

흰쥐에서 출생 전 납중독에 의한 중추신경계 독성의 선택성 연구

고광호 · 이정원

서울대학교 약학대학 약리학교실

(1987. 9. 25 접수)

어미쥐에 유발시킨 납중독이 새끼쥐의 특정 중추신경계에 미치는 신경독성의 선택성 여부를 알아보려고 하였다. 특정 신경계의 한 예로 모노아민성 신경계를 선택하여 납중독의 지표로 모노아민성 신경계의 효소인 MAO (monoamine oxidase)의 활성을 측정하였으며 비특정 조직에의 지표로 $\text{Na}^+ \cdot \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 의 활성을 측정하였다. 임신한 Wistar계 어미쥐에게 임신전기간에 걸쳐 0.05 혹은 0.2% 초산납(PbAc_2) 용액을 식수로 공급하여 간접적으로 태아에 납중독을 유발시켰다. 새끼쥐는 출생직후 정상 식수를 공급해 주었다. 2, 4, 6 및 8주된 새끼쥐의 MAO 및 $\text{Na}^+ \cdot \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 활성을 대뇌, 간뇌, 중뇌, 뇌교-연수 및 소뇌 등 다섯부위에서 각기 측정하였다. 효소의 활성이 변화를 나타낸 경우 MAO 활성은 항상 증가되는 것을 보였으나 $\text{Na}^+ \cdot \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 활성은 대조군에 비해 감소되었다. 어미쥐에 유발시킨 납중독은 새끼쥐의 중추신경계내의 MAO 활성을 간뇌(4주), 뇌교-연수(2, 4주) 및 소뇌(4, 8주)에서 변화시켰으나 $\text{Na}^+ \cdot \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 활성은 변화시키지 않았으며 이러한 결과는 납중독이 야기하는 중추신경계의 독성이 선택성을 나타냄을 밝히는 증거일 것이다.

서 론

납은 생체내에 유입될 경우 심각한 독성을 일으킬 수 있는바, 혈액학적 독성¹⁾, Fanconi's syndrome 등의 신장독성²⁾, 하복부 통증, 구토 등의 위장관 독성³⁾, 생식기계 독성⁴⁾ 및 신경계 독성⁵⁾⁻⁹⁾ 등을 들 수 있다. 이중 중추신경계는 발병률과 사망률의 관점에서 납 중독의 가장 중요한 표적기관으로 알려져 있다. 납 중독에 의해 일어나는 중추신경계의 형태학적 이상은 뇌부종, 수초 탈락(demyelination), 축색 손상(axonal damage), 괴사 등이 있으며¹⁰⁾⁻¹³⁾ 행동학적으로는 활동과잉(hyperactivity), 공격성(aggressiveness), 학습 능력 감퇴, 상동증(stereotyped repetitive behavior) 등의 증상들이 유발될 수 있다¹⁴⁾⁻¹⁷⁾. 중추의 모노아민성 신경계의 전달과정은 포유류의 행동과 정서에 중요한 역할을 하고 있으므로¹⁸⁾⁻²²⁾ 납 중독에 의해 일어나는 그러한 행동, 정서적 증상들이 중추에서의 신경전달과 관련이 있을 것이라는 생각에 착안하여 최근 이 분야로 많은 연구가 진행되었다. 설치류에서 출생 후부터 만성적으로 납에 노출시킨 개체의 중추신경계에서 노르아드레날린성 신경계 활성의 증가, 아세틸콜린성 신경계 활성의 감소가 보고된 바 있고²³⁾ 그의 중추의 여러 신경계에서 신경전달 물질의 유리, 재흡수, 반복대사율, 수용체의 변화 등에 관한 연구결과가 보고된 바 있다²⁴⁾⁻²⁸⁾. 그러나 납 중독에 의한 이들 신경계의 독성이 중추신경계내의 특정 신경계에 대한 납의 선택적인 작용에 기인하는 것인지, 혹은 중추 비특정 조직전반에 대한 납의 비선택적인 작용에 기인하는 것인지의 여부는 아직 밝혀지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 중추의 특정 신경계의 하나의 예로써 모노아민성 신경계를 선택하여 이에 대한 독성의 지표로 모노아민성 신경계에 존재하는 효소인 MAO

(monoamine oxidase)와 중추 비특정 조직에 대한 독성의 지표로는 비특정 조직 전반에 분포되어 있는 효소인 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATPase}$ 를 기준으로 하여 각기 다른 농도의 납에 의해 중독된 흰 쥐에서 두뇌 부위별로 이들 효소의 활성을 측정하여 정상동물의 경우와 비교하여 봄으로써, 납 중독에 의한 신경독성의 선택성 여부를 알아보려고 하였다.

임신 중 모체의 납중독은 그의 새끼 쥐에서도 독성을 나타내므로²⁰⁾ 본 연구에서는 임신기간 중에 납 중독시킨 어미쥐에서 태어난 새끼쥐의 중추신경계에서 납 독성의 신경계 선택성 여부를 알아보려고 하였다.

실험재료 및 실험방법

실험재료

실험동물

서울대학교 실험동물 사육장에서 공급받은 Wistar rat를 10주의 연령에서 자성과 웅성 및 이들간에서 얻은 제 1대 새끼를 실험에 사용하였다.

시약

Serotonin, bovine serum albumin, Folin-Ciocalteu reagent, ouabain, Tris-ATP는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo.)에서 구입하였고 n-butanol, sodium carbonate, sodium potassium tartrate, sodium hydroxide, cupric sulfate, sodium phosphate dibasic, potassium phosphate monobasic, hydrochloric acid, sucrose, zinc sulfate, lead acetate, sodium acetate, EDTA, Tris-buffer, sodium chloride, sodium deoxycholate, potassium chloride, trichloroacetic acid 등의 시약은 시중에서 구입할 수 있는 최고 순도의 것이었고 효소활성 측정용 물은 탈 이온된 2차 증류수를 사용하였다.

실험방법

실험디자인

10주된 Wistar rat의 자성과 웅성을 3일간 교배시켰다. 자성과 웅성의 교배와 동시에 이들 동물들을 대조군, 저농도 납 투여군 및 고농도 납 투여군의 3군으로 분류하였다. 저농도 납 투여군 및 고농도 납 투여군에는 0.05%와 0.2%의 초산납이 함유된 식수를 각각 공급하였고 대조군에는 동일한 농도의 초산나트륨이 함유된 식수를 공급하였다. 이러한 처치는 자성 동물의 경우 분만시까지 계속되었다. 각 어미 동물군에서 태어난 새끼들은 대조군, 저용량 및 고용량 납 투여군으로 따로 분류하여 성장기간 동안 계속 정상 식수를 공급하였다. 새끼의 수는 각 어미쥐 한 마리당 10마리만 취하여 사용하였고 모든 새끼쥐는 출생후 3주 되는날 어미쥐로부터 격리시켰다. 효소활성 측정은 모두 이들 새끼쥐들에서 시행하였으며 각 새끼쥐가 출생후 2주, 4주, 6주, 8주 되는날 쥐의 두뇌로부터 $\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATPase}$ 와 MAO의 활성을 측정하여 대조군과 납 투여군의 경우를 비교하였다(Table 1).

뇌의 부위별 분리

$\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATPase}$ 와 MAO의 활성은 하루 중에도 시각에 따라 다소의 변동이 있음이 보고된바 있

Table 1. Experimental design

Control Dams;	Treated Dams;
Equal amount of NaAc	Prenatally exposed to PbAc ₂ Low dose High dose
Rat pups; 2, 4, 6, 8 weeks of age MAO activity Na ⁺ K ⁺ -ATPase activity 5 area of brain (Miller et al.); Telencephalon, Diencephalon, Midbrain, Pons/Medulla, Cerebellum	
+Low dose; 0.05% PbAc ₂ +High dose; 0.2% PbAc ₂	

므로³⁰⁾ 실험동물을 실험일 오전 10시를 전후하여 단두치사시켜 즉시 뇌를 적출하여 얼음판 위에서 Miller 등³¹⁾의 방법에 따라 대뇌, 간뇌, 중뇌, 뇌교-연수, 소뇌의 다섯부위로 분리하였다. 생후 2주의 실험에서는 뇌의 크기가 작아 분리에 어려움이 있었으므로 대뇌, 간뇌-중뇌, 뇌교-연수, 소뇌의 제부위로 분리하였다.

Na⁺K⁺-ATPase활성의 측정

쥐의 뇌 조직에서 각 부위별로 Morgan 등의 방법에 의해³²⁾ microsomal fraction을 얻어 효소원으로 사용하였다. Na⁺K⁺-ATPase활성은 Silva 등³³⁾의 방법에 의해 Tris-ATP를 기질로 하여 측정하였고 반응후 유리된 phosphate의 양은 Fiske 및 Subbarow법을 개선한 Lebel 등³⁴⁾의 방법에 의해 870nm에서 U. V. spectrometer (L. K. B.)를 이용하여 측정하였다. Na⁺K⁺-ATPase활성은 총 ATPase활성에서 Mg⁺⁺-ATPase활성을 제한 값으로 하였으며 micromole Pi/mg protein/1 hr의 단위로 표시하였다.

MAO활성의 측정

쥐의 뇌 조직에서 각 부위별로 Whittaker 등³⁵⁾의 방법에 의해 mitochondrial fraction을 얻어 효소원으로 사용하였다. MAO활성은 Sjoerdsma 등³⁶⁾의 방법에 의해 serotonin을 기질로 하여 측정하였고 반응후의 serotonin량은 Udenfriend 등³⁷⁾의 방법에 의해 271nm에서 U. V. spectrometer (L. K. B.)를 이용하여 측정하였다. MAO활성은 micromole serotonin/mg protein/1hr의 단위로 표시하였다.

단백질 함량의 측정

뇌조직 중의 단백질 함량은 Lowry 등³⁸⁾의 방법에 의해 측정하였다.

유의성 검정

실험결과와 각 동물군 사이의 차이는 one tailed student t-test에 의하여 유의성 검정을 실시하였다.

실험결과

대뇌에서의 Na^+K^+ -ATPase와 MAO 활성 변화

대뇌에서의 효소활성 측정치는 Table 2에 나타나 있다. Na^+K^+ -ATPase활성은 고용량 납 투여군에서 출생 후 2주 및 4주에 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었으며 MAO활성은 고용량 납 투여군에서 출생 후 2주 및 4주에 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다. 고용량 납 투여군의 경우 출생 후 6주 및 8주, 또한 저용량 납 투여군의 경우 실험을 시행한 모든 연령에서 Na^+K^+ -ATPase 및 MAO활성은 대조군에 비해 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

간뇌에서의 Na^+K^+ -ATPase와 MAO 활성변화

간뇌(2주의 실험결과는 간뇌와 중뇌를 합한 부위)에서의 효소활성 측정치는 Table 3에 나타나 있다. Na^+K^+ -ATPase활성은 고용량 납 투여군에서 출생 후 2주에서만 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었으며 MAO활성은 고용량 납 투여군에서 출생 후 2주 및 4주에 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다. 저용량 납 투여군에서는 전 실험기간을 통하여 Na^+K^+ -ATPase 또는 MAO 어느쪽도 활성변화를 나타내지 않았다.

중뇌에서의 Na^+K^+ -ATPase와 MAO 활성변화

중뇌에서의 효소활성 측정치는 Table 4에 나타나 있다. Na^+K^+ -ATPase활성은 고용량 납 투여군에서 출생 후 4주에서만 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었으며 MAO 활성은 고용량 납 투여군에서는 전 실험기간을 통하여 Na^+K^+ -ATPase 또는 MAO 어느쪽도 변화를 나타내지 않았다.

뇌교-연수에서의 Na^+K^+ -ATPase와 MAO 활성변화

뇌교-연수에서의 효소활성 측정치는 Table 5에 나타나 있다. Na^+K^+ -ATPase활성은 납 투여군에서 전 실험기간을 통해 대조군에 비해 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으며 MAO 활성은 고용량 납 투여군에서 출생 후 2주 및 4주에 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다. 고용량 납 투여군의 경우 출생 후 6주 및 8주 또한 저용량 납 투여군의 경우 실험을 시행한 모든 연령에서 MAO활성은 대조군에 비해 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

소뇌에서의 Na^+K^+ -ATPase와 MAO 활성변화

소뇌에서의 효소활성 측정치는 Table 6에 나타나 있다. Na^+K^+ -ATPase활성은 고용량 납 투여군에서 출생 후 2주에서만 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었으며 MAO 활성은 고용량 납 투여군에서 출생 후 2주, 4주 및 8주에 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다. 저용량 납 투여군에서는 전 실험기간을 통하여 Na^+K^+ -ATPase 또는 MAO 어느쪽도 활성변화를 나타내지 않았다.

이상의 결과를 요약하면 다음과 같다. 저용량 납 투여군에서는 전 실험기간을 통해 두 효소 모두가 대조군에 비해 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 고용량 납 투여군에서는 효소활

Table 2. Telencephalon

Enzyme	Group	MAO and Na ⁺ K ⁺ -ATPase activity (micromole/mg protein/1hr)			
		2 weeks of age	4 weeks of age	6 weeks of age	8 weeks of age
MAO	Control	0.198±0.004	0.153±0.005	0.125±0.002	0.130±0.004
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		9.36±0.50	12.13±0.29	16.02±0.89	18.50±0.56
MAO	Low dose	0.178±0.020	0.152±0.002	0.132±0.005	0.126±0.007
Na ⁺ K ⁺ -ATPase				11.08±0.87	12.16±2.05
MAO	High dose	0.259±0.006***	0.181±0.005**	0.122±0.003	0.141±0.003
Na ⁺ K ⁺ -ATPase			6.11±0.18***	8.90 ±1.13*	15.53±0.83

Each value represents the mean±S.E.M. of data from at least 4 tissue pools.

* indicates a significant difference from control group.

(*: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001)

One tissue pool consists of same brain areas collected from three or four animals.

Table 3. Diencephalon

Enzyme	Group	MAO and Na ⁺ K ⁺ -ATPase activity(micromole/mg protein/1hr)			
		2 weeks of age	4 weeks of age	6 weeks of age	8 weeks of age
MAO	Control	0.195±0.006	0.155±0.004	0.125±0.005	0.134±0.008
Na ⁺ K ⁺ -ATPase			11.00±0.74	12.23±0.88	18.23±2.38
MAO	Low dose	0.187±0.006	0.153±0.003	0.129±0.005	0.134±0.004
Na ⁺ K ⁺ -ATPase			11.32±0.62	11.91±0.61	16.93±0.60
MAO	High dose	0.280±0.011***	0.189±0.010*	0.121±0.003	0.142±0.005
Na ⁺ K ⁺ -ATPase			4.31±0.97***	9.70 ±1.10	17.51±0.45

Each value represents the mean ± S.E.M. of data from at least 4 tissue pools.

* indicates a significant difference from control group.

(*: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001)

Data of 2 weeks are shown as enzyme activities from areas containing diencephalon and midbrain.

One tissue pool consists of same brain areas collected from three or four animals.

Table 4. Midbrain

Enzyme	Group	MAO and Na ⁺ K ⁺ -ATPase activity(micromole/mg protein/1hr)			
		2 weeks of age	4 weeks of age	6 weeks of age	8 weeks of age
MAO	Control		0.156±0.003	0.123±0.005	0.125±0.007
Na ⁺ K ⁺ -ATPase			14.04±1.04	19.35±2.10	23.18±1.12
MAO	Low dose		0.155±0.004	0.129±0.006	0.128±0.004
Na ⁺ K ⁺ -ATPase			13.59±2.00	16.09±0.90	22.08±2.25
MAO	High dose		0.181±0.007*	0.125±0.002	0.141±0.003
Na ⁺ K ⁺ -ATPase			10.88±0.52*	20.95±0.72	17.44±3.86

Each value represents the mean ± S.E.M. of data from at least 4 tissue pools.

* indicates a significant difference from control group.

(*: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001)

One tissue pool consists of same brain areas collected from three or four animals.

Table 5. Pons/Medulla

Enzyme	Group	MAO and Na ⁺ K ⁺ -ATPase activity(micromole/mg protein/1hr)			
		2 weeks of age	4 weeks of age	6 weeks of age	8 weeks of age
MAO	Control	0.180±0.002	0.123±0.006	0.119±0.004	0.124±0.004
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		10.38±0.79	12.33±0.96	18.85±0.83	20.60±2.15
MAO	Low dose	0.180±0.006	0.128±0.004	0.120±0.005	0.119±0.005
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		12.86±1.47	11.16±0.46	20.02±2.00	19.38±2.71
MAO	High dose	0.216±0.006**	0.154±0.006*	0.120±0.005	0.117±0.004
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		8.69±0.85	11.59±0.98	15.18±0.56	16.46±1.83

Each value represents the mean ± S.E.M. of data from at least 4 tissue pools.

* indicates a significant difference from control group.

(*: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001)

One tissue pool consists of same brain areas collected from three or four animals.

Table 6. Cerebellum

Enzyme	Group	MAO and Na ⁺ K ⁺ -ATPase activity(micromole/mg protein/1hr)			
		2 weeks of age	4 weeks of age	6 weeks of age	8 weeks of age
MAO Na ⁺ K ⁺ -ATPase	Control	0.098±0.003 5.44±0.50	0.084±0.004 9.00 ±1.15	0.086±0.004 12.18±0.71	0.089±0.003 13.75±1.46
MAO Na ⁺ K ⁺ -ATPase	Low dose	0.100±0.005 3.29±1.21	0.088±0.005 6.88 ±0.77	0.092±0.007 11.20±0.59	0.093±0.005 13.11±1.81
MAO Na ⁺ K ⁺ -ATPase	High dose	0.144±0.007** 2.04±0.49**	0.119±0.002** 9.00±0.52	0.091±0.006 14.09±2.96	0.110±0.004** 13.50±0.50

Each value represents the mean ± S.E.M. of data from at least 4 tissue pools.

* indicates a significant difference from control group.

(*: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001)

One tissue pool consists of same brain areas collected from three or four animals.

성의 변화가 나타난 경우가 있었으며 이때 Na⁺K⁺-ATPase와 MAO활성 모두에 변화가 나타난 경우는 출생 후 2주에서의 대뇌, 간뇌-중뇌, 소뇌와 출생 후 4주에서의 대뇌, 중뇌이었다. Na⁺K⁺-ATPase활성은 변화가 없으나 MAO활성에는 변화가 나타난 경우는 출생 후 2주에서의 뇌교-연수, 출생 후 4주에서의 간뇌, 뇌교-연수, 소뇌와 출생 후 8주에서의 소뇌이었다. 반대로 MAO활성은 변화하고 Na⁺K⁺-ATPase활성은 변화하지 않은 경우는 나타나지 않았다.

납 중독에 의한 쥐의 뇌 조직중의 단백질 함량 변화

뇌 조직중의 단백질 함량을 Table 7에 나타내었다. 저용량 및 고용량 납 투여군의 경우 뇌 조직중의 단백질 함량은 실험기간 전반에 걸쳐 두뇌 여러 부위에서 대조군에 비해 유의성 있는 증감이 있었으나 단백질 함량 변화가 나타난 부위와 효소활성 변화가 관찰된 부위가 일치하는 경우는 Na⁺K⁺-ATPase의 경우 고용량 납 투여군의 출생 후 4주의 중뇌 뿐이었고, MAO의 경우 고용량 납 투여군의 출생 후 2주의 뇌교-연수, 출생 후 4주의 중뇌 및 출생 후 8주의 소뇌의 세부위 뿐이었다.

고 찰

납에 의한 독성의 조직별 선택성은 납투여에 의한 특정조직에서의 독성 발현여부와 납투여량과의 상관성을 연계시켜야만 판별이 가능하다. 본 연구에서 납에 의한 독성의 선택성 여부를 뇌 조직에서 관찰한 것은 납중독이 중추신경계에서의 신경전달과정과 관련이 있다는 보고들이 있기 때문이다²³⁾⁻²⁸⁾ 이러한 예로서 납 중독에 의해 중추 노르아드레날린성 신경계 및 콜린성 신경계의 활성 변화²³⁾, 카테콜아민 대사물질인 homovanillic acid와 vanillylmandelic acid의 함량증가²⁴⁾, striatum 및 nucleus accumbens에서의 도파민 반복 대사율 감소 또는 증가²⁵⁾ 등이

Table 7. Protein concentration in brain of rats

Brain area	Group	Protein concentration (mg/ml)			
		2 weeks of age	4 weeks of age	6 weeks of age	8 weeks of age
Telencephalon	Control	4.39±0.04	6.65±0.23	6.63±0.34	8.72±0.13
	Low dose	3.48±0.13**	6.79±0.13	8.13±0.28*	6.24±0.49**
	High dose	4.12±0.11	7.30±0.22	6.37±0.30	7.30±0.19***
Diencephalon	Control	4.29±0.36	6.75±0.20	6.18±0.12	7.65±0.22
	Low dose	4.29±0.12	7.23±0.15	6.33±0.22	6.69±0.15*
	High dose	3.77±0.16	7.35±0.15	6.89±0.10**	7.27±0.22
Midbrain	Control		5.97±0.38	6.18±0.26	7.30±0.29
	Low dose		6.66±0.10	6.09±0.08	6.14±0.13*
	High dose		7.18±0.12*	6.91±0.09*	6.46±0.13*
Pons/Medulla	Control	5.12±0.19	5.37±0.40	6.90±0.18	7.43±0.28
	Low dose	4.28±0.39	6.26±0.21	6.60±0.16	6.47±0.33
	High dose	3.73±0.14***	5.89±0.16	6.33±0.20	6.47±0.39
Cerebellum	Control	4.40±0.19	5.80±0.31	6.49±0.31	8.48±0.23
	Low dose	3.73±0.24*	6.71±0.14*	7.57±0.12*	7.37±0.31*
	High dose	4.87±0.26	6.38±0.19	6.67±0.17	7.00±0.15**

Each value represents the mean ± S.E.M. of data from at least 4 tissue pools.

* indicates a significant difference from control group.

(*: P < 0.05, **: P < 0.01, ***: P < 0.001)

있다. 뇌조직 중에서도 모노아민성 신경계를 본 연구에서 실험대상으로 한 이유는 뇌조직에 존재하는 많은 신경계 중에서 특정신경계의 한가지로 선택하기 위한 선별조건에 모노아민성 신경계가 적합했기 때문이다. 우선 모노아민성 신경계의 뇌조직내 분포농도가 높고 또한 이 신경계 활성을 나타내는 지표로서 효소활성을 사용하기가 용이하기 때문이다. 모노아민성 신경계에 대한 납중독의 영향이 본 연구에서 두뇌의 각 부위별로도 측정된 것은 중추신경계에서 모노아민성 신경계의 분포에 두뇌 각 부위별 차이가 있을뿐 아니라 두뇌 각 부위가 수행하는 생리적 기능이 독특하기 때문에 이와 관련된 정보를 아울러 얻을 수 있을 가능성을 갖고자 했기 때문이다. 실험에 사용된 납의 투여 농도를 식수 중에 0.05% 및 0.2%로 결정한 것은 납중독의 실험적 유발에서 경미한 독성 또는 심한 독성의 발현이 이러한 농도에서 보고된바 있었으므로⁶⁾ 본 실험의 목적에서 염두에 둔 납의 투여량에 근거한 독성의 선택성을 찾는 데 적합할 것으로 생각되었기 때문이다. 중추의 특정신경계로 선택한 모노아민성 신경계는 그 활성 변화의 기준을 MAO활성변화로 하였고 중추의 비특정 조직의 활성변화의 기준은 Na⁺K⁺-ATPase로 하였다. 즉 납 투여후 나타나는 MAO활성변화는 납의 모노아민성 신경계에 대한 영향의 결과이고 Na⁺K⁺-ATPase활성변화는 납의 중추신경계 전반에 걸친 영향의 결과로 간주할 수 있기 때문이다. Na⁺K⁺-ATPase는 중추의 비특정조직 전반에 걸쳐 존재하며³⁹⁾ 뇌 조직중의 MAO는 주로 뇌에서의 모노아민류의 생리적 불활성화에 기여하며 기질 및 효소억제제의 중

류에 따라 MAO-A와 MAO-B로 구분한다.⁴⁰⁾ MAO-A는 모노아민성 신경세포에 주로 존재하며⁴¹⁾ MAO-B는 비신경성 세포에 주로 존재하는바⁴²⁾, 본 실험에서 측정된 MAO는 세로토닌을 기질로 하는 MAO-A이었다, 납을 투여받은 동물에서 관찰된 결과가 Na^+K^+ -ATPase와 MAO활성의 동시 변화로 나타나는 경우 모노아민성 신경계에 대한 납중독의 영향은 모노아민성 신경계에 대한 선택성에 기인한다기 보다는 일반조직 전반에 대한 납중독성의 일부로서 나타난 것으로 해석되고 Na^+K^+ -ATPase활성변화가 나타나지 않는 단계에서 MAO 활성변화만 나타나는 경우에는 납독성이 모노아민성 신경계에만 선택적임을 나타낸 것으로 해석할 수가 있다. 이러한 관찰이 투여한 납의 용량변동과 연계된다면 납의 농도가 낮은 경우에 선택적으로 영향을 받는 신경조직이 있는지 여부와 납의 농도가 증가함에 따라 그 선택성이 그대로 존재하는지 또는 비특정조직 전반에 확산되어 영향을 미치는지를 실험결과로부터 구분할 수 있을 것이다.

본 실험에서 관찰된 Na^+K^+ -ATPase 및 MAO의 정상동물에서의 활성은 동물의 연령증가에 따라 각각 증가 및 감소하는 경향을 보였고 이 결과는 Bourgoin등⁴³⁾의 보고와도 일치하였으므로 본 실험에서 대조군의 실험치로 사용할 수 있는 값으로 간주하였다. 납중독에 의해 나타난 Na^+K^+ -ATPase와 MAO의 활성변화를 정상동물군과 비교하면, 저용량 납투여군에서는 두 효소 모두에 활성의 변화가 나타나지 않았으나 고용량 납 투여군에서는 효소활성의 변화가 나타난 경우가 많았고 이 경우 정상동물군에 비해 Na^+K^+ -ATPase 활성은 감소하고 MAO활성은 증가하는 일관성 있는 변화가 관찰되었다. 납중독에 의해 유발된 이들 효소활성의 변화양상도 동물의 연령과 상관성을 나타내었다. 즉 납중독이 유발시킨 Na^+K^+ -ATPase 또는 MAO의 활성변화는 생후 2주 또는 4주까지 뚜렷이 존재하다가 생후 6주 또는 8주가 되면서 차츰 효소활성의 변화가 소멸되는 것을 알 수 있었다. 또 생후 2주와 4주의 경우에도 2주에 비해 4주의 경우가 효소활성의 변화빈도가 낮았으며 활성의 변화 정도도 감소하였다. 이것은 납중독된 동물에서 생후 2주의 경우 Na^+K^+ -ATPase활성이 평균 52.7% 감소되었고 MAO활성이 평균 35.3% 증가한 반면 생후 4주의 경우 Na^+K^+ -ATPase활성이 평균 24.6% 감소하고 MAO활성이 평균 24.6% 증가된 것으로도 쉽게 파악될 수 있다. 이것은 납중독이 발생할 경우 동일한 용량에서도 동물이 어릴수록 그 독성이 강하게 나타남을 시사하는 것으로 생각되며 또한 임신중에 모체를 통해서 납에 중독되었던 것이 출생 후에는 정상 식수를 공급하였으므로 더 이상의 납의 체내 축적은 억제되고 생체외로의 배설이나 기타 생체의 적응 또는 방어기전에 의해 독성이 약화되었기 때문이라고 생각할 수도 있다. 뇌조직 이외의 조직에 대한 납중독의 영향을 관찰한 결과에서 동일한 용량의 납일지라도 어린 개체일수록 그 독성이 더욱 강하게 나타난다는⁴⁴⁾ 보고가 있었음은 본 실험의 이러한 해석이 합리적임을 뒷받침한다고 할 것이다.

납중독의 선택성에 관해서 본 연구결과는 크게 두가지의 설명을 가능하게 한다. 우선 저용량의 납 투여군에서는 Na^+K^+ -ATPase와 MAO 두 종류 효소 모두에서 활성의 변화가 없었으므로 고용량의 납투여군에서 MAO활성변화만 나타나고 Na^+K^+ -ATPase활성은 변화하지 않은 뇌조직 부위와 두가지 효소활성에서 모두 변화를 나타내는 뇌조직 부위에 대한 설명이다. 전자의 경우는 출생후 2주의 뇌교-연수, 출생후 4주의 간뇌, 뇌교-연수, 소뇌와 출생후 8주의 소뇌 등이 해당되며 이들 두뇌부위에서는 납중독의 모노아민성 신경계에 대한 선택적 독성이 발현된 것으로 해석할 수 있다. 후자의 경우는 출생후 2주의 대뇌, 간뇌-중뇌, 소뇌와 출

생후 4주의 대뇌 및 중뇌 등이 해당된다. 이들 두뇌 부위에서는 MAO활성에 변화가 왔다 하더라도 일반조직 전반에 비특이적으로 존재하는 Na^+K^+ -ATPase의 활성변화가 수반되었으므로 모든 세포조직에 대한 납의 비선택적인 독성발현의 일환으로서 모노아민성 신경계에도 영향을 미친 것으로 설명할 수 있기 때문이다. 그러나 이들 부위가 본 연구에서 사용된 고농도의 납인 0.2%보다 낮으나 본 실험에서 저용량으로 사용된 납농도인 0.05%보다는 높은 중간농도의 납에 동물이 노출되었을 때에도 독성의 선택성을 나타내지 않을 것인지 여부는 계속적인 연구를 필요로 한다고 할 것이다. 이상의 결과들은 출생전 납중독에 의한 독성이 중추 모노아민성 신경계에 대해 선택적임을 나타낸다. 다만 이 선택성이 두뇌의 부위별로 차이가 나타난 것은 납의 두뇌 각 조직에 대한 물리 화학적인 친화성의 차이에 기인하는지 또는 본 연구에서 사용한 납의 고용량(0.2%)보다 낮은 농도의 납용량을 사용한 실험에서 밝혀질 것인지 여부에 대한 설명은 아직 불가능하다. 그러나 납중독의 중추 모노아민성 신경계에 대한 독성의 선택성은 납중독이 중추 모노아민성 신경계 뿐만 아니라 중추의 다른 특정 신경계에서도 발현될 가능성이 있음을 암시한다고 볼 수 있다.

뇌조직 중의 단백질 함량은 정상동물과 납중독된 동물을 비교했을 때 유의성 있는 차이를 나타낸 경우가 있었으나 그 차이의 변화(증가 또는 감소)에 일관성이 없었다. 특히 단백질 함량변화와 효소활성변화 사이에는 상관성이 관찰되지 않았으며 이 결과는 납 중독에 의한 상이한 효소활성의 변화가 뇌의 단백질 함량 변화에 기인하는 것은 아닐 것이라는 점을 암시한다.

REFERENCES

1. Cohen, A.R., M.S. Trotzky, and D. Pincus (1981): Reassessment of the microcytic anemia of lead poisoning. *Pediatrics* 67: 904-906.
2. Clarkson, T.W., and L.E. Kench (1956): Urinary excretion of amino acids by men absorbing heavy metals. *Biochem. J.* 62: 361-372.
3. Green, V.A., G.W. Wise, and J. Callenbach (1976): Lead poisoning. *Clin. Toxicol.* 9: 33-51.
4. Hammond, P.B., and R.P. Beliles (1980): Metals in Doull J, Klaasen CD and Amdur MO(Eds): Casarett and Doull's Toxicology; The Basic Science of Poisons. 2nd Ed. MacMillan, New York, pp 409-467.
5. Wince, L.C., G.A. Donovan, A.J. Azzaro (1980): Alteration in the biochemical properties of central dopamine synapses following chronic postnatal PbCO_3 exposure. *J. Pharmacol. and Exp. Ther.* 214: 642-650.
6. Collins, M.F., W.E. Hrdina, and R.L. Singhal (1984): The effect of low-level lead exposure in developing rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 62: 430-435.
7. Goldstein, G.W. (1977): Lead encephalopathy; the significance of lead inhibition of calcium uptake by brain mitochondria. *Brain Res.* 136: 185-188.
8. Patel, A.J., I.A. Michaelson, J.E. Cremer, and R. Balazs (1974): Changes within metabolic compartments in the brains of young rats ingesting lead. *J. Neurochem.* 22: 591-598.
9. Sibergeld, E.K., J.T. Fales, and A.M. Goldberg (1974): The effects of inorganic lead on the neuromuscular junction. *Neuropharmacol.* 13: 795-801.

10. Holtzman, D., H.J. Shen, and P. Mortell (1978): The pathogenesis of lead encephalopathy in the rat pup. *Pediat. Res.* 12: 1077-1082.
11. Lefauconnier, J.M., J.J. Hauw, G. Bernard (1983): Regressive or lethal lead encephalopathy in the suckling rat. *J. Neuropathol. and Exp. Neurol.* 42: 177-190.
12. Thomas, J.A., F.D. Dallenbach, and M. Thomas (1973): The distribution of radioactive lead in the cerebellum of developing rats. *J. Path.* 109: 45-49.
13. Goldstein, G.W., A.K. Asbury, and I. Diamone (1974): Pathogenesis of lead encephalopathy. *Arch. Neurol.* 31: 382.
14. Baloh, R., H. Sturm, B. Green, and G. Gleser (1975): Neuropsychological effects of chronic asymptomatic increased absorption. *Arch. Neurol.* 32: 326-330.
15. David, O., J. Clark, and K. Voeller (1972): Lead and hyperactivity. *Lancet* 2: 900-903.
16. Needleman, H.L., C. Gunnoe, A. Levinton, R. Reed, H. Peresie, H. Maher, and P. Barrett (1979): Deficits in psychologic and classroom performance of children with elevated dentine lead levels. *N. Eng. J. Med.* 300: 689-695.
17. Silbergeld, E.K. and A.M. Goldberg (1973): A lead-induced behavioral disorder. *Life Sci.* 13: 1275-1283.
18. Shaywitz, B.A., D.J. Cohen, M.G. Bowers (1977): CSF monoamine metabolites in children with minimal brain dysfunction-evidence for alterations of brain dopamine. *J. Pediatr.* 90: 67-71.
19. Joseph, J.S. and S.K. Seymour (1967): Biogenic amines and emotion. *Science* 156: 21-30.
20. Redmond, D.E. and D.L. Murphy (1975): Behavioral correlates of platelet monoamine oxidase activity in Rhesus monkeys. *Psychosomatic Medicine* 37: 80.
21. Marvin, Z. (1985): Sensation seeking, Mania, and monoamines. *Neuropsychobiology* 13: 121-128.
22. Kruk, Z.L. (1973): Dopamine and 5-hydroxytryptamine inhibit feeding in rats. *Nature* 246: 52-53.
23. Golter, M. and I.A. Michaelson (1975): Growth, behavior, and brain catecholamines in lead-exposed neonatal rats. *Science* 187: 359-361.
24. Silbergeld, E.K. and J.J. Chisolm (1976): Lead poisoning; Altered urinary catecholamine metabolites as indicators of intoxication in mice and children. *Science* 192: 153-155.
25. Memo, M., L. Lucchi, P.F. Spano, and M. Trabucchi (1981): Dose dependent and reversible effects of lead on rat dopaminergic system. *Life Sci.* 28: 759-799.
26. Nathanson, J.A., and F.E. Bloom (1975): Lead-induced inhibition of brain adenylate cyclase. *Nature* 255: 419-420.
27. Lucchi, L., M. Memo, M.L. Airaghi, P.F. Spano, and M. Trabucchi (1981): Chronic lead treatment induces in rat a specific and differential effect on dopamine receptors in different brain areas. *Brain Res.* 213: 397-404.
28. Silbergeld, E.K., R.E. Hurska, L.P. Miller, and E. Nancy (1980): Effects of lead in vivo and in vitro on GABA ergic neurochemistry. *J. Neurochem.* 34: 1712-1718.

29. Carmichael, N.G., C. Winder, and P.D. Lewis (1981): Dose response relationships during perinatal lead administration in the rat; A model for the study of lead effects on brain development. *Toxicology* 21: 117-128.
30. Chevillard, C., N. Barden, and J.M. Saavedra (1981): Twenty-four hour rhythm in monoamine oxidase activity in specific areas of the rat brain stem. *Brain Res.* 223: 205-209.
31. Miller, F.P., R.H. Cox, W.R. Snodgrass, and R.P. Maickel (1970): Comparative effects of p-chlorophenylalanine, p-chloroamphetamine and p-chloro-N-methylamphetamine on rat brain norepinephrine, serotonin and 5-hydroxy-indole-3-acetic acid. *Biochem. Pharmacol.* 19: 435-442.
32. Morgan, I.G. and D.A. Matthews (1971): Synaptic plasma membrane from rat brain synaptosomes. *Biochem. Biophys. Acta.* 249: 380.
33. Silva, P., J. Stoff, and F.H. Epstein (1979): Indirect evidence for enhancement of Na^+K^+ -ATPase activity with stimulation of rectal gland secretion. *Am. J. Physiol.* 238: 468-472.
34. Lebel, D., G.G. Poipier, and A.R. Beausoign (1977): A convenient method for the ATPase assay. *J. Anal. Biochem.* 77: 86-89.
35. Whittaker, V.P. and L.A. Barker (1972): *Method of Neurochemistry* (Fried, R. ed.). Marcel Dekker, New York.
36. Sjoerdsma, A., T.E. Smith, T.D. Stevenson, and S. Udenfriend (1955): Metabolism of 5-hydroxytryptamine by monoamine oxidase. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)*. 89: 36-38.
37. Udenfriend, S., H. Weissbach, and B.B. Brodie (1958): *Method of Biochemical Analysis* 6: 95-130.
38. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.J. Randall (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biochem.* 193: 265-275.
39. Godfraind, D., M.G. Wyllie, and D.V. Davison (1975): Nerve terminal ATPase as possible trigger for neurotransmitter release. *Nature.* 255: 237-238.
40. Mitra, D. and S.R. Guha (1978): Inhibition of monoamine oxidation in sub-fractions of crude mitochondria of rat brain by clorgyline and Lilly 51641. *Biochem. Pharmacol.* 27: 2455-2457.
41. Arnaiz, G.R.L., de, and C.D.R., de Robertis (1962): Cholinergic and noncholinergic nerve endings in the rat brain. II; Subcellular localization of monoamine oxidase and succinate dehydrogenase. *J. Neurochem.* 9: 503-508.
42. Student, A.K. and D.J. Edwards (1977): Subcellular localization of type A and B monoamine oxidase in rat brain. *Biochem. Pharmacol.* 26: 2337-2342.
43. Bourgain, S., F. Artaud, L. Adrien, F. Hery, J. Glowinski, and M. Hamon (1977): 5-Hydroxytryptamine catabolism in the rat brain during ontogenesis. *J. Neurochem.* 28: 415-422.
44. Ziegler, E.E., B.B. Edwards, R.L. Jensen, K.R. Mahaffey, and S.J. Fomon (1978): Absorption and retention of lead by infants. *Pediat. Res.* 12: 29-34.

Evaluation of Selective CNS Toxicity in Prenatally Lead Exposed Rats.

Kwang Ho Ko, Jeong-Won Lee

*Department of Pharmacology
College of Pharmacy, Seoul National University
Seoul 151, Korea*

It was investigated whether lead poisoning in mother exhibits selective toxicity to specific central nervous system in her offspring. Monoaminergic nervous system was chosen as an example of specific nervous system and monoamine oxidase (MAO) activity was determined as a criterion of lead poisoning. Na^+K^+ -ATPase activity was determined as a criterion of nonspecific lead poisoning.

Wistar rats were employed in this study. Lead poisoning was induced by exposing pregnant dams to either 0.05 or 0.2% lead acetate (PbAc_2) in their drinking water from conception to parturition and thus fetus indirectly to lead. As soon as each experimental dam gave birth to her young she was started on normal drinking water. At 2, 4, 6 and 8 weeks of age MAO and Na^+K^+ -ATPase activities were assayed in 5 areas of offspring's brain; Telencephalon, diencephalon, midbrain, pons-medulla and cerebellum.

In such a case that the activity of enzymes was altered, MAO activity was always found to increase but Na^+K^+ -ATPase activity was always found to decrease compared to control group.

Selective toxicity of lead poisoning to monoaminergic nervous system characterized by the change of MAO activity while Na^+K^+ -ATPase activity was not changed at the same time was found in diencephalon (4 weeks), pons-medulla (2, 4 weeks) and cerebellum (4, 8 weeks).

These results suggest that lead poisoning may exhibit selective toxicity not only to monoaminergic nervous system but to other specific central nervous system.