

## Parathion의 복강내 반복투여로 인한 Rat의 혈액 및 신경조직내 Cholinesterase 활성변화

도재철·모기철·김영홍·허린수

慶北大學校 獸醫科大學 獸醫學科

### Cholinesterase Activities in Blood and Nervous Tissues of Rats following Intraperitoneal Repetitive Injection of Parathion

Do, Jae Cheul · Mo, Ki Chul · Kim, Young Hong · Huh, Rhin Sou

Dept. of Veterinary Medicine, Coll. of Veterinary Medicine., Kyungpook Natl. Univ.

#### Summary

Parathion is widely used in agriculture, but it is highly toxic and now clear that parathion behaves like a cholinergic drug by inhibiting the enzyme cholinesterase.

In order to know the effect of toxicity and cholinesterase activity in rats injected repeatedly with parathion, cholinesterase activity in plasma, whole brain and spinal cord, and the subacute toxicity after repetitive intraperitoneal injection of parathion 20 times every 3 days were investigated.

The results obtained were summarized as follows ; LD<sub>50</sub> value of parathion given intraperitoneally to rats was 10.5mg/kg(95% confidence limits, 6.6-16.8mg/kg).

In subacute toxicity test of parathion injected intraperitoneally, mortality of parathion-pretreated rats(B : 57%, C : 83%) were increased in comparison with the control(50%).

Cholinesterase activities in plasma of parathion-pretreated rats(B : 0.47 U/ml, C : 0.36 U/ml, AA : 0.31 U/ml, B : 0.26 U/ml, CC : 0.17 U/ml) were significantly decreased in comparison with the control(0.58 U/ml).

Cholinesterase activities in spinal cord of parathion-pretreated rats(B : 1.87 U/g, C : 1.29 U/g, AA : 1.27 U/g, BB : 0.71 U/g, CC : 0.25 U/g) were decreased in comparison with the control(2.48 U/g).

Cholinesterase activities in whole brain of parathion-pretreated rats(B : 2.52 U/g, C : 1.32 U/g, AA : 2.48 U/g, BB : 1.08 U/g, CC : 0.51 U/g) were significantly inhibited in comparison with the control (4.67 U/g).

However, there were no differences in the urea nitrogen and creatinine concentrations between parathion-pretreated rats and control.

#### 서론

유기인제는 독일에서 처음으로 TEPP(tetra-ethyl pyrophosphate)를 개발하여 2차대전중 보급되다가 Tabun(ethyl N-dimethyl phosphoramidocyanidate), Sarin(isopropyl methylphosphorofluoridate)등 독성이 매우 강한 유기인제

가 극비리에 독일에서 합성에 성공하여 전쟁중 인명 살상용 화학무기로 사용됨으로써 유기인제는 전세계적으로 널리 알려지게 되었다.<sup>5,8,23)</sup>

처음으로 개발된 TEPP는 매우 효과적인 살충제이긴 하지만 포유동물에 매우 독성이 강하며 쉽게 가수분해되기 때문에 농업용으로 사용하는 데 보다 안정되고 휘발성이 약한 parathion(0.0-

dimethyl O-P-nitrophenyl phosphorothioate) 이 1944년 Schrader에 의해 개발된 이래로 지금까지 94종류의 유기인 살충제가 사용되고 있으며 이중 parathion과 malathion등이 일반 농가에서 흔히 사용되고 있다.<sup>8, 30, 38)</sup>

Parathion은 강력한 cholinesterase의 억제제로 살충력이 매우 우수한 유기인제인 반면에 사람과 가축에도 심한 중독<sup>18, 25, 26, 32, 33, 36)</sup>을 일으키므로 사용시 엄격한 주의가 요구되고 있다. 인체에 있어서 parathion에 의한 중독은 보통 흡입이나 피부를 통한 흡수 또는 유기인 살충제로 오염된 목초 및 과실류를 경구적으로 섭취 함으로써 발생한다.<sup>17, 26, 32, 35)</sup>

Parathion에 의해 중독이 되면 cholinesterase 활성이 억제되어 신경조직의 cholinergic receptor에 acetylcholine이 과량 축적됨으로 cholinergic system의 과도한 흥분을 초래하여 위장운동 장애, 호흡중추 마비, 기관지 수축, 심하면 호흡마비로 사망하게 된다.<sup>5, 8, 18, 38)</sup>

1949년 Dubois<sup>9)</sup>은 rat에 대한 parathion독성 실험에서 경구적 독성은 복강내 투여시의 독성보다 50%에 불과하다 하였으며 암컷은 수컷보다 parathion에 감수성이 강하고<sup>10)</sup> parathion에 반복적으로 노출되면 뇌 cholinesterase활성은 비가역적 축적에 의한 억제작용이 나타난다고 보고 하였다. 1951년 Barnes 및 Denz<sup>2)</sup>도 parathion이 혼합된 사료를 1년동안 rat에게 투여한후 만성독성을 조사한 결과 암컷이 수컷보다 더욱 민감했으며 75ppm 및 100ppm 수준에서는 3주 이내에 대부분 폐사했고 20ppm 이하에서는 폐사가 없었다고 하였다. 또한 1963년 Brodeur 및 Dubois<sup>4)</sup>는 유기인제에 대한 비교독성 실험에서 어린 rat가 성숙한 rat보다 더욱 민감하다고 보고 하였다.

한편 1952년 Rider 등<sup>34)</sup>은 매일 rat에게 OMPA (octamethyl pyrophosphoramidate)의 투여량을 점진적으로 증가 시킬 경우는 정상적으로 수일 이내에 죽일수 있는 양에 대하여 아무 증상없이 견디어 내는 내성이 생김을 관찰하였으며 이러한 내성은 OMPA 투여를 중단하면 사라진다고 보고 하였다. 1981년 Fonnum 및 Sterri<sup>13)</sup>도 강력한 독성을 나타내는 유기인제인 soman과 sarin을 guinea pig에 sublethal dose를 반복적으로 투여

하였던 바 급성 치사량에서도 살아 남았는데 이는 동물이 어느 정도 저항성을 획득한 것에 기인한 것이라고 보고 하였다. 이와같이 parathion은 강력한 cholinesterase 억제제로서 체내에 투여되는 경로와 양에 따라서 독성정도에 차이가 있고<sup>11, 15, 19)</sup> 장기간 유기인제에 노출되면 축적효과가 일어나게 되지만 parathion과 같은 유기인제도 소량씩 점진적으로 장기간 투여하면 저항성이 생긴다는 보고등<sup>34, 36)</sup> 지금까지 유기인제에 대한 많은 연구가 행해지고 있다.

저자들은 소량의 parathion을 rat의 복강내에 장기간 반복적으로 주사하여 적응시켰을때 치사량에도 견디어 내는 저항성이 생기는지 또는 오히려 폐사율이 증가하는 중독효과가 나타나는지를 규명하는 한편, 이에따른 혈액 및 신경조직내 cholinesterase 활성도를 측정하여 parathion에 대한 영향을 관찰함과 아울러 반복적으로 parathion이 투여 됐을때에 이에 대한 방어기전으로 효소 단백질인 cholinesterase 합성이 촉진되어 체내의 단백질 대사 및 근육활동에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위하여 본 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

실험동물: 생후 10~12주된 체중 180g 내외의 건강한 Sprague-Dawley계 rat 수컷 85마리를 선택하여 급성독성 실험에 36마리를 사용하고 cholinesterase활성도 측정 실험에 30마리, 아급성독성실험에 19마리를 이용하였으며 시판 큰병아리용사료(우성사료주식회사 제품)로 무제한 급식시켜 사육 하였다.

실험군 배치: parathion의 투여용량에 따라 각 군별로 5마리씩 6개 군으로 나누었다.

A군: 대조군으로서 생리 식염수(0.9% NaCl)를 매 3일 마다 20회 복강내 주사 하였다.

B군: LD<sub>50</sub>의 6%에 해당하는 양의 parathion 희석액을 매 3일 마다 20회 복강내 주사 하였다.

C군: LD<sub>50</sub>의 3%에 해당하는 parathion을 3일 마다 4회 복강내 주사한 후 계속하여 LD<sub>50</sub>의 6%, 9%, 12% 및 15%의 농도에 해당하는 parathion의 투여용량을 점차 증가시켜 3일 간격으로 각각 4회씩 총 20회를 복강내에 주사하였다.

AA, BB 및 CC군: A, B 및 C군과 동일하게 매 3일 마다 4회씩 20회 parathion을 주사한후 그 다음 3일째에는 일제히 LD<sub>50</sub>에 해당하는 parathion을 복강내에 주사하고 주사 1시간 후에 혈액 및 장기를 채취하여 항목별 분석을 시행한 군들이다.

약제조제: parathion 투여량을 체중 kg당 mg으로 환산하기 위하여 parathion유제(제일농약주식회사 제품)를 증류수로 0.1%가 되게 희석하여 그 농도의 희석액을 체중 kg당 ml의 용량으로 환산하여 사용 하였다.

시료채취: 위와같이 약물 처리한 각 실험동물은 각 개체별로 후대정맥에서 채혈하여 heparine으로 응고를 방지 시킨후 즉시 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리 하였으며, 각 개체의 뇌 및 척수를 채취하여 분석시 까지 -20°C에서 냉동 보관 하였다.

분석방법: 본 실험에서는 실험동물의 처사량의 기준을 정하기 위한 LD<sub>50</sub>측정, 장기간 parathion에 노출된 실험동물의 아급성독성, 혈장 및 뇌, 척수등 신경조직내 cholinesterase 활성도, 단백질 및 기타 질소 화합물 대사에 대한 영향을 알아 보기 위한 혈장내 creatinine 및 urea nitrogen 농도변화등을 다음과 같은 방법으로 측정하였다.

체중측정: 실험 기간중 매 6일 간격으로 체중변동을 각 개체별로 조사하여 증체량을 구하였다.

LD<sub>50</sub> 측정: Sprague-Dawley계 rat의 복강내 주사시 급성독성을 조사하기 위하여 Litchfield-Wilcoxon법<sup>22)</sup>에 따라서 LD<sub>50</sub>와 이에 따른 95% 신뢰한계를 구하였다.

아급성 독성실험: parathion을 매 3일 간격으로 20회 투여시킨 rat에게 실험 61일째에 LD<sub>50</sub>에 해당하는 양의 parathion을 복강내에 주사하여 3일 동안 방치 하면서 증체량과 폐사율을 조사 하였다.

Cholinesterase 활성도 측정: 1973년 Ellman반응을 변용한 Dietz등<sup>7)</sup>의 방법에 따라 다음과 같이 실시 하였다. 각 개체의 뇌 및 척수는 10<sup>-2</sup>M phosphate buffer로 균질화 시킨후 뇌 및 척수의 균질액과 혈장을 각각 0.423 mM DTNB(5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid)와 20mM PTCI(propionylthiocholine iodide) 혼합액에 가한후 뇌 및 척수는 30분 동안, 혈장은 3분 동안 37°C에

서 incubation하여 0.5% quinidine sulfate 1ml를 가하여 혼합한후 5분 이내에 420nm에서 Hitachi Model 200-20 double beam Spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 cholinesterase 활성도를 구하였다.

Urea nitrogen 측정: 혈장내 urea nitrogen함량은 Barker<sup>1)</sup>의 방법에 따라 혈장의 단백질제거 여과액을 만든 다음 혈장 단백질제거 여과액 1ml에 3% diacetyl monoxime 용액 0.25ml를 가한후 50% 황산용액 2ml를 혼합하여 끓는 수욕조에서 10분간 정치한 다음 1% potassium persulfate용액 0.25ml를 가하여 15분간 방치한후 475nm에서 흡광도를 측정하여 urea nitrogen함량을 구하였다.

Creatinine 측정: 각 개체별 혈장내 creatinine함량은 Owen등<sup>21)</sup>의 방법에 따라 혈장 단백질제거 여과액 1ml에 1.2% alkaline picric acid 2.5ml를 가하여 잘 섞은 다음 실온에서 20분 동안 방치한후 520nm에서 흡광도를 측정하여 creatinine함량을 구하였다.

통계처리: 모든 실험성적은 분산분석을 하여 F검정 결과 유의성이 나타난것은 각 군별 평균치를 구하여 완전임의 배치법에 따른 최소 유의성 검정<sup>23)</sup>(L. S. D 검정)을 실시 하였다.

## 결 과

Parathion에 대한 급성독성: Sprague-Dawley계 rat 수컷 36마리를 4마리씩 9개군으로 나누어 Litchfield-Wilcoxon법<sup>22)</sup>에 따라 LD<sub>50</sub>를 측정한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 10.5mg/kg으로 95% 신뢰한계가 6.6mg/kg에서 16.8mg/kg였다.

Table 1. Acute toxicity of parathion given intraperitoneally to Sprague Dawley male rat

Dose(mg/kg)	No. of rats	No of survival	No. of dead	Mortality (%)
1	4	4	0	0
2	4	4	0	0
4	4	4	0	0
8	4	3	1	25
10	4	3	1	25
14	4	2	2	50
16	4	1	3	75
19	4	0	4	100
22	4	0	4	100
Number of rats tested				95% confidence limits(mg/kg)
36		10.5	6.6-16.8	

아급성 독성실험 : 3일 간격으로 20회 parathion 을 복강내 주사한 rat에 실험 61일째 LD<sub>50</sub>에 해당하는 parathion을 복강내 주사하여 3일동안 방치 하면서 폐사율을 관찰한 결과 Table 2에서 보는 바와같이 대조군(A군)에서 50%의 폐사율을 보인 반면 B군과 C군에서는 각각 57%, 83%로 체내의 parathion 주사량이 증가함에 따라 폐사율이 높았다. 한편 각 실험군의 증체량을 6일 간격으로 60일만에 걸쳐 측정한 결과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 대조군(A군)의 증체량이 123 g 인데 비하여 parathion에 반복 노출된 B군과 C군의 증체량이 각각 60.7 g, 88.4 g으로 체중 증

**Table 2. Toxicity of parathion given intraperitoneally to parathion pretreated rats and control**

Group	No. of rats tested	No. of dead	No. of survival	Mortality(%)
A	6	3	3	50
B	7	4	3	57
C	6	5	1	83

A : Control group

B : 6% parathion of LD<sub>50</sub> was intraperitoneally injected 20 times every 3 days.

C : Parathion was intraperitoneally injected 20 times every 3 days with the dose of 2, 3, 4 & 5 fold as much as 1st dose(3% parathion of LD<sub>50</sub>) at intervals of 12 days.

A, B & C groups were intraperitoneally injected with LD<sub>50</sub> of parathion at the 21th times.

가량이 부진 하였고 특히 B군이 C군보다 증체량이 더욱 낮았다.

혈장내 cholinesterase 활성도 : 혈장내 cholinesterase 활성도 변화는 Table 3에서 보는 바와 같이 대조군(A군)에서 0.58U/ml인데 비하여 B군과 C군에서는 각각 0.47U/ml 및 0.36U/ml로 대조군에 비해 19%, 38%까지 억제 되었다. A, B 및 C군과 동일하게 매 3일 마다 20회 parathion을

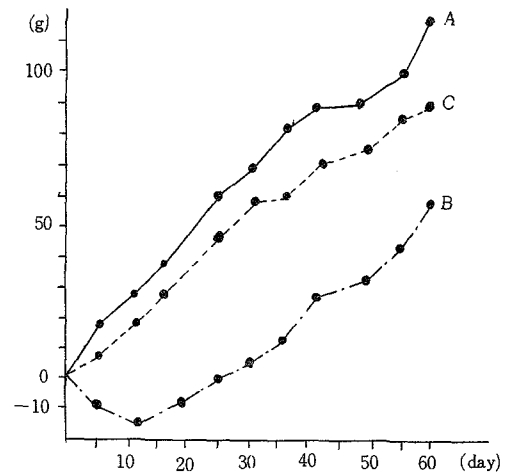


Fig.1. Effect of parathion on body weight gain in male rats.

A : Control group

B : 6% parathion of LD<sub>50</sub> was injected(I.P) 20 times every 3days.

C : Parathion was injected(I.P) 20 times every 3 days with the dose of 2, 3, 4 & 5 fold as much as 1st dose (3% parathion of LD<sub>50</sub>)at intervals of 12 days.

**Table 3. Effect of parathion on cholinesterase activity\* in plasma**

Group	Individual No.					Mean±S. D		Inhibition rate (%)
	1	2	3	4	5			
A	0.59	0.57	0.54	0.57	0.62	0.58 <sup>a</sup>	0.03	—
B	0.44	0.47	0.41	0.52	0.50	0.47 <sup>b</sup>	0.04	19
C	0.37	0.35	0.37	0.29	0.41	0.36 <sup>c</sup>	0.04	38
AA	0.31	0.34	0.27	0.28	0.34	0.31 <sup>d</sup>	0.03	47
BB	0.25	0.22	0.29	0.25	0.29	0.26 <sup>e</sup>	0.03	55
CC	0.16	0.16	0.22	0.15	0.16	0.17 <sup>f</sup>	0.03	71

a, b, c, d, e, f Means with different super-scripts within groups are different (P<.05).

\* : Cholinesterase activity at 37°C, U/ml(μmol/min/ml).

A : Control group

B : 6% parathion of LD<sub>50</sub> was intraperitoneally injected 20 times every 3 days.

C : Parathion was intraperitoneally injected 20 times every 3 days with the dose of 2, 3, 4 & 5 fold as much as 1st dose (3% parathion of LD<sub>50</sub>) at intervals of 12 days.

AA, BB & CC groups were intraperitoneally injected with LD<sub>50</sub> of parathion at the 21th times after repeated injection of parathion same as A, B & C groups.

주사한 후 실험 61일째에 다시 LD<sub>50</sub>량의 parathion을 복강내 주사하고 1시간 후에 관찰한 cholinesterase 활성도는 AA군에서 0.31U/ml로 47% 억제 되었으며 BB군 및 CC군은 각각 0.26U/ml, 0.17U/ml로 대조군에 비해 각각 55%, 71%까지 cholinesterase 활성도가 5% 수준에서 유의성 있게 억제 되었다.

척수 cholinesterase 활성도 : parathion의 복강내 반복 투여에 의한 척수내 cholinesterase 활성도의 변화는 Table 4에서 처럼 대조군에서 2.48U/g 인 반면 B, C군에서는 1.87U/g, 1.29U/g으로 A군에 비해 25%, 48%까지 억제 되었고 실험 61일째 LD<sub>50</sub>량을 복강내 주사 했을때 AA

군에서는 1.27U/g, BB군 및 CC군에서는 각각 0.71U/g, 0.25U/g으로 각각 49%, 71% 및 90%까지 1% 유의 수준에서 cholinesterase 활성도가 억제 되었다.

뇌 cholinesterase 활성도 : parathion을 반복적으로 복강내 투여시 rat의 뇌 cholinesterase 활성변화는 Table 5에서 보는 바와 같이 대조군이 4.67U/g 인 반면 B군, C군의 활성도는 2.52U/g, 1.32U/g으로 대조군에 비해 46%, 72%까지 억제 되었으며 AA군에서는 2.48U/g으로 47% 억제된 반면 BB, CC군에서는 각각 1.08U/g, 0.51U/g으로 각각 77%, 89%까지 유의성(p<.01)있게 억제 되었다.

Table 4. Effect of parathion on cholinesterase activity\* in spinal cord.

Group	Individual No.					Mean±S. D	Inhibition rate (%)
	1	2	3	4	5		
A	2.59	2.52	2.40	2.49	2.41	2.48 <sup>a</sup> 0.08	-
B	1.95	1.87	1.76	1.94	1.81	1.87 <sup>b</sup> 0.08	25
C	1.36	1.21	1.44	1.17	1.29	1.29 <sup>c</sup> 0.11	48
AA	1.22	1.40	1.35	1.28	1.11	1.27 <sup>c</sup> 0.11	49
BB	0.71	0.87	0.63	0.76	0.60	0.71 <sup>d</sup> 0.11	71
CC	0.32	0.27	0.21	0.28	0.19	0.25 <sup>e</sup> 0.05	90

a, b, c, d, e Means with different super-scripts within groups are different (P<.01).

\* : Cholinesterase activity at 37°C, U/g (μmol/min/g, wet weight).

A : Control group.

B : 6% parathion of LD<sub>50</sub> was intraperitoneally injected 20 times every 3 days.

C : Parathion was intraperitoneally injected 20 times every 3 days with the dose of 2, 3, 4 & 5 fold as much as 1st dose (3% parathion of LD<sub>50</sub>) at intervals of 12 days.

AA, BB & CC groups were intraperitoneally injected with LD<sub>50</sub> of parathion at the 21th times after repeated injection of parathion same as A, B & C groups.

Table 5. Effect of parathion on cholinesterase activity\* in whole brain

Group	Individual No.					Mean±S. D	Inhibition rate (%)
	1	2	3	4	5		
A	4.40	4.59	4.70	4.80	4.85	4.67 <sup>a</sup> 0.18	-
B	2.41	2.68	2.53	2.59	2.37	2.52 <sup>b</sup> 0.13	46
C	1.24	1.18	1.37	1.32	1.48	1.32 <sup>c</sup> 0.12	72
AA	2.54	2.65	2.46	2.42	2.34	2.48 <sup>b</sup> 0.12	47
BB	1.26	0.94	1.07	0.99	1.14	1.08 <sup>d</sup> 0.13	77
CC	0.48	0.55	0.43	0.46	0.65	0.51 <sup>e</sup> 0.09	89

a, b, c, d, e Means with different super-scripts within groups are different (P<.01).

\* : Cholinesterase activity at 37°C, (μmol/min/g, wet weight).

A : Control group.

B : 6% parathion of LD<sub>50</sub> was intraperitoneally injected 20 times every 3 days.

C : Parathion was intraperitoneally injected 20 times every 3 days with the dose of 2, 3, 4 & 5 fold as much as 1st dose(3% parathion of LD<sub>50</sub>) at intervals of 12 days.

AA, BB & CC groups were intraperitoneally injected with LD<sub>50</sub> of parathion at the 21th times after repeated injection of parathion same as A, B & C groups.

혈장내 urea nitrogen 및 creatinine 함량 : 동물체내 단백질대사의 최종산물인 urea와 근육의 고에너지원인 creatine의 대사산물 creatinine의 함량은 Table 6에서 보는 바와 같이 urea nitrogen은 대조군(A군)에서 39.8mg/dl인 반면 parathion에 60일 동안 반복적으로 노출된 B, C군에서는 각각 40.9ng/dl, 41.4mg/dl로 다소 증가하는 경향

은 보이나 각 실험군간의 차이를 분산분석한 결과 F치가 유의성이 인정되지 않았다. 또한 creatinine함량도 대조군(A군)에서 1.15mg/dl였으나 parathion에 반복적으로 노출된 B, C군에서 각각 0.90mg/dl, 1.08mg/dl로 각 군간의 차이는 완전 임의 배치법에 따라 분산분석을 한결과 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

Table 6. Effect of parathion on urea nitrogen and creatinine concentrations in plasma (mg/dl)

Constitution	Group	Individual No.					Mean
		1	2	3	4	5	
Urea nitrogen	A	39.1	39.7	40.6	41.1	38.4	39.8
	B	39.5	39.8	41.8	41.2	42.2	40.9
	C	42.8	42.9	41.5	40.2	39.7	41.4
Creatinine	A	0.88	1.39	1.23	1.08	1.15	1.15
	B	0.79	0.88	0.91	1.10	0.83	0.96
	C	1.02	1.10	1.27	0.86	1.13	1.80

A : Control group.

B : 6% parathion of LD<sub>50</sub> was intraperitoneally injected 20 times every 3 day.

C : Parathion was intraperitoneally injected 20 times every 3 days with the dose of 2, 3, 4 & 5 fold as much as 1st dose(3% parathion of LD<sub>50</sub>) at intervals of 12 days.

## 고 찰

일반적으로 유기인제는 강력한 살충작용을 발휘하는데 이중 parathion은 1944년 부터 지금까지 살충목적으로 농업용에 가장 널리 사용되고 있는 유기인제 중의 하나이다.<sup>5, 8, 30)</sup>

Parathion은 인축의 피부, 위, 폐로 쉽게 흡수되어 간에서 NADP<sup>+</sup>, NAD<sup>+</sup>, Mg<sup>++6, 20)</sup>의 조력하에 microsomal enzyme에 의하여 parathion으로부터 산화형인 paraoxon으로 활성화되어<sup>16, 27, 28, 29)</sup>신경조직내 cholinesterase를 강력하게 비가역적으로 억제 시키게 된다. 이때문에 자율 신경계 및 중추 신경계에서 cholinesterase의 작용이 소실되어 신경흥분 전달 물질인 acetylcholine이 과량 축적됨으로서 cholinergic system의 과도한 흥분을<sup>13)</sup> 일으켜 기관지 수축, 호흡근관, 타액 및 누액분비 증가등의 증세<sup>18, 38)</sup>를 유발하게 되어 atropine, 2-PAM(pyridine-2-aldoxime-methiodide)등으로 치료를 하고있는 실정이다.<sup>3, 21, 38)</sup>

이와같이 cholinesterase의 작용을 강력히 억제하는 parathion의 독성정도는 체내 투여경로

및 조건에 따라 차이가 있는바<sup>24)</sup> 복강내 주사시 본실험에 사용한 rat의 급성독성 정도를 측정하여 체내 약제 투여 농도의 기준을 삼기 위하여 LD<sub>50</sub>를 구한 결과는(Table 1) 10.5mg/kg이고 95% 신뢰한계는 6.6~16.8mg/kg이었다. 1949년 Dubois<sup>9)</sup>등과 1950년 Rohwer 및 Haller<sup>35)</sup>에 의하면 rat의 수컷에 parathion을 복강내 주사시 LD<sub>50</sub>는 7mg/kg이라고 보고 하였는데 이는 본 실험 결과에서 얻은 LD<sub>50</sub>가 Dubois등<sup>9)</sup>이 보고한 것 보다 3.5mg/kg 정도 높게 나타났다.

이 차이는 rat의 strain과 사육환경의 차이에서 온것이라 사료된다.<sup>24)</sup>

한편 rat의 체내에 소량의 parathion을 반복 투여하여 이들의 증체량을 조사하고 LD<sub>50</sub>에 해당하는 과량의 parathion을 주사하여 폐사율을 관찰한 결과, rat의 증체량(Fig. 1)은 대조군(123g)에 비해 parathion을 주사한 B군(60.7g)과 C군(88.4g)에서 증체량이 현저히 감소함을 볼수 있었다. 이는 1967년 Tanimura 등<sup>37)</sup>, 1949년 Dubois 등<sup>9)</sup> 및 1966년 Fish<sup>12)</sup>가 parathion을 rat의 복강내에 반복 주사하였을때에 사료 및 수분 섭취량

이 감소하고 증체량이 감소 하였다는 보고와 일치하였다. 특히 B군이 C군보다 증체량 감소가 심한 이유는 처음 12일동안 B군의 parathion 주사량이 C군에 비해 2배량이 투여된것이 원인이 되어 사료 및 수분 섭취량이 감소하였기 때문에 증체량이 감소한 것으로 추정된다.

실험 60일 동안 B군과 C군의 체내에 이미 투여된 parathion의 총량은 LD<sub>50</sub>의 120%, 180%로서 이때까지 소량씩 반복적으로 parathion이 투여 되어도 폐사율이 없이 모두 생존 하였으나 실험 61일째에 LD<sub>50</sub>량의 parathion을 더 추가하여 주사하였을때 폐사율을 관찰한 결과(Table 2), 대조군에서 50%의 폐사율을 보인데 비하여 B군(57%)과 C군(83%)에서 높은 폐사율을 보인것은 동물의 체내에서 parathion에 대한 저항성은 생기지 않고 축적효과가 나타난 것으로 생각된다. 1952Rider등<sup>34)</sup>은 유기인제 schradan(octamethyl pyrophosphoramidate)에 대한 rat의 내성실험에서 매일 점진적으로 투여량을 증가시켜 서서히 적응 시키면 치사량에도 견디어 내는 저항성이 생기나 schradan 투여를 중단하면 이미 형성된 내성이 사라져 버리므로 내성형성은 일시적인것이더라도 보고한 바 있고 1980년 Sterri등<sup>36)</sup>과 1981년 Fonnum 및 Sterri도<sup>13)</sup>도 soman과 sarine을 rat와 guinea pig에 12시간에서 24시간 간격으로 LD<sub>50</sub>의 50% 정도로 투여 했을때 24시간 간격으로 투여한 실험군에서 LD<sub>50</sub>의 4배~7배 까지의 용량에도 견디어 내는 저항성이 생겼다고 보고한 바 있다. 그러나 1949년 Dubois등<sup>9)</sup>은 종류는 다르나 같은 유기인제인 parathion의 여러 sublethal dose를 매일 rat의 복강내에 주사 했을때 parathion 투여량이 증가함에 따라 폐사율이 증가하는 축적작용이 나타났다고 보고 했으며 1951년 Barnes 및 Denz<sup>2)</sup>도 parathion을 사료내에 혼합하여 1년 동안 경구적으로 투여하였을때 만성독성을 관찰한 결과 75ppm과 100ppm수준에서 각각 82% 및 90%의 폐사율을 보여 parathion의 투여량에 비례하여 폐사율이 증가 한다고 보고 하였다. 저자 등의 실험(Table 2)에서도 60일 동안 이미 투여된 parathion의 축적량에 비례하여 폐사율이 증가함을 보여 내성작용은 형성되지 않고 축적효과가 나타남을 확인할 수 있었다.

한편 parathion의 반복투여에 대한 혈장내

cholinesterase 활성변화(Table 3)는 A군(0.58U/ml)에 비해 B군(0.47U/ml), C군(0.36U/ml)에서 19%, 38%까지 억제 되었고 AA군(0.31U/ml), BB군(0.26U/ml), CC군(0.17U/ml)에서도 47%, 55%, 71%까지 억제된바, 이는 1952년 Frawley등<sup>14)</sup>과 1960년 Edson 및 Noakes<sup>11)</sup>가 parathion을 사료내에 혼합하여 투여한 결과 25 ppm 및 125 ppm 수준에서 대조군에 비해 64%, 90%까지 억제 된다는 보고에서 처럼 체내 parathion의 투여량이 증가함에 따라 혈장내 cholinesterase활성은 더욱더 억제되고 있음을 알 수 있다. 그리고 parathion을 복강내에 반복적으로 투여 했을때에 척수내 cholinesterase활성도에 미치는 영향은 A군(2.48U/g)에 비해 B군(1.87U/g), C군(1.29U/g)에서 각각 25% 및 48%까지 억제 되었고 AA군(1.27U/g), BB군(0.71U/g), CC군(0.25U/g)에서도 A군에 비해 49%, 71%, 90%까지 억제됨을 보였다.

뇌의 cholinesterase활성에 미치는 영향(Table 5)도 A군(4.67U/g)에 비해 B군(2.52U/g), C군(1.32U/g)에서 각각 46% 및 72%까지 억제 되었고 AA군(2.48U/g), BB군(1.08U/g), CC군(0.51U/g)에서는 각각 47%, 77% 및 89%까지 억제되어 parathion의 체내 투여량이 증가함에 따라 척수 및 뇌의 cholinesterase 활성도가 더욱더 억제됨을 알 수 있다. 이는 1960년 Edson 및 Noakes<sup>11)</sup>가 사료내에 parathion을 혼합하여 rat에게 투여한 결과 25 ppm에서 11%, 125 ppm에서 91%의 뇌 cholinesterase 활성도가 억제 되었다고 보고 하였고 1949년 Dubois등<sup>9)</sup>도 1mg/kg의 parathion을 rat의 복강내에 투여하니 정상 뇌 cholinesterase활성에 비해 76%나 억제되어 축적작용이 일어난다는 보고와 1981년 Mount 및 Oehme<sup>25)</sup>의 소 및 양이 유기인제에 중독시 뇌의 cholinesterase 활성이 50~80%까지 억제 된다는 등의 보고와 일치하는 억제작용이 나타남을 알 수 있었다.

한편 1952년 Frawley등<sup>14)</sup>은 유기인제 중독에 의한 폐사시 혈액내 비단백 질소 화합물이 약간 증가한다고 보고한 바 있고 1952년 Rider<sup>34)</sup>등은 유기인제가 체내에 반복투여 되면 cholinesterase 활성이 억제되는 만큼 보상성으로 효소 단백질인 cholinesterase 합성이 간에서 활발히 일어난다고 보고한 바 있다. 이에 저자들은 parathion을

rat의 복강내에 반복적으로 투여한후 비단백 질소 화합물인 urea nitrogen 함량과 creatinine 함량에 어떠한 영향을 미치는지 알아본 결과(Table 6), 혈장내 urea nitrogen 함량은 parathion에 노출된 B군(40.9mg/dl)과 C군(41.4mg/dl)에서 A군(39.8mg/dl)에 비해 증가하는 경향을 보였으나 유의성있는 차이는 보이지 않았으며 creatinine 함량도 A군(1.15mg/dl)에 비하여 B군(0.90mg/dl) 및 C군(1.08mg/dl)에서 다소 감소경향이 보였으나 유의성있는 차이는 없었다. 이와같이 parathion의 반복투여로 체내의 단백질 대사산물인 urea nitrogen과 근육내 고에너지 원인 creatine의 대사산물인 creatinine 에는 큰 변동이 없음을 보여준다.

이상에서 살펴본 바와 같이 parathion에 노출되는 동안 rat의 성장율은 감소하지만 혈액내 비단백 질소 화합물인 urea nitrogen 함량과 creatinine 함량에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료되어 혈액 및 신경조직내 cholinesterase 활성은 체내에 투여되는 parathion량에 비례하여 심한 억제작용을 나타냄을 알 수 있었다. 아울러 강력한 cholinesterase 억제제인 parathion이 rat의 체내에 반복적으로 투여되면 치사량에도 견딜 수 있는 체내에 내성작용은 생기지 않고 오히려 치사량에 폐사율이 증가함을 알 수 있었으나 이에 대한 상세한 작용 기전에 관해서는 앞으로 계속 연구 해야될 과제라고 생각된다.

## 적 요

parathion을 rat의 복강내에 매 3일 마다 20회 반복적으로 주사 했을때, 일정한 농도의 parathion을 주사한 rat와 점진적으로 주사량을 증가 시켰을때 rat의 독성정도, 혈액 및 신경조직내 cholinesterase 활성 변화, 혈액내 urea nitrogen 및 creatinine의 함량을 측정된 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

복강내 주사시 rat에 대한 parathion의 LD<sub>50</sub>는 10.5mg/kg였으며 95% 신뢰한계는 6.6~16.8mg/kg였다.

아급성 독성실험에서는 A군이 50%의 폐사율을 보이는데 비하여 B군과 C군에서 각각 57% 및 83%의 폐사율을 보여 parathion에 대한 축적효

과가 나타났으며 증체량 측정에서도 A군에서 123g의 증체량을 보이는데 비하여 B군과 C군에서 각각 60.7g, 및 88.4g의 증체량을 보여 parathion 투여군에서 체중 증가량이 감소 하였다.

혈장내 cholinesterase 활성도는 A군(0.58U/ml)에 비해 B군(0.47U/ml)과 C군(0.36U/ml)에서 각각 19%, 및 38%의 억제를 보였고 AA군(0.31U/ml), BB군(0.26U/ml) 및 CC군(0.17U/ml)에서도 A군에 비해 각각 47%, 55%, 71%까지 유의성(P<.05)있는 감소를 보였다.

척수내 cholinesterase 활성도는 A군(2.484U/g)에 비하여 B군(1.87U/g)과 C군(1.29U/g)에서 각각 25%, 및 48%의 억제를 보였으며 AA군(1.27U/g), BB군(0.71U/g) 및 CC군(0.25U/g)에서도 A군에 비하여 각각 49%, 71%, 및 90%의 유의성(P<.01)있는 억제를 보였다.

뇌의 cholinesterase 활성도에서는 A군(4.67U/g)에 비해 B군(2.52U/g)과 C군(1.32U/g)에서 각각 46%, 및 72%로 억제 되었고 AA군(2.48U/g), BB군(1.08U/g) 및 CC군(0.51U/g)에서는 A군에 비해 각각 47%, 77%, 및 89%까지 유의성(P<.01)있게 억제되는 축적효과를 보였다. 비단백 질소 화합물인 urea nitrogen과 creatinine 함량은 A군에서 각각 39.8mg/dl와 1.15mg/dl인데 비하여 B군(40.9mg/dl, 0.90mg/dl) 및 C군(41.4mg/dl, 1.08mg/dl)에서 유의성 있는 차이를 보이지 않았으나 urea nitrogen 함량은 A군에 비해 B군과 C군에서 다소 증가하는 경향을 보였다.

## 引用 文 獻

1. Barker, S. B. 1944. The direct colorimetric determination of urea in blood and urine, J. Biol. Chem., 152 : 453~463.
2. Barnes, J.M. and Denz, F.A. 1951. The chronic toxicity of p-nitrophenyl diethyl thiophosphate(E 605), J. Hyc., 49 : 430~441.
3. Boskovic, B., Tadic, V. and Kusic, R. 1980. Reactivating and protective effects of pro-2-PAM in mice poisoned with paraoxon, Toxicol. Appl. Phamacol., 55 : 32~36.
4. Brodeur, J. and Dubois, K.P. 1963. Comparision of acute toxicity of anticholinesterase



- insecticides to weanling and adult male rats, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 114(2) : 509~511.
5. Clarke, M. L. 1981. *Veterinary toxicology*, 2nd ed., Bailliere Tindall Pub., London. pp. 146~152.
  6. Davison, A. N. 1955. The conversion of Schradan(OMPA) and Parathion into inhibitors of cholinesterase by mammalian liver, *Biochem. J.*, 61 : 203~209.
  7. Dietz, A. A., Rubinstein, H. M. and Lubrano, T. 1973. Colorimetric determination of serum cholinesterase and its genetic variants by the propionylthiocholine-dithiobis(nitrobenzoic acid) procedure, *Clin. Chem.*, 19 : 1309~1313.
  8. Doull, J., Klaassen, C. D. and Amdur, M. O. 1980, Casarett and Doull's *Toxicology*, 2nd ed., Macmillan Pub., New York, pp. 365~375.
  9. Dubois, K. P., Doull, J., Salerno, P. R. and Coon, J. M. 1949. Studies on the toxicity and mechanism of action of p-nitrophenyl diethyl thionophosphate (parathion), *J. Pharmacol. Exp. therap.*, 95 : 79~91.
  10. Dubois, K. P. and Puchala, E. 1961. Studies on the sex difference in toxicity of a cholinergic phosphorothioate, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 107 : 908~911.
  11. Edson, E. F. and Noakes, D. N. 1960. The comparative toxicity of six organophosphorus insecticides, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2 : 523~539.
  12. Fish, S. A. 1966. Organophosphorus cholinesterase inhibitors and fetal development, *Am. J. Obst. Gynec.*, 96 : 1148~1154.
  13. Fonnum, F. and Sterri, S. H. 1981. Factors modifying the toxicity of organophosphorus compounds including soman and sarin, *Fundam. App. Toxicol.*, 1 : 143~147.
  14. Frawley, J. P., Hagan, E. C. and Fitzhugh, O. G. 1952. A comparative pharmacological and toxicological study of organic phosphate-anticholinesterase compounds, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 105 : 156~165.
  15. Gaines, T. B. 1960. The acute toxicity of pesticides to rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2 : 88~99.
  16. Gaines, T. B., Hayes, W. J. and Linder, R. E. 1966. Liver metabolism of anticholinesterase compounds in live rats ; Relation to toxicity, *Nature*, 209(5018) : 88~89.
  17. Hartwell, W. V. and Hayes, G. R. 1965. Respiratory exposure to organic phosphorus insecticides, *Arch. Environ. Health.*, 11 : 564~568.
  18. Hayes, W. J. 1965. Parathion poisoning and its treatment, *J. A. M. A.*, 192 : 135~136.
  19. Hazleton, L. W. and Holland, E. C. 1950 (Abstract). *Pharmacology and toxicology of parathion*, *Adv. Chem. Series No. 1*, 31 : 31~38.
  20. Hitchcock, M. and Murphy, S. D. 1971. Activation of parathion and guthion by mammalian, avian and piscine liver homogenates and cell fractions, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 19 : 37~45.
  21. Karlson, R. L. and Sterri, S. 1981. Reference values for erythrocyte acetylcholinesterase and plasma cholinesterase activities in children, implications for organophosphate intoxication, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 41 : 301~302.
  22. Litchfield, J. T. and Wilcoxon, F. 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 96 : 99~113.
  23. McCance, R. A., Widdowson, E. M. and Hutchinson, A. O. 1948. Effect of under-nutrition and alterations in diet on the cholinesterase activity of serum, *Nature*, 161 : 56~57.
  24. Mehlman, M. A. 1976. *New concepts in safety evaluation*, 1st ed., Hemisphere Pub., Washington, pp. 312~313.
  25. Mount, M. E. and Oehme, F. W. 1981. Brain cholinesterase activity in health cattle, swine and sheep and in cattle and sheep exposed

- to cholinesterase inhibiting insecticides, *A. J. V. R.*, 42 : 1345~1350.
26. Nabb, D. P., Stein, W. J. and Hayes, W. J. 1966. Rate of skin absorption of parathion and paraoxon, *Arch. Environ. Health*, 12 : 501~505.
  27. Nakatsugawa, T., Tolman, N.M. and Dahm, P. A. 1969. Degradation of parathion in the rat, *Biochem. Pharmacol.*, 18 : 1103~1114.
  28. Neskovic, N., Vitorovic, S. and Plesnicar, M. 1973. The role of liver microsomal enzymes in the metabolism of parathion, *Biochem. Pharmacol.*, 22 : 2943~2946.
  29. O'Brien, R. D. 1965. The role of activating and degrading enzymes in determining species specificity of toxicants, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 123 : 156~162.
  30. Osweiler, G. D., Carson, T. L., Buck, W. B. and Van Gelder, G. A. 1985. *Clinical and diagnostic veterinary toxicology*, 3rd. ed., Kendall/Hunt Pub., Iowa, pp. 298~316.
  31. Owen, J. A., Iggo, B., Scandrett, F. J. and Stewart, C. P. 1954. The determination of creatinine in plasma or serum, and in urine, *Biochem. J.*, 58 : 426~437.
  32. Quinby, G. E., Loomis, T. A. and Brown, H. W. 1963. Oral occupational parathion poisoning treated with 2-PAM iodide, *New. Eng. J. Med.* 268 : 639~643.
  33. Radeleff, R. D. and Woodard, G. T. 1957. The toxicity of organic phosphorus insecticides to livestock, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 130 : 215~216.
  34. Rider, J. A., Ellinwood, L. E. and Coon, J. M. 1952. Production of tolerance in the rat to octamethyl pyrophosphoramidate(OMPA), *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 81 : 455~459.
  35. Rohwer, S. A. and Haller, H. L. 1950. Pharmacology and toxicology of certain organic phosphorus insecticides, *J.A.M.A.*, 144 : 104~108.
  36. Sterri, S. H., Lyngaas, S. and Fonnum, F. 1980. Toxicity of soman after repetitive injection of sublethal doses in rat, *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 46 : 1~7.
  37. Tanimura, T., Katsuya, T. and Nishimura, H. 1967. Embryotoxicity of acute exposure to methyl parathion in rats and mice, *Arch. Environ. Health.*, 15 : 609~613.
  38. 金鎮洙·李亨浩·金鴻榮·洪元杓·李復熙. 1970. Parathion 中毒(52例)에 對한 臨床的 觀察, *大韓內科學會雜誌*, 13(2) : 73~79.
  39. 趙載英·張權烈, 1986, *實驗統計分析法*, 十版, 鄉文社, 서울, pp. 104~106.