

납(Pb)이 생쥐 대뇌피질내 몇 가지 효소활성 및 미세구조에 미치는 영향

李西恩 · 劉昌奎 · 崔林淳

Effects of Lead on Enzyme Activities and Ultrastructure in Cerebral Cortex

Lee, Seo Eun, Chang Kyu Yoo and Rim Soon Choe

(Received November 30, 1987)

Abstract

This experiment was performed to investigate the acute and chronic effects of lead on cerebral cortex. In acute treatment, mouse were injected with lead acetate at dose of 0.3 mmole/kg body weight, and in chronic treatment, mouse were supplied 0.03 M lead acetate sol. in the place of water. After treatment, mouse were sacrificed at time intervals of 24, 48, 72, and 96 hours in acute treatment and at time intervals of 4 weeks and 8 weeks in chronic treatment.

In acute treatment, acetylcholinesterase activity is reduced at 72 hours and recovered at 96 hours in homogenate, and reduced at 24 hours and recovered at 72 hours in crude synaptosomes. In chronic treatment, acetylcholinesterase activity is increased in young mouse but reduced in mother mouse.

Ultrastructural changes were composed of swelling of Golgi apparatus, nerve terminals with diminished synaptic vesicles, and vacuolated myeline lamellae of myelinated axon.

서 론

납(Pb)은 현대 문명사회에서 생물체가 노출되기 쉬운 중금속 가운데 하나로서 이미 오래전부터 생체에 미치는 영향에 대해 연구되어 왔다. 특히 신경계에 미치는 영향은 납에 중독된 사람들에 대한

임상적 보고(Lin-Fu, 1973; Needleman들, 1974; Baker들, 1984)가 증가하면서 연구가 활발하게 진행되고 있지만 확실한 기작은 밝혀지지 않고 있다. 납이 신경계에 미치는 영향으로 임상적으로는 불안, 초조, 운동실조(Baker들, 1984), 다민반응, 과활성(hyperactivity) (Lin-Fu, 1973; Needleman

들, 1979; Wince들, 1984) 등이 알려져 있으며, 그에 대한 원인을 규명하려는 노력이 많이 이루어져 acetylcholine(Cooper와 Manalis, 1984; Suszkiw들, 1984), dopamine(Minnema들, 1986), 그리고 GABA(γ -aminobutyric acid)(Minnema와 Michaelson, 1986) 등 신경전달물질들의 자발적 방출(spontaneous release)과 탈분극(depolarization) 시의 방출에 대한 납의 영향이 보고된 바 있고, 납을 만성 투여하였을 때 나타나는 acetylcholine 대사효소의 활성변화도 보고되었다(Modak들, 1975). 또한 납이 세포내로 흡수되는 기작에 대한 Ca^{2+} 과의 연관성(Barton들, 1978; Simons, 1986)과 신경접합부에서의 Ca^{2+} 과의 상호관계(Kober와 Cooper, 1976; Nachshen, 1984)에 대해서도 연구가 활발하다.

신경계에서의 납으로 인한 조직학적 변화는 주로 만성투여의 경우에 조사되었다. 동물체가 납에 만성적으로 노출되면 납으로 인한 뇌염(lead encephalopathy)이 유발되는데(Lefauconnier들, 1983), 특히 미숙한 개체에게 신경조직내 출혈을 일으켜 기능장애를 일으킨다(Clasen들, 1974; Lefauconnier들, 1980; Maxwell, 1986). 말초신경계에서는 유수신경섬유(myelinated axon)에서의 Schwann 세포의 변화와 탈수초화(demyelination) 현상이 보고되어 있다(Lampert들, 1968; Powell, 1982; Meiri, 1985). 태아시에 납에 노출되는 경우, 수초화 과정의 억제현상(Krigman들, 1974a)과 신경세포의 발육억제와 그로 인한 대뇌 회백질의 전체적인 감소 등의 변화가 알려져 있다(Krigman들, 1974b).

위와 같이 납이 신경계에 미치는 영향에 대한 연구는 활발하게 진행되고 있지만, 급성투여, 특히 단 한번의 다량투여 후의 시간에 따른 효소활성도의 변화나 미세구조의 변화에 대한 연구는 아직 보고되지 않고 있다. 따라서 본 실험에서는 acetylcholine을 가수분해시키는 효소, acetylcholinesterase와 미토콘드리아 내의 ATPase(adenosine triphosphatase)의 활성이 납 투여 후 시간의 흐름에 따라 변하는 양상을 살펴보고, 그에 따른 대뇌 신경세포의 미세구조 변화와의 연관성을 살

펴보고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물로는 20°C 내외의 사육실에서 실험용표준사료와 물을 공급하면서 사육한 체중 25~30 g인 ICR계통의 생쥐를 사용하였다.

효소활성을 측정하는데 필요한 acetylthiocholine iodide, DTNB (5,5'-dithio bis-2-nitrobenzoic acid), ATP(adenosine-5'-triphosphate) disodium salt, 그리고 뇌의 미토콘드리아 분리에 필요한 Ficoll은 Sigma사 제품을 사용하였고, 생쥐에 투여한 시약, $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ 및 기타 다른 시약은 시판 중인 GR 및 특급품을 사용하였다.

2. 시약투여

투여한 시약은 대조군은 CH_3COONa , 실험군은 $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ 형태로 증류수에 녹여서 사용하였다.

1) 급성투여

실험동물은 대조군과 실험군으로 나누어 각각 초산나트륨과 초산납을 체중 kg당 0.6 mmole과 0.3 mmole이 0.1 ml에 포함되도록 용해시켜 복강내로 주사하였다.

2) 만성투여

출산 전후 3일 정도의 임신한 생쥐를 따로 분리시켜 0.03 M 초산납 용액을 물 대신 공급하면서 4주간과 8주간 사육하였는데, 4주 후에는 암수를 따로 분리하여 숫컷만을 실험재료로 사용하였다. 대조군의 경우는 0.06 M 초산나트륨 용액을 물 대신 공급하였다.

3. 표본적출

각 실험군들은 급성투여의 경우에는 투여 후 24시간, 48시간, 72시간 그리고 96시간 후에, 만성투여의 경우에는 투여 시작 후 4주, 8주 되는 날 단두회생(decapitation)시키고 그 즉시 냉각된 0.25 M sucrose 완충액(pH 7.4)에 넣어 냉각시킨 후 뇌를 적출하였다.

4. 효소원 추출

적출한 뇌에서 대뇌피질을 분리하여 이를 g당 10 ml의 0.25 M sucrose 완충액(0.25 M sucrose,

10 mM Tris-HCl, 0.5 mM EDTA)에 넣어 glass homogenizer로 파쇄액으로 만든 후, 그 중 일부는 털어내어 acetylcholinesterase 효소원으로 사용하였고, 나머지는 Basford(1967), 그리고 Clark와 Nicklas(1970)의 방법을 변형하여 미토콘드리아와 synaptosome을 분리하였다.

파쇄액을 동일한 0.25 M sucrose 완충액으로 1:1 희석시킨 후, 2,000 g에서 3분 동안 원심분리하고, 그 상등액만을 다시 12,500 g로 원심분리하여 침전물을 얻었다. 이를 조적 g당 6 ml의 3% Ficoll용액(0.12 M mannitol, 0.03 M sucrose, 5 mM Tris-HCl : pH 7.4)에 현탁하여, 그 중 3 ml과 6% Ficoll용액(0.24 M mannitol, 0.06 M sucrose, 10 mM Tris-HCl : pH 7.4) 7 ml과 함께 11,500 g에서 농도차 원심분리를 30분 동안 하였다. 여기서 얻은 침전물을 미토콘드리아로 분류하여 EDTA가 없는 0.25 M sucrose 완충액(pH 7.4)을 원조적 g당 5 ml을 넣고 현탁시킨 후 다시 12,500 g에서 10분간 원심분리하여 얻은 침전물을 ATPase 효소원으로 사용하였다. 농도차 원심분리한 후의 상등액은 다시 12,500 g에서 10분 동안 원심분리하여 침전물을 얻고 이 침전물을 0.25 M sucrose 완충액에 현탁하여 미토콘드리아의 경우와 같이 원심분리하여 나온 침전물을 crude synaptosome이라 분류하여 acetylcholinesterase 효소원으로 사용하였다.

5. 효소활성도 측정

1) Acetylcholinesterase

Acetylcholinesterase는 신경전달물질의 하나인 acetylcholine을 acetate와 choline으로 분해하는 효소로서 활성도의 측정은 Ellman(1961)의 방법을 이용하였다.

효소원 적당량과 0.1 M 인산완충액(pH 8.0) 적정량을 cuvette에 넣어 3 ml을 맞춘 후, 0.1 M 인산완충액(pH 7.0)에 녹인 0.01 M DTNB 용액 100 μ l을 넣고 20 μ l의 0.075 M acetylthiocholine iodide 용액을 넣어 spectrometer(Hitach Model 200-20)로 412 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다.

2) ATPase

미토콘드리아의 Mg⁺⁺ ATPase는 ATP를 ADP와

인산으로 분해, 또는 합성하는 효소로서 가역적으로 반응을 일으킨다. 측정은 Boyer와 Bieder(1967)의 방법을 이용하였다.

pH 7.4인 1.0 M Tris-acetate 완충액 0.05 ml, 0.05 M MgCl₂ 용액 0.05 ml, 그리고 pH 8.0인 0.02 M Tris acetate 완충액 0.03 ml을 넣고 적당량의 증류수를 넣은 후 효소원탁액을 넣어 30°C에서 10분간 방치한 후, 0.1 M ATP용액(pH 7.4)을 0.05 ml 넣어 같은 온도에서 4분간 반응시킨 다음, 1.5 M perchloric acid 0.5 ml을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 이 용액을 적당하게 원심분리하여 그 상층액의 인산량을 측정하여(Chen들, 1956) 효소활성도를 산출하였다.

6. 단백질 정량

모든 효소원의 단백질 정량은 Lowry 들(1951)의 방법을 이용하였으며, 표준단백질로는 Sigma사의 bovine serum albumin을 사용하였다.

7. 전자현미경 관찰

초산납을 투여하고 일정한 시간이 경과한 실험 동물에 4% paraformaldehyde, 0.1% glutaraldehyde를 함유한 0.1 M 인산완충액(pH 7.4)을 주사기를 이용하여 일정시간 동안 perfusion한 후(Nussbaum과 Roussel, 1983), 뇌를 적출하여 위와 같은 용액에 이틀간 방치하였다. 이를 다시 0.25% glutaraldehyde를 함유한 동일완충액에 옮겨 이틀간 방치한 후, 세절하여 동일용액으로 전고정하고 동일완충액으로 세번 세척한 다음 1% osmium tetroxide로 후고정하였다. 이 조직표본을 alcohol 농도 상승순으로 탈수시키고, 다시 propylene oxide로 치환하여 epoxy resin으로 포매하였다.

포매된 표본을 37°C에서 24시간, 67°C에서 48시간 동안 방치하여 굳힌 후, 초박질편기(Sorvall MT-2B)를 이용하여 1 μ m 이하의 두께로 잘라 uranyl acetate와 초산납으로 이중염색한 후, 투과전자현미경(Hitach H-500)으로 관찰하였다.

결 과

1. 납이 대뇌피질내 효소활성에 미치는 영향

1) 급성투여

Table 1. Acetylcholinesterase activity of brain homogenate of the mouse acutely i.p. injected with lead acetate.

Treatment	Time after treatment	No. of animals	Enzyme activity (mM/min/mg protein)	% of control	P value
Control	24 hrs	6	0.319±0.0016	100	
Lead acetate	24 hrs	6	0.318±0.0011	99.7	N.S.
Control	48 hrs	6	0.281±0.0038	100	
Lead acetate	48 hrs	6	0.289±0.0032	102.8	N.S.
Control	72 hrs	6	0.296±0.0034	100	
Lead acetate	72 hrs	6	0.247±0.0033	83.4	<0.001
Control	96 hrs	6	0.298±0.0030	100	
Lead acetate	96 hrs	6	0.301±0.0025	101.0	N.S.

*The control was treated with sodium acetate.

*The values represent the mean±S.E.

*N.S.: not significant

Table 2. Acetylcholinesterase activity of brain synaptosomes of mouse acutely i.p. injected with lead acetate.

Treatment	Time after treatment	No. of animals	Enzyme activity (mM/min/mg protein)	% of control	P value
Control	24 hrs	6	0.457±0.0016	100	
Lead acetate	24 hrs	6	0.333±0.0015	72.9	<0.001
Control	48 hrs	6	0.353±0.0015	100	
Lead acetate	48 hrs	6	0.284±0.0009	80.4	<0.001
Control	72 hrs	6	0.344±0.0029	100	
Lead acetate	72 hrs	6	0.341±0.0027	99.1	N.S.
Control	96 hrs	6	0.286±0.0050	100	
Lead acetate	96 hrs	6	0.289±0.0086	101.0	N.S.

*The control was treated with sodium acetate.

*The values represent the mean±S.E.

*N.S.: not significant

대뇌피질 파쇄액 내의 acetylcholinesterase의 활성 변화는 투여 후 48시간까지는 변화하지 않다가 72시간이 경과했을 때 약 15% 정도의 활성도 감소를 나타냈으며(Table 1), 96시간 후에는 정상으로 회복되는 양상을 나타냈다. Crude synaptosome의 경우는 투여 후 24시간 경과하였을 때 가장 많이 감소하고 시간의 경과에 따라 회복되는 양상을 나타냈다(Table 2, Fig. 1).

대뇌피질내 미토콘드리아 ATPase의 활성은 48

시간에서 약간의 증가를 나타냈으며 점차 회복되는 양상을 보였다(Table 3).

2) 만성투여

어린 개체에서의 acetylcholinesterase의 활성은 납 투여기간의 연장에 따라 점차 증가하는 것으로 나타났으나(Table 4, 5), 성체의 경우에는 활성이 감소하는 것으로 나타나(Table 4), 만성적 노출의 경우 납의 영향은 성체와 어린 개체에 따라 다른 경향을 나타냈다.

Table 3. ATPase activity of brain mitochondria of the mouse i.p. injected with lead acetate.

Treatment	Time after treatment	No. of animals	Enzyme activity (0.1 μM/min/mg protein)	% of control	P value
Control	24 hrs	6	0.927±0.041	100	
Lead acetate	24 hrs	6	0.865±0.005	93.3	N.S.
Control	48 hrs	6	0.770±0.016	100	
Lead acetate	48 hrs	6	0.868±0.029	112.7	<0.01
Control	96 hrs	6	1.146±0.049	100	
Lead acetate	96 hrs	6	1.251±0.012	109.2	N.S.

*The control was treated with sodium acetate.

*The values represent the mean±S.E.

*N.S. : not significant

Table 4. Acetylcholinesterase activity of brain homogenate of the mouse chronically fed with lead acetate.

Treatment	Time for treatment	No. of animals	Enzyme activity (mM/min/mg protein)	% of control	P value
Control		11	0.271±0.0011	100	
Lead acetate	4 weeks	5	0.306±0.0031	112.9	<0.001
	8 weeks	8	0.290±0.0025	107.0	<0.001
Mothers					
Control		2	0.318±0.0016	100	
Lead acetate	4 weeks	2	0.284±0.0041	89.5	<0.001

*The control was treated with sodium acetate.

*The values represent the mean±S.E.

Table 5. Acetylcholinesterase activity of crude synaptosomes of the mouse chronically fed with lead acetate.

Treatment	Time for treatment	No. of animals	Enzyme activity (mM/min/mg protein)	% of control	P value
Control		5	0.217±0.0012	100	
Lead acetate	4 weeks	5	0.251±0.0008	115.7	<0.001
	8 weeks	8	0.271±0.0007	124.9	<0.001

*The control was treated with sodium acetate.

*The values represent the mean±S.E.

미토콘드리아의 ATPase 활성은 4주 경과시에는 감소하였으나 8주 경과 후에는 다시 증가하는 양상을 나타냈다(Table 6).

2. 전자현미경적 관찰

1) 대조군

생쥐 대뇌피질의 신경세포의 세포질에는 ribosome과 조면소포체(rER)가 풍부하고 다수의 골지체가 관찰되었으며 미토콘드리아도 풍부하였다.

Table 6. ATPase activity of brain mitochondria of the mouse chronically fed with lead acetate.

Treatment	Time for treatment	No. of animals	Enzyme activity (0.1μM/min/mg protein)	% of control	P value
Control		11	0.626±0.031	100	
Lead acetate	4 weeks	5	0.496±0.012	79.2	<0.01
	8 weeks	8	0.801±0.031	128.0	<0.01

*The control was treated with sodium acetate.

*The values represent the mean±S.E.

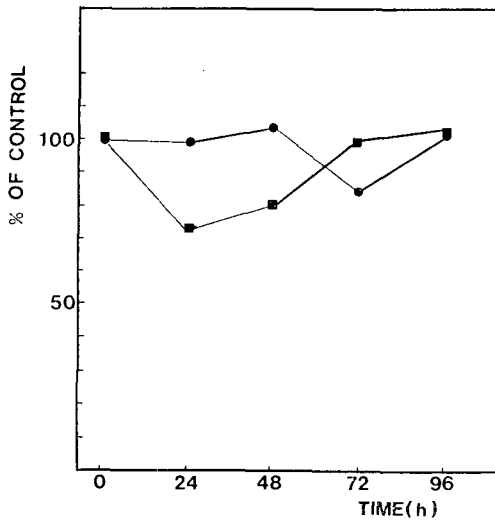


Fig. 1. Effect of lead acetate on acetylcholinesterase of mouse brain; ●, brain homogenate; ■, crude synaptosomes.

핵의 모양도 핵막의 함입부와 뚜렷한 핵인, 그리고 핵 전반에 걸쳐 고르게 분포하는 염색질 등 전형적인 신경세포의 특징을 보여 주었다.

한편, 신경세포의 외부에는 다수의 neuropil이 분포하고 있었는데 간혹 관찰되는 유수신경섬유도 정상이었다. Neuropil내의 미토콘드리아도 정상형태를 유지하고 있었으며, 축색돌기의 말단에는 다수의 신경접합소낭(synaptic vesicle)들이 조밀하게 분포하고 그 주위에는 신경접합부위가 다수 관찰되었다(Fig. 2).

2) 처리군

납을 투여한 경우, 대뇌피질에서의 미세구조의 변화는 신경세포의 세포질과 neuropil에서 주로 관찰되었으며, 미토콘드리아에서는 큰 변화가 관찰

되지 않았다.

신경세포 세포질의 경우 납 투여 후 48시간이 경과하였을 때, 골지체가 팽창되는 현상이 나타났으며, 이것은 96시간이 경과한 후에도 그 빈도는 감소하였지만 관찰할 수 있었다(Fig. 4, 6). 축색돌기의 말단부위에서는 48시간이 경과하면서 신경접합소낭들의 밀도가 감소하기 시작하여 72시간 경과하였을 때 가장 심한 감소를 보였으며, 96시간이 경과하였을 때는 어느 정도 회복되는 현상을 보여 주었다(Fig. 4~6).

또한, 96시간이 경과한 경우의 대뇌피질에서는 드물게나마 유수신경 섬유층의 myelin층에서 층과 층 사이가 벌어져 그 사이에 공포가 생기는 현상이 관찰되었는데, 이는 탈수축화 현상의 초기 증상과 비슷한 현상이었다.

고 찰

Carroll(1977)은 납을 만성적으로 투여한 경우 동물체의 뇌에서 acetylcholinesterase의 활성은 감소하고 choline-acetyltransferase의 활성은 증가하지만, 전체적인 acetylcholine의 양은 변하지 않는다고 보고하였으며, Modak(1975)도 같은 결과를 발표하였는데, 이는 본 실험의 결과와 일치하였다.

만성투여의 경우, 미숙한 개체에서는 acetylcholinesterase 활성이 증가하였고 성숙한 개체에서는 활성이 감소되는 경향이 나타났는데, 이는 장내 접막층의 성숙도와 뇌의 모세혈관 내피세포의 성숙도의 차이에서 기인하는 것으로 생각된다. 또 다른 가능성은 납의 단백질 합성 억제작용(Farkas, 1968)으로 인한 경향이라고도 생각할 수 있다.

미숙한 개체가 납에 의해 영향을 받기 쉬운 것은 장내의 납에 대한 흡수도가 성숙한 개체보다 훨씬 높고, 뇌의 모세혈관 내피는 다른 기관의 경우와 달리 영양물질의 과다나 독성물질로부터 뇌를 보호하는 기능을 가지고 있는데 미숙한 개체에서는 이것이 성숙되어 있지 않아서 납의 노출에 훨씬 민감하게 반응하게 된다(Lefauconnier 등, 1982; Defeudis, 1987). 또한 십이지장에서의 납의 흡수는 Ca^{2+} binding 단백질을 통해 Ca^{2+} 과 경쟁적으로 일어난다는 보고도 있다(Barton 등, 1978).

분리된 synaptosome에서 납은 acetylcholine, dopamine, 그리고 GABA 등 신경전달물질의 자발적 방출을 증가시키고 탈분극시의 방출은 억제시킨다고 알려져 있으며(Cooper와 Mannemalis, 1984; Suszkiw 등, 1984; Minnema 등, 1986; Minnema와 Michaelson, 1986), 신경과 근육의 접합부에서도 유사한 영향을 미친다(Manalal 등, 1984). 이러한 현상은 전자현미경 관찰시 나타난 납 투여 후 48시간에서 72시간에 나타났던 neuropil에서의 신경접합소낭들의 밀도감소와 연관성이 있다고 생각된다.

이러한 현상의 설명을 위하여 많은 연구가 진행되고 있는데, 특히 Ca^{2+} 과의 상호관계에 대한 연구가 활발히 보고되었다. Minnema 등(1986)은 분리된 synaptosome의 medium 내에 Ca^{2+} 농도를 증가시킨 결과, dopamine의 분비에 대한 납의 영향이 감소하는 것을 보고하였으며 Kober와 Cooper(1976)도 납이 Ca^{2+} 에 의존적인 신경전달을 Ca^{2+} 과 경쟁적으로 억제한다고 제안하였다. 분리된 synaptosome에서의 납에 의한 Ca^{2+} channel binding의 감소(Nachshen, 1984)와 부신수질세포에서 납이 Ca^{2+} channel을 통하여 세포내로 들어갈 수 있다는 가능성의 제시(Pocock과 Simons, 1985; Simons와 Pocock, 1987)와 더불어 납이 세포의 exocytosis 시의 Ca^{2+} 의 작용에 영향을 미칠 수 있음도 보고되었다(Pocock과 Simons, 1984, 1987). 또한, synaptosome에서의 자발적 방출의 증가는 막 내의 Na^+ , K^+ -ATPase 활성의 감소(Siegel과 Fogt, 1977)로 인한 Ca^{2+} 배출의 감소로 인한 세포질 내의 Ca^{2+} 농도의 증가와 미토콘드리아의 Ca^{2+}

흡수의 감소로 인한 Ca^{2+} 농도의 증가에 기인한다고 생각되며(Goldstein, 1977), 이러한 Ca^{2+} 농도의 증가는 탈분극이 일어났을 때의 세포질내로의 Ca^{2+} 유입량을 감소시키고, 납 자신이 voltage-gated Ca^{2+} channel을 통하여 Ca^{2+} 와 경쟁적으로 들어갈 수 있기 때문에 더욱 더 Ca^{2+} 의 유입량을 감소시켜 신경전달물질의 방출이 억제된다고 생각된다(Scott와 Law, 1985).

한편, Scott와 Law(1985)는 납에 노출시킨 신경세포의 전기적 특성을 조사하여 납이 세포의 VM(resting membrane potential)과 VRH(the amount of depolarization required for excitation)를 증가시키고, RM(specific membrane resistance)과 AHP(afterhyperpolarization)는 감소시킨다고 보고하면서, 이 원인은 납이 K^+ 의 막투과성을 증가시키기 때문이라고 제안하였다.

납은 접합전 신경의 세포막 뿐만 아니라 접합후 신경에도 영향을 미쳐 norepinephrine binding의 감소, adenylate cyclase의 활성도 감소, 그리고 c-AMP phosphodiesterase의 활성도 감소가 알려져 있으며(Nathanson과 Bloom, 1976), dopamine의 양적 증가와 그에 연관된 adenylate cyclase 활성의 감소도 보고된 바 있다(Wince 등, 1980). 반면, 납이 calmodulin에 민감한 생화학적 반응을 촉진시킨다는 보고도 있다(Goldstein과 Ar, 1983).

한편, 납이 중추신경계의 대사에 미치는 영향에 대해서도 많이 보고되었다. 납을 처리하게 되면 동물체의 뇌에 Δ -aminolevulinic acid의 함량이 증가하게 되는데(Muzyka, 1985), 이는 납에 의한 Δ -aminolevulinic acid dehydratase의 활성감소에 기인한다(Flora and Tandon, 1987). 또한 이 Δ -aminolevulinic acid의 증가는 synaptosome에서 신경전달물질의 자발적 방출과 탈분극시 방출에 납의 경우와 유사한 양상으로 영향을 미친다(Minnema, 1986)는 보고에 미루어 납으로 인한 중추신경계의 기능이상과 밀접한 관계가 있는 것으로 보인다. 그 밖에 납을 처리했을 때 hemoglobin양의 감소, 각 기관에서의 아미노산 흡수율의 감소, 그리고 전반적인 체내 기관에서의 glutathione 양의 증가가 알려져 있으며(Hsu, 1981), 특히, glu-

tathione은 생체내 해독작용에 관계하는 물질로 담즙을 통한 납의 배출에 관계한다고 알려졌다(Alexander들, 1986). Patel들(1974a, b)은 납을 투여했을 때 대뇌피질과 소뇌에서 아미노산 합성과 GABA 합성이 억제되는 현상을 보고하였으며, Michaelson(1973)은 납 처리시 뇌에서의 RNA, DNA, 그리고 단백질의 함량을 조사하여 본 결과 소뇌에서 DNA 함량이 감소함을 보고하였다.

한편, 납이 뇌의 모세혈관 기능에도 영향을 미쳐, 단당류의 수동적 수송이 증가되고 능동적 수송이 감소된다는 사실도 밝혀졌다(Kolber들, 1980).

그러므로, 중추신경계에 대한 납의 영향은 처음에는 중추신경계의 모세혈관에 이상을 주고, 점차 신경조직 속으로 침투된다고 생각되며, 세포적 차원에서의 영향은 주로 세포막에 먼저 영향을 미쳐 단당류, 아미노산, 기타 대사물질, 그리고 K⁺과 Ca²⁺ 등의 금속 ion의 투과성을 변화시켜, 세포생리에 이상을 초래하고, 점차적으로 세포내로 들어가 세포대사에 장애를 일으킨다고 생각된다. 신경전달에 대한 납의 영향은 주로 Ca²⁺의 기능 이상의 초래와 신경전달물질의 수용기와 그에 따른 막성분의 변화에 영향을 미쳐 야기된다고 생각되며, 자발적 방출의 증가는 연결 후 세포에 비정상적인 자극을 일으켜 신경계의 기능 이상을 유발한다고 생각된다.

결 론

ICR 계통의 생쥐를 대상으로 납의 급성중독과 만성중독에 대뇌피질에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 납의 급성중독은 대뇌피질에서의 acetylcholinesterase의 활성을 감소시켰으나, ATPase의 활성에는 큰 변화를 일으키지 않았다. Acetylcholinesterase 활성도는 대뇌피질 파쇄액의 경우에는 투여 후 72시간, crude synaptosome의 경우에는 24시간에서 감소하였다.

2. 납을 만성투여하였을 때는 미숙한 개체와 성숙한 개체의 경우가 각기 다르게 나타나서, acetylcholinesterase의 활성도가 미숙한 개체에서는 증

가하였고, 성숙한 개체에서는 감소하였다. 또한 ATPase의 활성은 증가하였다.

3. 납을 급성투여했을 때 그에 따른 대뇌피질의 미세구조의 변화는 투여 후 48시간부터 나타난 골지체의 팽창현상의 지속과 축색돌기 말단부위의 신경접합소낭들의 수가 감소하는 것이 대표적으로 관찰되었으며, 96시간에는 유수신경섬유의 myelin 층에 공포가 생기는 현상도 관찰되었다.

References

Alexander, J., J. Aaseth and A. Mikalsen. 1986. Excretion of lead in rat bile: The role of glutathion. Acta. Pharmacol. Toxicol. 59, s7, 486~489.

Baker, E.L., R.G. Feldman, R.A. White, J.P. Harley, C.A. Niles, G.E. Dinse and C.S. Berkeley. 1984. Occupational lead neurotoxicity: A behavioural and electrophysiological evaluation study design and year one results. Brit. J. Indust. Med. 41, 351~361.

Barton, J.C., M.E. Conrad, L. Harrison and S. Nuby. 1978. Effects of calcium on the absorption of lead. J. Lab. Clin. Med. 91, 366~376.

Basford, R.F. 1967. In : Methods in Enzymology, Eds., Estabrook, R.W. and M.E. Dullman, Vol. 10, p.96, Academy Press, New York.

Carrol, P.T., E.K. Silbergeld and A.M. Goldberg. 1977. Alteration of central cholinergic function by chronic lead acetate exposure. Biochem. Pharmacol. 26, 397~402.

Chen, P.S., T.Y. Toribara and H. Warner. 1956. Microdetermination of phosphorus. Anal. Chem. 28, 1756~1758.

Clark, J.B. and W.T. Nicklas. 1970. The metabolism of rat brain mitochondria: Preparation and characterization. J. Biol. Chem. 245, 4724~4731.

Clasen, R.A., J.F. Hartmann, A.J. Starr, P.S. Coogan, S. Pandolifi, I. Lajng, R. Becker and

- G.M. Hoss. 1974. Electron microscopic and chemical studies of the vascular changes and edema of lead encephalopathy. *Am. J. Pathol.* 74, 215~240.
- Cooper, G.P. and R.S. Manalis. 1984. Interactions of lead and cadmium on acetylcholine release at the frog neuromuscular junction. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 74, 411~416.
- DeFeudes, F.V. 1987. The brain is protected from nutrient excess. *Life Sci.* 40, 1~9.
- Ellman, G.L., K.D. Courtney, V. Andres and R.M. Featherstone. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 88~95.
- Farcas, W.R. 1968. Depolymerization of ribonucleic acid by plumbous ion. *BBA* 155, 401~409.
- Flora, S.T.S. and S.K. Tandon. 1987. Effect of combined exposure to lead and ethanol on some biochemical indices in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 537~541.
- Goldstein, G.W. 1977. Lead encephalopathy: the significance of lead inhibition of calcium uptake by brain mitochondria. *Brain Res.* 136, 185~188.
- Goldstein, G.W. and D. Ar. 1983. Lead activates calmodulin sensitive process. *Life Sci.* 33, 1001~1006.
- Hsu, J.M. 1981. Lead toxicity as related to glutathione metabolism. *J. Nutr.* 111, 26~33.
- Kober, T.E. and G.P. Cooper. 1976. Lead competitively inhibits calcium dependent synaptic transmission in the bullfrog sympathetic ganglion. *Nature* 262, 704~705.
- Kolber, A.R., M.R. Krigman and P. Morell. 1980. The effect of *in vitro* and *in vivo* lead intoxication on monosaccharide transport in isolated rat brain microvessels. *Brain Res.* 192, 513~521.
- Krigman, M.R., M.J. Druse, T.D. Traylor, M. H. Wilson, L.R. Newell and E.L. Hogan. 1974a. Lead encephalopathy in the developing rat: Effect upon myelination. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 33, 58~73.
- Krigman, M.R., M.J. Druse, T.D. Traylor, M. H. Wilson, L.R. Newell and E.L. Hogan. 1974b. Lead encephalopathy in the developing rat: Effect on cortical ontogenesis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 33, 671~686.
- Lampert, P.W., S.S. Schochet and C.M. Usar. 1968. Demyelination and remyelination in lead neuropathy: Electron microscope studies. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 27, 527~545.
- Lefauconnier, J.M., E. Lavielle, N. Terrien, G. Bernard and E. Fournier. 1980. Effect of various lead doses on some cerebral capillary functions in the suckling rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 55, 467~476.
- Lefauconnier, J.M., J.J. Hauw and G. Barnard. 1983. Regressive or lethal lead encephalopathy in the suckling rat. Correlation of lead levels and morphological findings. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 42, 177~190.
- Lin-Fu, J.S. 1973. Vulnerability of children to lead exposure and toxicity. *New Engl. J. Med.* 289, 1229~1233.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265~275.
- Manalis, R.S., G.P. Cooper and S.L. Pomeroy. 1984. Effects of lead on neuro-muscular transmission in the frog. *Brain Res.* 294, 95~109.
- Maxwell, K., H.V. Vitors, J.A. Berliner, J.V. Bready and P.A. Cancilla. 1986. Effect of inorganic lead on some functions of the cerebral microvessel endothelium. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 84, 389~399.
- Meiri, H., S. Pri-Chen and A.D. Korezyn. 19

85. Sodium channel location in rat sciatic nerve following lead-induced demyelination. *Brain Res.* 359, 326~331.
- Michaelson, I.A. 1973. Effects of inorganic lead on RNA, DNA, and protein content in the developing neonatal rat brain. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 26, 539~548.
- Minnema, D.J. and I.A. Michaelson. 1986. Differential effects of inorganic lead and Δ -aminolevulinic acid *in vitro* on synaptosomal γ -aminobutyric acid release. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 86, 437~447.
- Minnema, D.J., R.D. Greeland and I.A. Michaelson. 1986. Effect of *in vitro* inorganic lead on dopamine release from superfused rat striatal synaptosomes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 84, 400~411.
- Modak, A.T., S.T. Weintraub and W.B. Stavinocha. 1975. Effect of chronic ingestion of lead on the central cholinergic system in rat brain regions. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 34, 340~347.
- Muzyka, V.I. and L.A. Bogovskii. 1985. Effect of benzene and lead on relationship between Δ -aminolevulinic acid and brain myelin proteins. *Bull. Exp. Biol. Med.* 100, 1378~1380.
- Nachshen, D.A. 1984. Selectivity of the calcium binding site in synaptosomal calcium channels: Inhibition of calcium influx by multivalent metal cations. *J. Gen. Physiol.* 83, 941~967.
- Nathanson, J.A. and F.E. Bloom. 1976. Heavy metals and adenosine cyclic 3',5'-monophosphate metabolism: Possible relevance to heavy metal toxicity. *Mol. Pharmacol.* 12, 390~398.
- Needleman, A.L., I. Davidson, E.M. Sewell and I.M. Shapiro. 1974. Subclinical lead exposure in Philadelphia school children. Identification by dentine lead analysis. *New Engl. J. Med.* 290, 245~248.
- Patel, A.T., I.A. Michaelson, J.E. Cremer and R. Balazs. 1974a. The metabolism of ^{14}C -glucose by the brains of suckling rats intoxicated with inorganic lead. *J. Neurochem.* 22, 581~590.
- Patel, A.J., I.A. Michaelson, J.E. Cremer and R. Balazs. 1974b. Changes within metabolic compartments in the brains of young rats ingesting lead. *J. Neurochem.* 22, 591~598.
- Pocock, G. and T.J.B. Simons. 1984. Effect of Pb^{2+} ions on events associated with secretion from bovine adrenal medullary cells. *J. Physiol.* 357, 99p.
- Pocock, G. and T.J.B. Simons. 1985. Pb movements through Ca channels in bovine adrenal medullary cells. *J. Physiol.* 367, 67p.
- Pocock, G. and T.J.B. Simons. 1987. Effects of lead ions on events associated with exocytosis in isolated bovine adrenal medullary cells. *J. Neurochem.* 48, 376~382.
- Powell, H.C., R.R. Myers and P.W. Lampert. 1982. Changes in Schwann cells and vessels in lead neuropathy. *Am. J. Pathol.* 109, 193~205.
- Sauerhoff, M.W. and I.A. Michaelson. 1973. Hyperactivity and brain catecholamine in lead-exposure developing rats. *Science* 182, 1022~1024.
- Scott, B. and J. Lew. 1985. Chronic exposure to lead causes persistent alterations in the (electric membrane properties) of neuron in cell culture. *J. Neurobiol.* 16, 425~433.
- Siegel, G.J. and S.M. Fogt. 1977. Inhibition by lead ion of *Electrophorus electroplax* (Na^+ + K^+)-adenosine triphosphotase and K^+ -*p*-nitrophenyl phosphotase. *J. Biol. Chem.* 252, 5201~5205.
- Silbergeld, E.K. and H.S. Alder. 1978. Subcellular mechanisms of lead neurotoxicity. *Brain Res.* 148, 451~467.

- Simons, T.J.B. 1986. Passive transport and binding of lead by human red blood cells. *J. Physiol.* 378, 267~286.
- Simons, T.J.B. and G. Pocock. 1987. Lead enters bovine adrenal medullary cells through calcium channels. *J. Neurochem.* 48, 383~389.
- Suszkiv, J., G. Toth, M. Murawsky and G.P. Cooper. 1984. Effects of Pb^{2+} and Cd^{2+} on acetylcholine release and Ca^{2+} movements in synaptosomes and subcellular fractions from rat brain and *Torpedo* electric organ. *Brain Res.* 323, 31~46.
- Williamson, A.M. and R.K.C. Teo. 1986. Neurobehavioural effects of occupational exposure to lead. *Brit. J. Indust. Med.* 43, 374~380.
- Wince, L.C., C.A. Donovan and A.J. Azzaro. 1980. Alterations in the biochemical properties of central dopamine synapses following chronic postnatal $PbCO_3$ exposure. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 214, 642~650.

Figure Legends

- Fig. 2.** An electron micrograph of the cerebral cortex of normal mouse. The micrograph shows nucleus(Nu), Golgi apparatus(G), mitochondria (M), and rER of nerve cell and also shows nerve terminals with numerous synaptic vesicles.
- Fig. 3.** An electron micrograph of the cerebral cortex of the mouse 24 hours after treatment with lead acetate(0.3 mmole/kg). The micrograph shows normal nucleus (Nu), cytoplasm, and neuropils.
- Fig. 4.** An electron micrograph of the cerebral cortex of the mouse 48 hours after treatment with lead acetate(0.3 mmole/kg). Golgi apparatus(G) is swollen.
- Fig. 5.** An electron micrograph of the cerebral cortex of the mouse 72 hours after treatment with lead acetate (0.3 mmole/kg). Few synaptic vesicles in nerve terminals is seen.
- Fig. 6.** An electron micrograph of the cerebral cortex of the mouse 96 hours after treatment with lead acetate (0.3 mmole/kg). The swollen Golgi apparatus(G) is seen and nerve terminals have more synaptic vesicles.
- Fig. 7.** An electron micrograph of the cerebral cortex of the mouse 96 hours after treatment with lead acetate (0.3 mmole/kg). A myelinated axon with vacuoles(V) between myelin lamellae.

