제 2군, CCl<sub>4</sub> 단독 투여군.

35마리의 흰쥐에 CCl<sub>4</sub>를 동량의 olive 유에 잘 용해시켜 50%용액으로 만들어 매일 0.2ml씩 복강내로 일주일간 투여하였다.

제 3군, Phenobarbital 전처치후 CCl<sub>4</sub>투여군.

20마리의 흰쥐에 phenobarbital 75mg/kg을 매일 복강내로 3일간 투여한 후 50% CCl<sub>4</sub>용액을 0.2ml씩 4일간 복강내로 매일 투여하였다.

제 4군, Phenobarbital 단독 투여군.

20마리의 흰쥐에 phenobarbital 75mg/kg을 매일 복강내로 1주일간 투여하였다.

### B. 담취액 채취 및 취효소 측정.

각 약물을 1주일간 투여후에 담취액을 채취하였다. 즉 동물을 secobarbital sodium(30mg/kg)마취하에 배위로 고정하고 개복하여 미세한 polyethylene tube를 담취관에 삽입하여 2시간동안 유출되는 담취액을 채취, 효소측정에 이용하였다. Amylase 측정은 전분기질에서 유리되는 maltose를 Sumner 법(1924)으로 측정하고 lipase는 olive oil 기질에서 유리되는 지방산을 Cherry 및 Crandall 법(1932)에 의거하여 Titrator TTT2 b(Radiometer, Copenhagen)로 측정하여 그 소비되는 1/20N NaOH량을 ml로 표시하였다. Cholate는 Irvin 등(1944)에 의한 방법으로 측정하였다.

## III. 실험 성적

### A. 담취액 분비량

담취액 분비량은 대조군(0.34±0.015)에 비해 CCl<sub>4</sub> 투여군(0.29±0.017)에서 감소함을 보이고 (p<0.05), phenobarbital 투여군은 (0.50±0.023) 현저히 증가함을 나타냈으나 (p<0.001), phenobarbital 전처치 후 CCl<sub>4</sub> 투여군에서는 별변동이 없었다. (제 1 표, 제 1 도 참조)

### VOLUME OF BILIARY-PANCREATIC JUICE

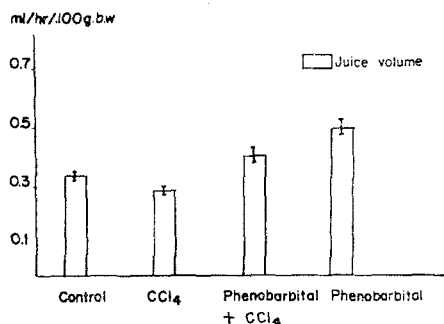


Fig. 1. Changes of pancreatic juice volume after phenobarbital and CCl<sub>4</sub> treatment.

### BILIRUBIN and CHOLATE

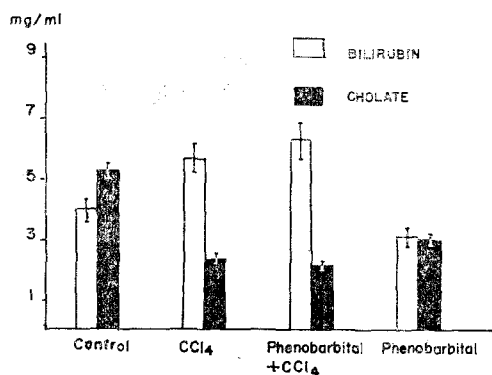


Fig. 2. Effect of phenobarbital and CCl<sub>4</sub> on the bilirubin and cholate concentration.

### B. 담취액 bilirubin 치

Phenobarbital 전처치 후 CCl<sub>4</sub> 투여군에서 bilirubin 농도(6.3±0.58)와 배출량(2.5±0.21)이 대조군의 농도(4.0±0.37)와 배출량(1.4±0.10)에 비해 현저히 증가하였다. CCl<sub>4</sub> 단독 투여군의 농도(5.7±0.48)는 대조군보다 증가하였으나 phenobarbital 투여군(3.1±0.30)에서는 오히려 감소하였다. (제 1 표, 제 2 도 참조)

### C. Cholate 치

Cholate 농도는 대조군(5.3±0.26)에 비해 모든 실험군에서 현저히 감소 하였으며 배출량도 CCl<sub>4</sub> 투여군



G. 치사율

CCl<sub>4</sub> 단독 투여군의 치사율은 34%였으며 phenobarbital 전처치 후 CCl<sub>4</sub> 투여군에서는 치사율이 15%였다. (제 3 표 참조)

IV. 고 찰

약물은 간에서 대사되어 작용이 감소되는데 이와같은 약물대사효소는 간장 smooth surfaced endoplasmic reticulum에 많이 존재하고 있음은 널리 알려진 바이다. Phenobarbital은 약물대사효소를 항진시키는 대표적물질로 반복투여하면 약물대사능이 항진되어 약물의 혈중농도저하로 약효가 감소된다. (Conney, 1967). 이때 간장 smooth surfaced endoplasmic reticulum의 증식이 일어난다 (Remmer 및 Merler, 1963), 여러가지 효소의 활성이 항진됨 (Conney, 1967) 뿐 아니라 담즙분비량 및 간장무게도 현저히 증가된다고 한다 (Klassen, 1969). Lee 등 (1970)은 phenobarbital을 투여한 흰쥐에서 간 및 췌의 분비기능을 검색한바 담취액 분비량 및 bilirubin 배출은 증가하며 cholate 함량은 감소되고, 담취액 amylase 및 lipase 활성치는 현저히 증가된다고 하였다. 또 Lavigne 및 Marchand(1972)는 간장무게 뿐 아니라 췌장무게도 증가되고 이는 통계학적 의의를 가지며 atropine 처치는 phenobarbital의 담취의 분비효과를 억제하지 못했다고 하였다. 즉 phenobarbital의 췌의 분비선에 대한 작용이 부교감신경계의 영향을 받지 않음을 지적하였다. 간장 재생기간중 약물대사효소기능은 저하됨 (Gram 등, 1968)에도 불구하고, 曩등(1974)은 흰쥐에 phenobarbital을 주면 간 재생이 촉진되고 대조군에 비하여 간장무게가 증가되며 담취액의 분비량과 amylase, lipase 치도 증가된다고 하였다. 본 실험에서도 phenobarbital 단독투여군에서 담취액 분비량의 현저한 증가와 담취액 amylase, lipase 치의 증가를 볼 수 있으며 이는 전기보고들과 부합된다.

Ethionine은 간장 ATP치를 감소시켜 간장단백합성을 저해하고 phenobarbital의 약물대사효소 항진작용을 막는다고 보고하고 있다. 사염화탄소는 간장지방배사에 변화를 일으켜 간손상을 일으키고 간장 endoplasmic reticulum에 조직학적 변화를 일으켜 microsome 효소작용의 감소와 간장단백합성의 저하를 초래한다. Conney 등 (1957)은 3, 4-benzpyrene 투여시 간장 benzpyrene hydroxylase 치가 증가하나 ethionine 투여로

benzpyrene에 대한 이런 간장효소계의 반응을 막을 수 있었다. Fujimoto 및 Plaa(1961)는 ethionine과 사염화탄소를 mouse에 각각 투여하여 hexobarbital sleeping time을 측정한바 phenobarbital 단독 투여시 hexobarbital의 sleeping time이 매우 단축되거나 ethionine 혹은 사염화탄소와 함께 phenobarbital을 주면 sleeping time은 정상치와 비슷하였다고 한다. 즉 phenobarbital의 hexobarbital수면시간 단축작용이 완전히 봉쇄됨을 제시하였다. 그러나 사염화탄소나 ethionine을 phenobarbital 투여후에 주면 phenobarbital의 작용은 봉쇄되지 않았다. Lee 등 (1972)은 ethionine을 무단백식이와 함께 흰쥐에 장기간 투여하여 흰쥐 마취에 필요한 secobarbital량을 줄였으며 담취액 분비량 및 bilirubin 치의 감소를 보았고, 담취액 amylase, lipase 치도 현저히 감소하였다고 보고하였다. 그러나 ethionine과 무단백식이를 장기투여한 후 phenobarbital을 주면 담취액 분비량과 bilirubin 치가 정상치와 비슷하고 amylase, lipase 치도 증가하였다고 한다. 즉 ethionine 장기투여가 phenobarbital의 담취의 분비반응에 대하여 어떤 지장을 미친다고 할 수 없다고 하였다. 朴 등 (1974)은 흰쥐에 사염화탄소 투여로 간장무게가 감소되었으나 phenobarbital 전처치로 오히려 대조군에 비해 간중량이 증가했다고 하였다. 본 실험에서 CCl<sub>4</sub> 단독투여시 담취액의 분비량과 amylase 치가 현저히 감소되었고 phenobarbital 전처치후 사염화탄소를 투여하면 담취액의 분비량과 bilirubin이 증가되고 담취액 amylase 및 lipase 치도 현저히 증가됨을 관찰할 수 있었다. 또 CCl<sub>4</sub> 단독 투여군에서는 치사율이 34%였으나 phenobarbital 전처치로 치사율은 15%로 감소시킴을 관찰하였다. 이런점으로 보아 phenobarbital 전처치는 사염화탄소의 간취독성을 감약시킴을 인정할 수 있으며 또한 phenobarbital 자체의 담취의 분비기능은 사염화탄소로 별한 지장을 받지 않는다고 할 수 있다. 이는 앞에서의 실험보고와 상통하는 결과라고 하겠다.

Fujimoto 및 Plaa (1961)는 사염화탄소를 mouse에 투여하면 간장에 약간의 focal necrosis와 함께 중등도의 chronic inflammation을 일으킨다고 하였다. 또 Monleux 및 Smuckler(1969)은 사염화탄소를 mouse에 1회 경구투여하여 간장의 centrilobular parenchymal cell necrosis를 관찰하였다. 그러나 췌장에는 아무런 조직학적 변화를 볼 수 없었다고 한다. 본 실험에서도 사염화탄소를 복강내 투여하여 중등도의 fatty infiltraton을 간장에서 볼 수 있었으며 췌장에서도 약간의 fatty infiltration을 볼 수 있었다.

## V. 결 론

흰쥐에 phenobarbital, CCl<sub>4</sub>, 및 phenobarbital 전처치후 CCl<sub>4</sub>를 복강내로 투여하여 취의분비 및 담즙분비 기능에 미치는 영향을 검색하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Phenobarbital을 투여한 흰쥐에서는 담취액 분비량의 현저한 증가를 CCl<sub>4</sub> 투여 동물에서는 현저한 감소를 나타냈다.

2. 담취액 bilirubin 배출량과 농도는 phenobarbital 전처치후 CCl<sub>4</sub> 투여로 현저한 증가를 나타냈고 bilirubin 농도는 CCl<sub>4</sub> 단독투여군에서는 증가를 phenobarbital 단독투여군에서는 감소를 초래하였다.

3. Cholate 농도는 모든 실험군에서 현저히 감소하였으며 배출량도 감소하였다.

4. 담취액 lipase 치는 phenobarbital 투여군과 phenobarbital 전처치후 CCl<sub>4</sub>투여군에서도 증가를 보였으나 CCl<sub>4</sub>단독투여군에서는 별 변동을 볼 수 없었다.

5. 담취액 amylase 치는 CCl<sub>4</sub>단독 투여군에서는 감소하였으나 phenobarbital 투여군에서는 현저한 증가를 phenobarbital 전처치후 CCl<sub>4</sub>투여군에서는 증가경향을 보였다.

6. 사염화탄소 단독 투여군의 치사율은 34%였으며 phenobarbital 전처치후 사염화탄소 투여군에서는 치사율이 15%로 phenobarbital 전처치로 치사율의 감소를 나타냈다.

위의 사실들로 미루어보아 CCl<sub>4</sub>투여로 인한 간손상에 있어서는 간의분비 뿐 아니라 취의분비기능도 저하되나 phenobarbital 전처치로 CCl<sub>4</sub>의 간취독성이 감약되는 동시에 phenobarbital 자체의 간및 취의분비 반응에도 별한 지장이 없음을 알 수 있다.

## REFERENCES

- Brody, T.M., Calvert, D.N. and Schneider, A.F.: *Alterations of CCl<sub>4</sub> induced pathologic changes in the rat by spinal transection, adrenalectomy and adrenergic blocking agents. J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 131:341-345, 1961
- Cameron, G.R., and Karunaratne, W.A.E.: *Carbon tetrachloride cirrhosis in relation to liver regeneration. J. Path. et Bact.*, 42:1-1936.
- Cherry, I.S. and Crandall, L.A. Jr.: *The specificity of pancreatic injury. Am. J. Physiol.*, 100: 266-273, 1932
- Conney, A.H.: *Pharmacological implications of microsomal induction. Pharmacol. Rev.*, 19:3 17-366, 1967.
- Conney, A.H., Davison, C. Gastel, R. and Burns, J.J.: *Adaptive increases in drug-metabolizing enzymes induced by phenobarbital and other drugs. J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 130:1-8, 1960
- Conney, A.H., Miller, E.C. and Miller, J.A.: *Substrate induced synthesis and other properties of benzpyrene hydroxylase in rat liver. J. Biol. Chem.*, 228:753-766, 1957.
- Conney, A.H., Miller, E.C. and Miller, J.A.: *The metabolism of methylated aminoazo dyes. V. Evidence for induction of enzyme synthesis in the rat by 3-methylcholanthrene. Cancer Res.*, 16:450-459, 1956.
- Einarsson, K. and Johansson, G.: *Effect of phenobarbital on the conversion of cholesterol to taurocholic acid. Bile acids and steroids 20 4. Europ. J. Biochem.*, 6:293-298, 1968
- Fujimoto, J.M. and Plaa, G.L.: *Effect of ethionine and carbontetrachloride on urethan and phenobarbital induced changes in hexobarbital action. J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 131:282 -286, 1961.
- Gram, T.E., Guarino, A.M. Greene, F.E. Gigon, P.L. and Gillete, J.R.: *Effect of partial hepatectomy on the responsiveness of microsomal enzymes and cytochrome P-450 to phenobarbital or 3-methylcholanthrene. Biochem. Pharmacol.*, 17:1769-1778, 1968.
- Hashimoto, S., Glende, E.A. Jr. and Recknagel, R. O.: *Hepatic lipid peroxidation in acute fatal human carbontetrachloride poisoning. New. Engl. J. Med.*, 279:1082-1086, 1968.
- 洪思寅: 藥物과 肝臟, 대한 소화기병 학회잡지, 7:77 -80, 1975.
- Irvin, J.L., Johnston, C.G. and Kopalz, J.: *A photometric method for the determinations of cholates in blood and bile. J. Biol. Chem.*, 153:439-457, 1944.

- Klassen, C.D.: *Biliary flow after microsomal enzyme induction. J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 168:218-223, 1969.
- 金景煥, Shideman, F.E. and 李宇柱: 胎生期 및 發育期の 藥物대사에 관한 研究, 대한의학협회잡지, 16:382-388, 1973.
- Lavigne, J.G. and Marchand, C.: *Effects of phenobarbital pretreatment on rat pancreas. Am. J. Physiol.*, 222:360-364, 1972.
- Lee, N.H., Kim, H.K. and Hong, S.S.: *Effects of phenobarbital and ethionine on hepatic and pancreatic functions of protein deprived rats. Arch. int. Pharmacodyn.*, 196:70-82, 1972.
- Lee, N.H., Min, K.S. and Hong, S.S.: *The effects of phenobarbital on exocrine pancreas. Arch. int. Pharmacodyn.*, 185:350-356, 1970.
- Monleux, G. and Smuckler, E.A.: *An autoradiographic study of protein synthesis in mouse liver parenchymal cells during CCl<sub>4</sub> intoxication. Amer. J. Path.*, 54:73-82, 1969.
- 裴玲淑, 金源准, 洪思爽: 간장장애생기간중 phenobarbital이 환취의 담취의분비 기능에 미치는 영향, 최신의학, 17:1631-1638, 1974.
- 朴震洪, 高敬煥, 金裕文: Phenobarbital 및 Prednisolone 전처치가 사염화탄소로 인한 肝損傷에 미치는 영향, 경북의대잡지, 15:43-47, 1968.
- Parke, D.V.: *Factors which effect the metabolism of drugs. In Recent advances in pharmacology Ed.I.M. Robson and R.S. Stacey, London, pp. 75-98, 1968.*
- Rocknagel, R.O.: *Carbontetrachloride hepatotoxicity. Pharmacol. Rev.*, 19:145-208, 1967.
- Recknagel, R.O. and Lombardi, B.: *Studies of biochemical changes in subcellular particles of rat liver and their relationship to a new hypothesis regarding the pathogenesis of carbontetrachloride fat accumulation. J. Biol. Chem.*, 236:564-569, 1961.
- Remmer, H. and Merker, H.J.: *During induced changes in the liver endoplasmic reticulum: Association with drug metabolizing enzymes. Science (N.Y.)* 142:1657-1658, 1963.
- Sumner, J.B.: *The estimation of sugar in diabetic urine, using dinitrosalicylate. J. Biol. Chem.*, 62:287, 1924.