

흰쥐에서 출생 후 납중독에 의한 중추신경계 독성의 선택성 연구

한병희 · 고광호

서울대학교 약학대학 약리학교실

(1988. 5. 10 접수)

출생직후부터 새끼쥐에 유발시킨 납중독이 중추의 특정 신경계에 미치는 신경독성의 선택성 여부를 알아보고자 하였다. 특정 신경계의 한 예로 모노아민성 신경계를 선택하여 납중독의 지표로 모노아민성 신경계의 효소인 MAO (mono-amine oxidase)의 활성을 측정하였으며, 비특정 조직의 지표로 Na^+K^+ -ATPase의 활성을 측정하였다. Wistar 계의 흰쥐에서 태어난 새끼들에게 출생직후부터 전실험기간을 통해 0.05% 혹은 0.2% 초산납 (Pb-Ac_2) 용액을 식수로 공급하여 납중독을 유발시켰다. 생후 2, 4, 6 및 8주된 새끼쥐의 MAO 및 Na^+K^+ -ATPase 활성을 대뇌, 간뇌, 중뇌, 뇌교-연수 및 소뇌 등 다섯부위에서 각기 측정하였다. 효소의 활성이 변화를 나타낸 경우 MAO 활성은 항상 증가되는 것을 보였으나 Na^+K^+ -ATPase 활성은 대조군에 비해 감소되었다. 출생후의 납중독은 새끼쥐의 중추신경계의 MAO 활성을 대뇌 (2주), 중뇌 (4주), 뇌교-연수 (2주) 및 소뇌 (2주, 4주, 6주, 8주)에서 변화시켰으나 Na^+K^+ -ATPase 활성은 변화시키지 않았으며 이러한 결과는 출생후 납중독이 야기되는 중추신경계의 독성이 선택성을 나타냄을 밝히는 증거로 시사된다.

서 론

납 (Pb)은 유기물 또는 무기물의 형태로 자연계에 존재하여 생체내에서 독성을 유발하며 독성발현의 표적기관으로는 중추신경계, 말초신경계, 생식기계, 신장 및 조혈기계 등이 있어서 그 영향의 범위가 광범위하다 (Cross *et al.* 1975; Hammond and Beliles 1980; Seppalainen *et al.* 1975). 이 중 중추신경계는 발병율과 사망율의 관점 뿐만아니라 성장과정중 미성숙단계에서 부터 민감한 영향을 받는다는 면에서도 납중독의 가장 중요한 표적기관으로 알려져 있다. (Holtzman and Shen Hsu 1976; Donald *et al.* 1986). 납중독에 의해 일어나는 중추신경계의 변화는 뇌부종, 축색손상(axonal damage), 괴사 등의 형태학적 손상 (Holtzman *et al.*, 1978; Lefauconnier *et al.* 1983) 뿐만아니라 공격성, 간질, 지둔, 상동증 (stereotype behavior) 등의 행동학적 이상 (Silbergeld and Goldberg 1973; Schwark *et al.* 1983)도 포함한다. 중추의 모노아민성 신경전달과정은 포유류의 행동과 정서에 중요한 역할을 하므로 (Marvin 1985; Kruk 1973) 납중독에 의해 유발되는 행동, 정서적 증상들이 중추에서의 신경전달과 관련이 있을 것이라는 점에 착안하여 최근 이 분야의 많은 연구가 진행되었다. 납에 노출시킨 설치류의 중추신경계에서 뇌-혈관 관문의 투과성 변화 (Turnbull and Brodeur 1984), 도파민신경계 활성변화 (Memo *et al.* 1981; Lucchi *et al.* 1981), GABA 신경계 활성변화 (Silbergeld *et al.* 1980; Bailey and Kitchen 1986), enkephalin 함량변화 (Winder *et al.* 1984) 핵산염기 대사변

화 (Grundt and Neskovic *et al.* 1985) 및 카테콜아민 신경계 활성변화 가능성 (Golter and Michaelson 1975) 등에 관한 연구결과들이 보고된 바 있고 이러한 변화들을 투여된 납의 농도에 따라 그 발생여부 또한 발생정도에 차이를 보이는 경우가 있었다. 그럼에도 불구하고 납중독에 의한 이들 신경계의 변화가 중추신경계 내의 특정 신경계에 대한 납의 선택적인 작용에 기인하는 것인지, 혹은 중추 비특정조직 전반에 대한 납의 비선택적인 작용에 기인하는 것인지 여부는 아직 밝혀지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 중추의 특정 신경계의 한 예로서 모노아민성 신경계를 선택하여 이에 대한 독성의 지표로 모노아민성 신경계에 존재하는 효소인 MAO (monoamine oxidase)와 중추 비특정 조직에 대한 독성의 지표로는 비특정 조직전반에 분포되어 있는 효소인 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 를 기준으로 하여 자기 다른 농도의 납에 의한 중독된 흰쥐에서 두뇌 부위별로 이들 효소의 활성을 측정하여 정상동물의 경우와 비교하여 봄으로써, 납중독에 의한 신경독성의 선택성 여부를 알아 보고자 하였다. 어린 동물에 납중독을 유발시키는 두가지 방법인 출생전 납중독과 출생후 납중독의 방법중에서 출생전 납중독에 관한 실험결과를 이미 발표한 바 있으므로 (Ko and Lee 1987) 본 연구에서는 출생후에 납중독 시킨 새끼쥐의 중추신경계에서 납독성의 신경계 선택성 여부를 알아보고자 하였다.

실험재료 및 실험방법

실험동물

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

시 약

Serotonin, bovine serum albumin, Folin-Ciocalteu reagent, ouabain, Tris-ATP는 Sigma Chemicals 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 탈이온된 2차 증류수를 사용하였다.

실험디자인

10주된 Wistar rat의 자성과 음성을 교배시켜 얻은 새끼를 출생 직후에 대조군, 저용량 및 고용량 납투여군으로 분류하였다. 저농도의 납투여군 및 고농도의 납투여군에는 0.05%와 0.2%의 초산납이 함유된 식수를 각각 공급하였고 각각의 대조군에는 동일한 농도의 초산나트륨을 식수에 녹여 공급하였다. 새끼의 수는 각 어미쥐 한마리당 10마리만 취하여 사용하였고 모든 새끼쥐는 출생후 3주 되는날 어미쥐로부터 격리시켰다. 납의 투여는 출생직후부터 전 실험기간을 통하여 계속하였다. 효소활성 측정은 모두 이들 새끼쥐들에서 시행하였으며 각 새끼쥐가 출생 후 2주, 4주, 6주, 8주 되는날 쥐의 두뇌로부터 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 와 MAO의 활성을

측정하여 대조군과 납투여군의 경우를 비교하였다.

뇌의 부위별 분리

$\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 와 MAO 활성은 하루 중에도 시각에 따라 다소의 변동이 있음이 보고된 바 있으므로 실험동물을 실험일 오전 10시를 전후하여 단두치사시켜 즉시 뇌를 적출하여 얼음판 위에서 Miller 등의 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 네부위로 분리하였다.

$\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 활성의 측정

쥐의 뇌 조직에서 각 부위별로 Morgan 등의 방법에 의해 microsomal fraction을 얻어 효소원으로 사용하였다. $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 활성은 Silva 등의 방법에 의해 Tris-ATP를 기질로 하여 측정하였고 반응후 유리된 phosphate의 양은 Fiske 및 Subbarow법을 개선한 Lebel 등의 방법에 의해 870nm에서 U. V. spectrometer (L. K. B.)를 이용하여 측정하였다. $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 활성은 총 ATPase 활성에서 $\text{Mg}^{++}\text{-ATPase}$ 활성을 제한 값으로 하였으며 micromole Pi/mg protein/1 hr의 단위로 표시하였다.

MAO 활성의 측정

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

단백질 함량의 측정

뇌조직 중의 단백질 함량은 Lowry 등의 방법에 의해 측정하였다.

유의성 검정

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

실험결과

대뇌에서의 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 와 MAO 활성변화

대뇌에서의 효소활성 측정치는 Table 1에 나타나 있다. $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 활성은 저용량 납투여군의 출생후 8주에서, 고용량 납투여군에서 출생 후 2주, 6주, 8주에서 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었으며 MAO 활성은 저용량 납투여군에서 출생 후 2주, 4주에서, 고용량 납투여군에서 출생 후 2주 및 8주에 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다.

Table 1. Effect of postnatal lead intoxication MAO and Na⁺K⁺-ATPase activities in Telen-
cephalon of newborn rats.

Enzyme	Group	MAO and Na ⁺ K ⁺ -ATPase activity (micromole/mg protein/hr)			
		2 weeks of age	4 weeks of age	6 weeks of age	8 weeks of age
MAO	Control	0.185±0.005	0.155±0.005	0.123±0.006	0.122±0.003
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		9.36±0.50	12.23±0.29	16.02±0.89	18.50±0.56
MAO	Low dose	0.238±0.005**	0.169±0.002*	0.127±0.007	0.127±0.007
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		7.60±1.16	10.24±1.90	11.55±1.38	15.56±0.43*
MAO	High dose	0.233±0.006**	0.171±0.006	0.125±0.007	0.147±0.004**
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		5.98±1.15*	9.39±1.37	11.40±0.95*	13.98±1.09*

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)

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

Table 2. Effect of postnatal lead intoxication on MAO and Na⁺K⁺-ATPase activities in
Diencephalon of newborn rats.

Enzyme	Group	MAO and Na ⁺ K ⁺ -ATPase activity (micromole/mg protein/hr)			
		2 weeks of age	4 weeks of age	6 weeks of age	8 weeks of age
MAO	Control	0.208±0.004	0.165±0.004	0.122±0.007	0.121±0.006
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		11.00±0.74	12.23±0.88	18.23±2.38	19.44±0.68
MAO	Low dose	0.237±0.002**	0.175±0.005	0.133±0.008	0.132±0.005
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		7.53±0.35**	11.91±0.61	15.39±0.86	16.46±1.71
MAO	High dose	0.248±0.003**	0.188±0.003**	0.135±0.006	0.149±0.004**
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		8.26±0.77*	9.70±1.10*	10.38±0.86*	17.79±0.25*

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)

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 3. Effect of postnatal lead intoxication on MAO and Na⁺K⁺-ATPase activities in midbrain of newborn rats

Enzyme	Group	MAO and Na ⁺ K ⁺ -ATPase activity (micromole/mg protein/hr)			
		2 weeks of age	4 weeks of age	6 weeks of age	8 weeks of age
MAO	Control		0.160±0.003	0.130±0.008	0.126±0.002
Na ⁺ K ⁺ -ATPase			14.04±1.04	19.35±2.10	23.17±1.12
MAO	Low dose		0.164±0.004	0.150±0.009	0.141±0.005*
Na ⁺ K ⁺ -ATPase			11.77±4.09	18.90±0.32	16.94±1.15**
MAO	High dose		0.181±0.004*	0.147±0.004*	0.153±0.007*
Na ⁺ K ⁺ -ATPase			12.04±1.67	14.03±2.53	14.88±0.87**

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)

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

Table 4. Effect of postnatal lead intoxication on MAO and Na⁺K⁺-ATPase activities in Pons/Medulla of newborn rats.

Enzyme	Group	MAO and Na ⁺ K ⁺ -ATPase activity (micromole/mg protein/hr)			
		2 weeks of age	4 weeks of age	6 weeks of age	8 weeks of age
MAO	Control	0.179±0.003	0.147±0.004	0.114±0.012	0.115±0.003
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		10.38±1.79	12.33±0.96	18.85±0.83	20.60±2.15
MAO	Low dose	0.234±0.006**	0.168±0.005*	0.138±0.003	0.131±0.004*
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		7.58±1.57	12.55±0.52	15.39±1.34	18.95±0.93
MAO	High dose	0.218±0.005**	0.161±0.008	0.105±0.004	0.114±0.003
Na ⁺ K ⁺ -ATPase		6.84±1.39*	10.16±0.80*	11.88±0.61**	15.10±1.73

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)

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

간뇌에서의 Na^+K^+ -ATPase와 MAO 활성변화

간뇌 (2주의 실험결과는 간뇌와 중뇌를 합한 부위)에서의 효소활성 측정치는 Table 2에 나타나 있다. 저용량 납 투여군에서는 출생 후 2주에서만 Na^+K^+ -ATPase 활성감소와 MAO 활성증가가 대조군에 비해 유의성 있게 나타난 반면 고용량 납 투여군에서는 전 실험기간을 통하여 Na^+K^+ -ATPase의 활성감소와 출생후 6주를 제외한 모든 경우의 MAO 활성 증가가 관찰되었다.

중뇌에서의 Na^+K^+ -ATPase와 MAO 활성변화

중뇌에서의 효소활성 측정치는 Table 3에 나타나 있다. 저용량 납 투여군에서 Na^+K^+ -ATPase 활성감소와 MAO 활성 증가는 출생후 8주에서만 대조군에 비해 유의성 있게 나타났다. 고용량 납 투여군에서의 경우 Na^+K^+ -ATPase 활성은 출생후 8주에서만 대조군에 비해 유의성 있게 감소된 반면 MAO 활성은 전 실험기간을 통하여 전부 유의성 있는 증가를 나타내었다.

뇌교-연수에서의 Na^+K^+ -ATPase와 MAO 활성변화

뇌교-연수에서의 효소활성 측정치는 Table 4에 나타나 있다. 저용량 납 투여군에서 Na^+K^+ -ATPase 활성변화는 전 실험기간을 통해 관찰되지 않았으나 MAO 활성은 출생 후 2주, 4주 및 8주에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다. 고용량 납 투여군에서 Na^+K^+ -ATPase 활성은 전 실험기간을 통해 대조군에 비해 유의성 있게 감소했으며 MAO 활성은 출생 후 2주에서만 대조군에 비해 유의성 있게 증가되었다.

Table 5. Effect of postnatal lead intoxication on MAO and Na^+K^+ -ATPase activities in Cerebellum of newborn rats.

Enzyme	Group	MAO and Na^+K^+ -ATPase activity (micromole/mg protein/hr)			
		2 weeks of age	4 weeks of age	6 weeks of age	8 weeks of age
MAO	Control	0.102±0.003	0.084±0.004	0.080±0.006	0.076±0.008
Na^+K^+ -ATPase		6.34±0.50	9.00±1.15	12.28±0.71	13.75±1.46
MAO	Low dose	0.191±0.007**	0.102±0.004*	0.095±0.009	0.090±0.006
Na^+K^+ -ATPase		5.92±0.53	9.63±1.43	10.44±1.36	13.80±1.24
MAO	High dose	0.212±0.008**	0.122±0.004**	0.108±0.005*	0.115±0.005**
Na^+K^+ -ATPase		3.42±0.22**	7.90±0.79	10.91±2.18	12.46±0.70

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)

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

소뇌에서의 Na^+K^+ -ATPase와 MAO 활성변화

소뇌에서의 효소활성 측정치는 Table 5에 나타나 있다. 저용량 납 투여군에서 Na^+K^+ -ATPase 활성은 전 실험기간을 통하여 대조군과 차이가 없었으며 MAO 활성은 출생 후 2주 및 4주에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다. 고용량 납 투여군에서 Na^+K^+ -ATPase 활성은 출생후 2주에서만 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타낸 반면 MAO 활성은 전 실험기간을 통하여 대조군 보다 유의성 있게 증가되었다.

고 찰

납에 의한 독성의 조직별 선택성은 납 투여에 의한 특정조직에서의 독성발현 여부와 납투여량과의 상관성을 연계시켜야만 판별이 가능하다. 본 연구에서 납에 의한 독성의 선택성 여부를 뇌조직에서 관찰한 것은 납중독이 중추신경계에서의 신경전달과정과 관련이 있다는 보고들이 있기 때문이다 (Golter and Michaelson 1975; Luchi *et al.* 1981; Flora and Tandon 1987).

뇌 조직중에서도 모노아민성 신경계를 본 연구에서 실험대상으로 한 이유는 뇌조직에 존재하는 많은 신경계 중에서 특정 신경계의 한가지로 선택하기 위한 선별 조건에 모노아민성 신경계가 적합했기 때문이다. 우선 모노아민성 신경계의 뇌조직내 분포 농도가 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 있을 뿐 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 식수중에 0.05% 및 0.2%로 결정한 것은 납중독의 실험적 유발에서 경미한 독성 또는 심한 독성의 발현이 이러한 농도에서 보고된 바 있으므로 (Collins *et al.* 1984) 본 실험의 목적에서 염두해 둔 납의 투여량에 근거한 독성의 선택성을 찾는데 적합할 것으로 생각되었기 때문이다. 중추의 특정 신경계로 선택한 모노아민성 신경계는 그 활성 변화의 기준을 MAO 활성변화로 하였고 중추의 비특정 조직의 활성변화의 기준은 Na^+K^+ -ATPase로 하였다. 즉 납 투여후 나타나는 MAO 활성변화는 납의 모노아민성 신경계에 대한 영향의 결과이고 Na^+K^+ -ATPase 활성변화는 납의 중추신경계 전반에 걸친 영향의 결과로 간주할 수 있기 때문이다. Na^+K^+ -ATPase는 중추의 비특정 조직 전반에 걸쳐 존재하며 (Godfraind *et al.* 1975) 뇌 조직 중의 MAO는 주로 뇌에서의 모노아민류의 생리적 불활성화에 기여하며 기질 및 효소 억제제의 종류에 따라 MAO-A와 MAO-B로 구분한다 (Mitra and Gyha 1978). MAO-A는 모노아민성 신경세포에 주로 존재하며 (Arnaiz *et al.* 1962) MAO-B는 비 신경성 세포에 주로 존재하는 바 (Student and Edwards 1977), 본 실험에서 측정된 MAO는 세로토닌을 기질로 하는 MAO-A이었다. 납을 투여받은 동물에서 관찰된 결과가 Na^+K^+ -ATPase와 MAO 활성의 동시 변화로 나타나는 경우 모노아민성 신경계에 대한 납중독의 영향은 모노아민성 신경계에 대한 선택성에 기인한다기 보다는 일반조직 전반에 대한 납중독의 일부로서 나타난 것으로 해석되고 Na^+K^+ -ATPase 활성변화가 나타나지 않는 단계에서 MAO 활성변화만 나타나는 경우에 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 비특정 조직 전반에 확산되어 영향을 미치는지를 실험결과로부터 구분할 수 있을 것이다.

본 실험에서 관찰된 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 및 MAO의 정상동물에서의 활성은 동물의 연령 증가에 따라 각각 증가 또는 감소하는 경향을 보였고 이 결과는 Bourgain 등의 보고와도 일치하였으므로 본 실험에서 대조군의 실험치로 사용할 수 있는 값으로 간주하였다. 납중독에 의해 나타난 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 활성변화를 동일한 연령에서의 정상동물군과 비교하면, 효소활성의 변화가 나타나는 경우에 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 활성은 정상동물보다 감소되고 MAO 활성은 증가하는 일관성 있는 변화가 관찰되었고 저용량 투여군에 비해 고용량 투여군에서의 효소활성 변화의 빈도 또는 정도가 크게 나타났다. 이것은 납중독에 의해 야기되는 효소활성의 변화양상이 투여한 납을 기준하여 용량의 의존성을 나타내는 것으로 설명될 수 있다. 효소활성의 변화양상과 동물의 연령 사이에는 정상동물의 경우 일관된 상관성을 나타내고 있다. 즉 대조군에서 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 의 활성은 연령증가에 따라 증가하는 반면 MAO 활성은 감소하는 경향을 나타내고 있다. 납중독된 동물의 경우 효소활성에서 대조군에 비해 유의성 있는 증가 또는 감소를 나타내는지 여부와는 상관없이 효소활성의 변화양상은 연령에 따라 대조군과 비슷하였다. 그러나 납중독에 따른 효소활성 변화의 연령상의 발현 시작점은 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 와 MAO의 경우 차이를 나타내고 있다. 납중독에 의한 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 활성감소는 출생후 2주에서 시작하는 경우 대부분 연령증가 즉 납 투여기간의 증가에 따라 지속되는 경우가 대부분이었으나 MAO 활성 증가는 연령증가 즉 납 투여기간의 증가에도 불구하고 항상 그 증가 양상이 지속되는 것은 아니었다. 이것은 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 에 비해 MAO는 뇌의 발육이 완전하지 않은 상태에서 납중독에 대해 민감한 영향을 받으며 이러한 발육과정에서의 모노아민성 신경계의 납에 대한 감수성 차이는 납이 모노아민성 신경계에 미치는 작용에 대해 투여한 납의 단순한 양적 증가가 미치는 정도보다 더 큰 중요성을 지닐 수 있음을 암시한다고 생각된다.

납중독의 선택성에 관해서 본 연구결과는 두가지의 설명을 가능하게 한다. 저용량 또는 고용량 납 투여군 모두에서 MAO 활성변화만 나타나고 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 활성변화는 초래되지 않은 뇌조직 부위와 두가지 효소활성에 모두 변화를 나타내는 뇌조직 부위에 대한 설명이다. 전자의 경우는 저용량 납 투여군에서 출생후 2주의 대뇌, 뇌교-연수, 소뇌, 출생후 4주의 소뇌 등이 해당되며 고용량 납 투여군에서 출생후 4주의 중뇌, 출생후 6주의 중뇌, 소뇌 및 출생후 8주의 소뇌 등이 해당되며 이들 부위에서는 납중독의 모노아민성 신경계에 대한 선택적 독성이 발현된 것으로 해석할 수 있다. 후자의 경우는 저농도 납 투여군에서 출생 후 8주의 중뇌가 해당하며 고용량 납 투여군에서 출생후 2주의 대뇌, 간뇌, 뇌교-연수, 소뇌, 출생후 4주의 간뇌, 출생후 8주의 대뇌, 중뇌 및 뇌교-연수 등이 이에 해당한다. 이들 두뇌 부위에서 MAO 활성에 변화가 왔다하더라도 일반조직 전반에 비특이적으로 존재하는 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 의 활성변화가 수반되었으므로 모든 세포조직에 대한 납의 비선택적인 독성발현의 일환으로서 모노아민성 신경계에도 영향을 미친 것으로 생각할 수 있기 때문이다. 그러나 이들 부위가 본 연구에서 사용된 고농도의 납인 0.2% 보다는 낮으나 본 실험에서 저용량으로 사용된 납 농도인 0.05% 보다는 높은 중간 농도의 납에 노출되었을 때에도 독성의 선택성 여부를 나타내지 않을 것인지 여부는 계속적인 연구를 필요로 한다고 할 것이다. 이상의 결과들을 출생후 납중

독에 의한 독성이 중추 모노아민성 신경계에 대해 선택적임을 나타낸다. 다만, 이 선택성이 두뇌의 부위별로 차이가 나타난 것은 납의 두뇌 각 부위에 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. Ko and Lee (1987) 등의 연구결과는 출생전 납중독에 의한 독성이 중추 모노아민성 신경계에 대해 두뇌의 일부에서 선택적임을 나타내었지만 그때의 독성은 저농도인 0.05% 납 투여군에서는 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 뿐만 아니라 MAO 활성에도 전혀 영향을 미치지 않았고 고농도인 0.2% 납 투여군에서만 발현된 결과이었다. 이것은 본 연구에서 고농도 납 투여군 뿐만 아니라 저농도 납 투여군에서도 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 및 MAO 활성변화가 나타난 것과 비교되며 이러한 대조적인 실험결과의 차이는 출생전 납 투여와 출생후 납 투여의 투여경로의 차이에 기인하는 것으로 생각된다. 즉 동일 농도의 납이 새끼쥐에 투여되었다고 출생전 투여의 경우에는 어미쥐에 투여한 후 어미쥐의 젖을 통하여 간접적으로 새끼쥐에 전달된 반면 출생후 투여의 경우에는 식수를 통하여 새끼쥐에 직접 투여되었기 때문에 출생전 납 투여실험의 경우보다 출생후 납 투여의 경우 새끼쥐에 대한 납의 전달이 많아질 가능성이 있기 때문이다. 이것은 본 연구에서 주로 알아보고자 하는 모노아민성 신경계의 납독성에 대한 선택적 감수성의 중요성도 있지만 아울러 납의 조직내 농도분포와 관련된 계속적인 연구의 필요성도 아울러 제시한다고 생각된다. 본 실험의 결과에서 나타난 납중독의 중추 모노아민성 신경계에 대한 독성의 선택성은 납중독이 중추 모노아민성 신경계에 대한 독성의 선택성은 납중독이 중추 모노아민성 신경계 뿐만 아니라 다른 특정 신경계에서도 발현될 가능성이 있음을 암시한다.

REFERENCES

1. 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.
2. Bailey, C.C., and I. Kitchen (1986): Ontogeny of catecholamine and GABA levels in rat brain: Lack of effect of perinatal lead exposure. *Toxicol. Lett.* 30: 97-102.
3. 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.
4. 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.
5. 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: 185-188.
6. Cross, S.B., E.A. Pfitzer, D.W. Yeuger, and R.A. Kohoe (1975): Lead in Human tissues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 32: 638-651.
7. Donald, J.M., M.G. Cutler, M.R. Moore, and M. Bradley (1986): Effect of lead in the laboratory mouse-2. Development and social behavior after lifelong administration of a small dose of lead acetate in drinking fluid. *Neuropharmacol.* 25: 151-160.

8. Flora, S.J., and S.K. Tandon (1987): Effect of combined exposure to lead and ethanol on some biochemical indices in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 36: 537-541.
9. Godfraind, D., M.G. Wyllie, and D.V. Davison (1975): Nerve terminal ATPase as possible trigger for neurotransmitter release. *Nature.* 255: 237-238.
10. Goldstein, G.W., A.K. Asbury, and i. Diamone (1974): Pathogenesis of lead encephalopathy. *Arch. Neurol.* 31: 382.
11. Golter, M. and I.A. Michaelson (1975): Growth, behavior, and brain catecholamines in lead-exposed neonatal rats. *Science* 187: 359-361.
12. 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.
13. Holtzman, D., H.J. Shen, and P. Mortell (1978): The pathogenesis of lead encephalopathy in the rat pup. *Pediat. Res.* 12: 1077-1082.
14. Ko, K.H. and J.W. Lee (1987): Evaluation of selective CNS toxicity in prenatally lead exposed rats. *Envir. Mutag. Carcinog.* 7(2): 72-84.
15. Kruk, Z.L. (1973): Dopamine and 5-hydroxytryptamine inhibit feeding in rats. *Nature* 246: 52-53.
16. Lebel, D., G.G. Poipier, and A.R. Beausoison (1977): A convenient method for the ATPase assay. *J. Anal. Biochem.* 77: 86-89.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Marvin, Z. (1985): Sensation seeking, Mania, and monoamines. *Neuropsychobiology* 13: 121-128.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. Morgan, I.G. and D.A. Matthews (1971): Synaptic plasma membrane from rat brain synaptosomes. *Biochem. Biophys. Acta.* 249: 380.
25. Schwark, W.S., M. Haluska, K. Powell, and P. Blackshear (1983): Lead intoxication and the amygdaloid kindling model of epileptogenesis in adult rat. *Neurobehav. Toxicol. Teratol.* 5: 325-329.
26. Seppalainen, A.M., S. Tola, and S. Herhhey (1975): Subclinical Neuropathy at soft level of lead exposure. *Arch. Environ. Health.* 30: 180-183.

27. Silbergeld, E.K. and A.M. Goldberg (1973); A lead-induced behavioral disorder. *Life Sci.* 13: 1275-1283.
28. 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.
29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. Turnbull, J., and J. Brodeur (1984); Effect of growth retardation on the permeability of the blood-brain barrier in the newborn rat exposed to lead. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 62: 142-145.
33. Udenfriend, S., H. Weissbach, and B.B. Brodie (1958): *Method of Biochemical Analysis* 6: 95-130.
34. Winder, C., I. Kitchen, L.B. Clayton, S.M. Gardiner, J.M. Wilson, and P.D. Lewis (1984): The effect of perinatal lead administration on the ontogeny of striatal enkephalin levels in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 73: 30-34.
35. Whittaker, V.P. and L.A. Barker (1972): *Method of Neurochemistry* (Fried, R. ed.). Marcel Dekker, New York.

Evaluation of Selective CNS Toxicity in Postnatally Lead Exposed Rats

Byoung Hee Han and Kwang Ho Ko

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

The purpose of the present study was to address the question whether postnatally induced lead intoxication exhibits selective toxicity to specific central nervous system in newborn rats. Monoaminergic nervous system was chosen as an example of specific nervous system and monoamine oxidase (MAO) activity was determined as a criterion of specific lead poisoning while Na^+K^+ -ATPase activity was determined as a criterion of nonspecific lead poisoning. Wistar rats were employed in this experiment. Lead poisoning was induced by exposing newborn rats to either 0.05 or 0.2% lead acetate (PbAc_2) in their drinking water from the time of parturition. At 3 weeks of age, all experimental newborn rats were removed from their dams. At 2, 4, 6 and 8 weeks of age MAO and Na^+K^+ -ATPase activities were assayed in 5 areas of experimental rats brain; telencephalon, diencephalon, midbrain, pons-medulla and cerebellum. In every case when the activity of enzyme was altered, MAO activities were increased but Na^+K^+ -ATPase activities were decreased compared to control group.

Selective toxicity of lead poisoning to monoaminergic nervous system characterized by the change of MAO activity without concomitant change of Na^+K^+ -ATPase activity was found in telencephalon (2 weeks), midbrain (4 weeks), pons-medulla (2 weeks) and cerebellum (2, 4, 6, 8 weeks). The result in the present study suggests that postnatally induced lead poisoning may exhibit selective toxicity to monoaminergic nervous system in newborn rats.