

카드뮴 투여후 셀레늄과 Metallothionein의 독성효과

유용운 · 이기호

한국원자력연구소 원자력병원

요 약

카드뮴 독성의 반응을 파악하고 효과적인 치료방법을 제시하고자 백서에 CdCl₂ 용액을 경구투여하여 혈중 K⁺, Ca²⁺ 농도, glutamate oxaloacetate transaminase(GOT), glutamate pyruvate transaminase(GPT) 활성 및 c-AMP 농도를 경시적으로 측정하였다. 카드뮴 용액을 단독투여하면 혈중 K⁺ 농도에 비해 Ca²⁺ 농도의 감소가 유의하였으며, GOT와 GPT 및 c-AMP의 농도는 증가하였다.

카드뮴을 함유한 selenium 병용투여군과 metallothionein 병용투여군에서는 카드뮴 단독투여군에 비하여 혈중 Ca²⁺ 농도에 유의한 변화가 없었다. 그러나 카드뮴의 체내 오염시 관찰할 수 있는 독성지표로 혈중 GOT 및 GPT 활성과 c-AMP 농도의 상승이 selenium에 의하여 현저하게 감소하나 metallothionein에 의하여는 감소효과가 없었으므로, 카드뮴 투여로 증가한 이들 해독지표에 대한 보상효과는 selenium에서 현저함을 알 수 있었다.

서 론

이따이 이따이병의 원인물질인 카드뮴 중독증은 일본에서 1946년 Hagino에 의해 쌀농사를 짓는 주민으로부터 심한 관절 및 근육통의 호소를 명명함으로써 널리 알려진 증세이다[1]. 그 밖에 카드뮴에 의한 중독사례는 공업단지 지역 주민이 수질오염된 어패류에 농축된 것을 섭취하므로써 기인했다고 보고되고 있다[1-2].

현재 카드뮴중독에 대한 효과적인 예방제나 치료제는 거의 없으며, 단지 중금속중독에 관한 예방대책으로서 대기중에서 중금속의 방출을 억제시키는 법 규제와 환경수질 조사등이 실시되고 있는데 불과한 실정이다. 따라서 현재의 제도만으로는 카드뮴 중독증의 완전한 예방은 곤란하므로 진료방법의 개선이 시급히 요망된다. 일반적으로 식품으로 섭취된 미량의 카드뮴은

화합물의 종류와 조건에 따라 다른 증상을 유발시킨다. 입을 통해 섭취된 카드뮴과 그 화합물은 위액에서 용해되어 위점막을 자극하기 때문에, 오심, 구토, 복통, 설사등을 유발한다[3].

생체내 중금속이 흡수되었을 경우 셀레늄은 중금속의 유독성을 해독시키며[4-8], 생체내 자체의 해독기전으로는 중금속의 배설이 용이하도록 cysteine을 다량 함유한 저분자량의 수용성 단백질인 metallothionein(이하 MT라 표기한다)이 형성된다는 보고가 있다[9-12].

본 연구는 이와같은 사실을 근거로하여 셀레늄 또는 metallothionein을 카드뮴을 섭취한 백서에 공급하여 혈장내 주요 전해질인 Ca²⁺과 K⁺ 농도의 변화, GOT와 GPT 활성도 변화를 측정함과 동시에 c-AMP 농도 변화를 관찰하여 봄으로써 유해 중금속중독에 따른 해독작용의 효과를 비교 검토하여 보고한다.

실험방법

1. 실험동물 및 시약

실험동물은 체중 200g 내외의 웅성 sprague-Dawley 백서를 사용하였다. 실험 시작 1주일 전부터 사료와 물을 자유로이 섭취하도록 하면서 실험환경에 적응시켰다.

실험재료로 사용한 카드뮴($CdCl_2$), 셀레늄(Na_2SeO_3) 및 metallothionein은 미국의 Sigma사에서 구입하였다.

2. 실험군 및 투여방법

실험동물군에 쓰여진 실험동물수는 군당 7마리를 사용하였다. 본 연구에 사용한 카드뮴과 셀레늄은 생리식염수에 용해시켜 복강주사 혹은 물병을 통해 장기간 급수케 하였다. 대조군의 경우도 식염수를 복강주사하였다. 카드뮴의 투여는 Eaton등[13]의 투여방법에 따라 $CdCl_2$ 3.0 mg/kg/day 용량을 1회 복강주사로 실시하였고, selenium 투여용량은 Oh등[14]의 투여용량에 따라 저용량으로 selenium 1.0 mg/kg/day, 고용량으로 3.0 mg/kg/day을 채택하였다.

Metallothionein형성과 카드뮴대사와의 상호관계를 관찰하기 위하여, 중금속에 의한 metallothionein의 형성이 간장 및 신장에서 24시간 이내에 이루어지며, 그 생물학적인 반감기는 3-5일 정도라고 Shaiki등[15]이 보고한 것을 근거로 하여 카드뮴 투여후 1일, 3일, 5일에 실험하였다.

3. 실험방법

가. 혈장 전해질 측정법

실험동물을 에테르로 마취시킨 후 눈에서 모세관으로 혈액을 채취하여 EDTA병에 보관한 후 실온에서 30분간 방치하고 3000 rpm으로 15

분간 원심분리하여 혈장을 얻었다.

K^+ 의 농도는 Clinical chemistry analyzer 550 Express(CIBA Corning Co.)로 측정하였으며, Ca^{2+} 의 농도는 0-cresolbutalein으로 발색시킨 후 570 nm에서 비색법으로 측정하였다.

나. 혈장내 GOT와 GPT 활성도 측정

GOT와 GPT의 활성도는 GOT, GPT kit(아산제약)를 사용하여 $100\mu l$ 의 혈장시료에 대한 흡광도를 340 nm에서 측정하였다.

다. 혈장내 c-AMP의 측정

혈장내 c-AMP의 농도는 영국의 Amersham에서 구입한 cyclic AMP 분석용 kit를 사용하여 정량측정하였다.

결과 및 고찰

1. 카드뮴에 의한 혈중 K^+ 및 Ca^{2+} 농도의 변화

카드뮴의 복강 투여 후 혈중 K^+ 과 Ca^{2+} 농도에 미치는 효과를 알아본 결과는 Fig. 1과 Fig. 2와 같았다.

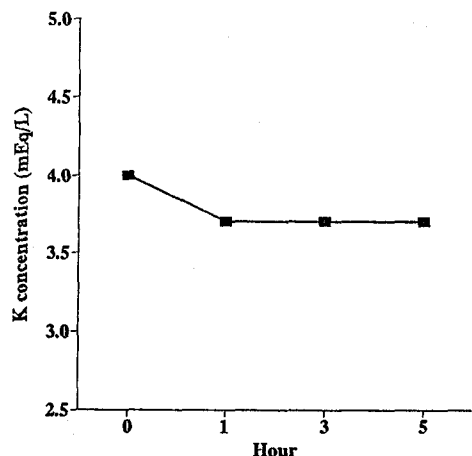


Fig. 1. Effect of cadmium on K concentration in plasma of rats.

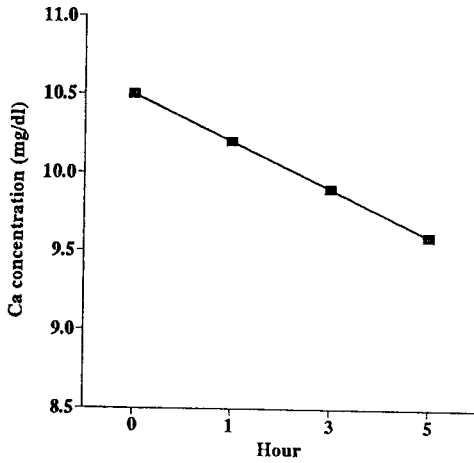


Fig. 2. Effect of cadmium on Ca concentration in plasma of rats.

카드뮴이 존재할 때 시간경과와 카드뮴 투여량의 증가에 따라 K^+ 농도는 대조군에 비하여 감소하였다가 평형을 유지하였으나 Ca^{2+} 농도는 감소현상이 나타났다. Frieborg 등[16]이 $Cd-Ca^{2+}$ 의 길항작용이 있다고 보고한 바와 같이 동물 체내에서 카드뮴의 독성은 Ca^{2+} 농도

의 변동에 감소하는 경향을 나타내었으나 통계학적 차이는 없었다.

2. 카드뮴에 의한 혈중 GOT와 GPT의 활성도 변화

카드뮴의 복강으로 단독 투여한 후 백서의 혈중 GOT와 GPT의 활성도를 측정된 결과는 Fig. 3과 같았다.

3 mg/kg의 $CdCl_2$ 을 복강 투여한 후 대조군을 제외한 모든 실험군의 GOT와 GPT 활성도의 측정 결과는 시간별 경과에 따라 대조군에 비해 유의하게 증가하였다.

그러나 10 μM 의 카드뮴 투여군의 1일 이후에는 GOT와 GPT 활성이 공통적으로 감소하는 현상을 나타내어 3일 후에는 대조군치로 회복하는 측정 결과를 나타냈다.

이와 같은 결과로부터 투여한 카드뮴이 간의 효소 반응에 미치는 작용은 급성 독성으로 작용하며 시간이 경과함에 따라 해독기전이 관여함을 알 수 있었다.

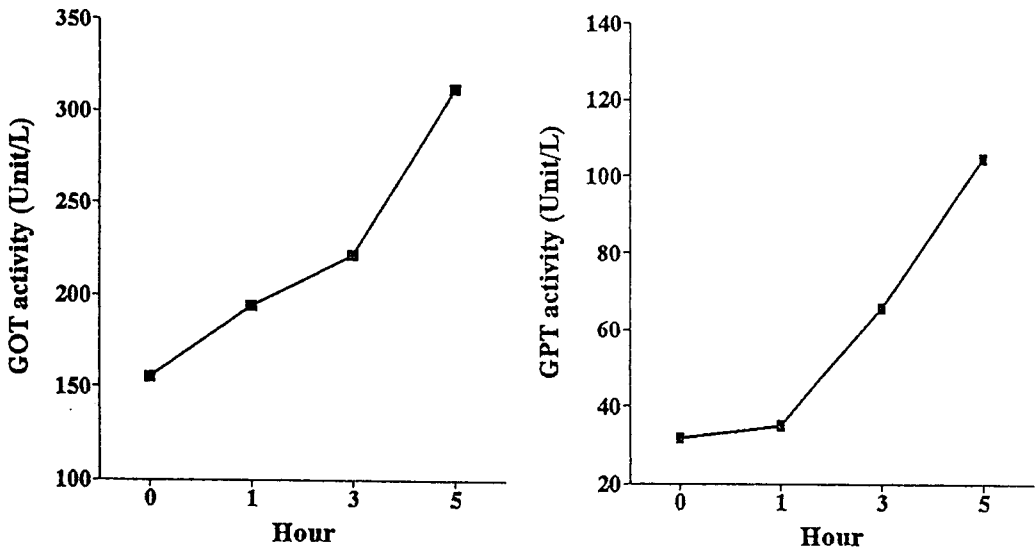


Fig. 3. Effects of cadmium on GOT and GPT activity in plasma of rats.

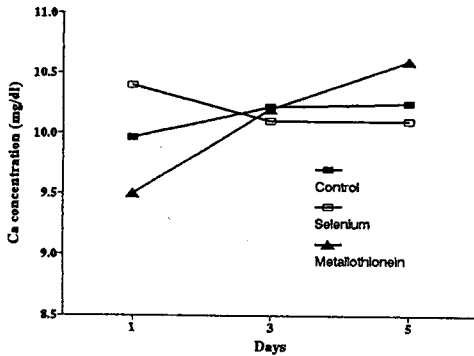


Fig. 4. Relationship between selenium and metallothionein treatment on Ca concentration in plasma of rats after I.P. administration of CdCl₂. Control were injected I.P. with CdCl₂ solution of 10μM/Kg of body weight and treated with saline only.

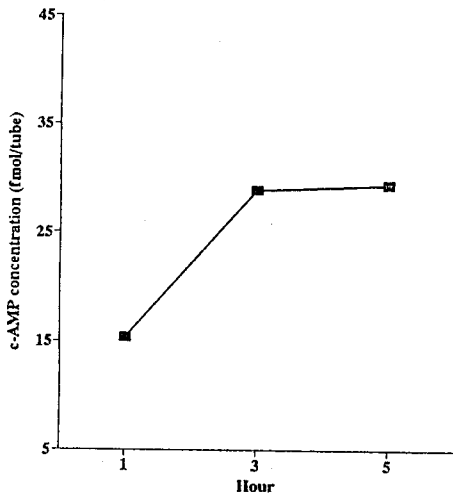


Fig. 5. c-AMP levels in plasma of rats after ingestion CdCl₂ via intraperitoneal.

3. 카드뮴과 해독제의 병용 투여후 혈중 Ca²⁺의 변동

카드뮴(10μM/kg)과 셀레늄(22 mg/kg) 병용

복강 주사군에서 투여 3일과 5일후의 혈중 Ca²⁺ 농도는 카드뮴 단독주사 대조군에 비해서 감소경향을 나타내었으나, 카드뮴(10μM/kg)과 metallothionein(mg/kg) 병용복강 주사군에서는 대조군에 비해서 증가 현상을 나타내었다 (Fig. 4).

4. 카드뮴과 해독제의 병용투여후 혈중 GOT와 GPT의 활성화 변동

카드뮴과 셀레늄 병용복강 주사군 및 카드뮴과 metallothionein 병용복강 주사군의 용량은 상기 실험(Fig. 4)과 동일하게 하였을 때 혈중 GOT 및 GPT 활성도는 투여후 1일, 3일 및 5일에 Fig. 6과 같았다.

카드뮴 단독투여군의 GOT 활성은 각각 293±44.0 unit과 152±11.8 unit 및 134±4.8 unit로 시간 경과에 따라 효소 활성이 감소 회복되었으며 셀레늄 병용주사군에서는 각각 248±17.5 unit와 109±13.9 unit 및 135±6.6 unit로써 카드뮴 단독 주사군 보다 효소 활성 감소 현상이 현저하게 나타났으며, metallothionein 병용주사군에서는 458±47.4 unit과 178±33.8 unit 및 145±21.6 unit로 효소활성이 시간 경과에 따라 감소현상은 나타나나 카드뮴 단독 조사군에서 보다 효소 활성이 큰 것을 알 수 있었다.

GOT 활성은 카드뮴 단독투여군에서 투여 1일 3일 및 5일 후에 120±40.8 unit과 58±8.9 unit 및 35±8.6 unit이었으며 셀레늄 병용주사군에서는 72±10.7 unit과 48±3.0 unit 및 54±3.8 unit로 효소활성의 감소효과가 카드뮴 단독 투여군보다 현저하게 나타났으나, metallothionein 병용주사군에서는 각각 21.8±53.1 unit과 77±19.8 unit 및 37±4.4 unit로 효소 활성 감소현상이 카드뮴 단독 주사군에 비하여 작게 나타났다. 따라서 카드뮴 섭취시 1일 이내에 GOT와 GPT 효소 활성이 크게 증가하며, 증가한 효소 활성은 셀레늄에 의하여 현저하게 감

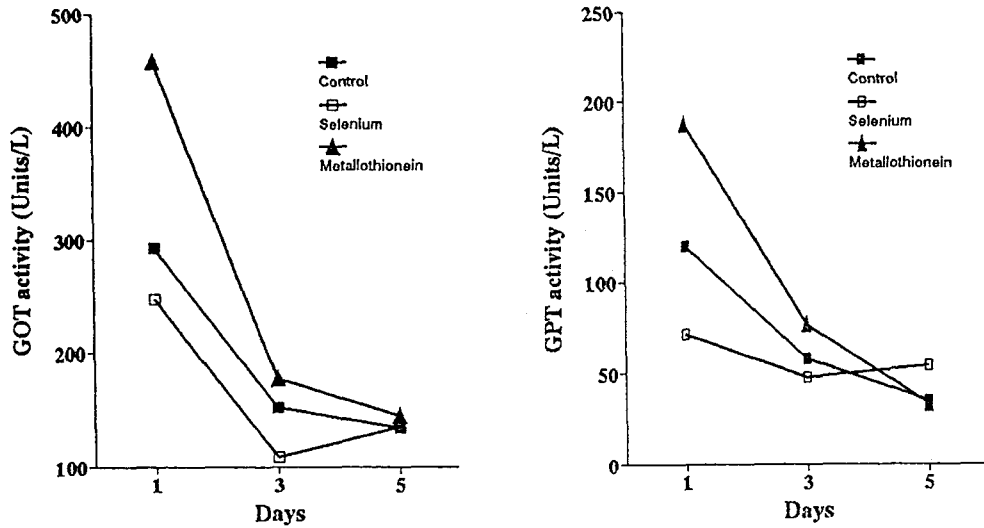


Fig. 6. Relationship between selenium and metallothionein treatment on GOT and GPT activity in plasma of rats after I.P. administration of CdCl₂.

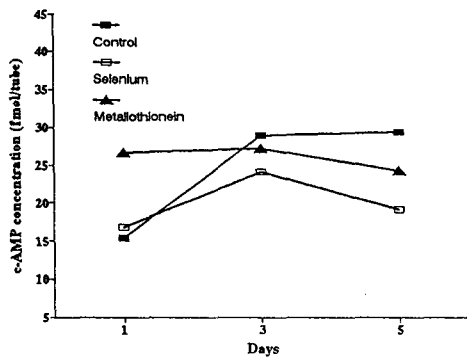


Fig. 7. Effect of sodium selenite on c-AMP concentration in plasma of rats after I.P. injection of CdCl₂ during daily ingestion in drinking water.

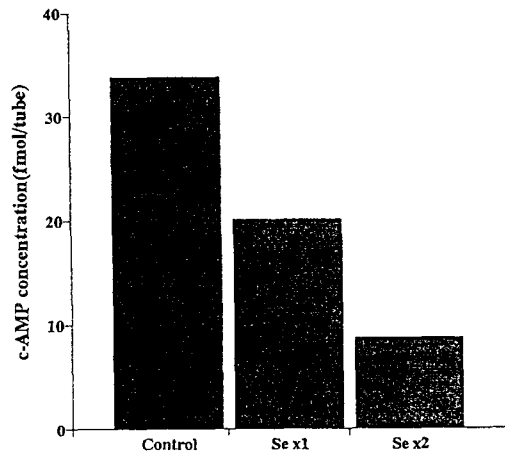


Fig. 8. Effect of selenium on c-AMP concentration in plasma of rats after 24hours ingested CdCl₂ solution.

소 회복됨을 알 수 있었고, metallothionein에서는 이와같은 효소 활성에 대한 효과가 없음을 알 수 있었다.

5. 혈중 c-AMP 농도 변화

카드뮴을 투여한 백서의 혈장 c-AMP 농도는 (Fig. .5) 투여 후 1일, 3일, 5일 후에 각각 15.4±1.5, 28.9±7.3, 29.4±15.1 fmol/tube로 카드뮴 투여 경과기간에 따라 증가하였다. 셀레

늄 병용투여군에서는 각각 16.8 ± 3.3 , 24.1 ± 4.3 및 19.2 ± 0.8 fmol/tube로써 카드뮴 단독투여군에서 보다 c-AMP 농도의 증가현상이 현저하게 감소되었으며, metallothionein 병용주사군에서는 각각 26.7 ± 5.7 , 27.2 ± 3.7 및 24.3 ± 2.4 fmol/tube의 농도로 카드뮴 단독 투여군에서 보다 c-AMP 농도가 더 큰 증가 현상을 보였으나 유의성을 찾을 수 없었다.

표 1.은 10 mg/kg 섭취용량의 카드뮴을 5 mg/kg와 10 mg/kg의 셀레늄과 병용 투여한 1일, 2일 및 3일 후에 혈장내 c-AMP 농도를 측정 한 결과이다. 대조군에서는 각각 33.8 ± 8.1 , 9.8 ± 1.0 및 11.8 ± 1.1 fmol/tube로서 카드뮴이 체내에 섭취된 1일 이내에 크게 증가한 c-AMP 농도는 시간 경과에 따라 감소하였다. 셀레늄의 투여에 따른 혈장내 c-AMP의 농도 변화는 저용량(5 mg/kg)의 병용투여군에서는 각각 20.1 ± 8.1 , 9.5 ± 0.9 및 11.2 ± 1.3 fmol/tube이었으며, 고용량(10 mg/kg)의 병용투여군에서는 각각 8.7 ± 0.8 , 12.8 ± 4.2 및 11.8 ± 1.6 fmol/tube로서 셀레늄이 카드뮴 섭취로 증가한 c-AMP 생성 농도를 현저하게 감소시킴을 보여 주었으며, c-AMP 농도 감소 효과는 고용량의 셀레늄 병용 투여군에서 크게 나타났다.

카드뮴의 체내 투여 방법에 따른 혈장내 c-AMP 농도는 Fig. 8과 같았다. 카드뮴 용액을 복강 투여한 경우는 c-AMP의 농도가 증가하는 경향을 나타내었으나, 물병을 통해서 경구

투여한 경우에는 c-AMP의 혈중 농도가 감소하여 해독기전의 설명을 어렵게 하였지만 Cd으로 인해 증가된 c-AMP 농도를 Se가 투여된 양에 비례해서 현저히 감소시켜준다는 사실을 알게 되었다.

결 론

백서에 카드뮴을 투여하여 독성 반응을 관찰하고, 셀레늄과 metallothionein을 병용 투여한 후 혈장의 K^+ , Ca^{2+} , GOT, GPT 및 c-AMP량을 경시적으로 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 카드뮴 용액을 경구 투여하였을 때 혈중 K^+ 농도가 감소하였다.
2. 카드뮴 용액을 경구 투여하였을 때 혈중 Ca^{2+} 농도도 감소하였다.
3. 카드뮴 용액을 투여 하였을 때 혈중 GOT와 GPT의 활성도는 증가하였다.
4. 혈중 Ca^{2+} 농도는 카드뮴 단독 투여 대조군에 비하여 셀레늄 병용투여군 및 metallothionein 병용투여군에서 유의한 보상효과를 관찰할 수 없었다.
5. 혈중 GOT 및 GPT 활성도는 카드뮴 단독 투여 대조군과 비교할 때 metallothionein 병용 투여군보다 셀레늄 병용투여군에서 유의한 보상효과가 있음을 관찰하였다.

Table 1. Effect of selenium on c-AMP concentration in plasma of rats after $CdCl_2$ ingestion in drinking water.

Group	No. of animal	c-AMP Concentration (fmol/tube)		
		1 day	2 day	3 day
$CdCl_2$ (10mg/kg)	n=4	33.8 ± 18.1	9.8 ± 1.0	11.8 ± 1.1
$CdCl_2 + Na_2SeO_3$ (10mg/kg+5mg/kg)	n=4	20.1 ± 8.1	9.5 ± 0.9	11.2 ± 1.3
$CdCl_2 + Na_2SeO_3$ (10mg/kg+10mg/kg)	n=4	8.7 ± 0.8	12.8 ± 4.2	11.8 ± 1.6

6. 카드뮴 투여에 의하여 혈중 c-AMP농도가 증가하였으며, 카드뮴 단독투여 대조군과 비교할 때 metallothionein 병용 투여군보다 셀레늄 병용투여군에서 카드뮴 투여로 증가한 c-AMP 농도가 유의하게 감소하였다.

7. 셀레늄 저용량(5 mg/kg) 투여시 보다 고용량(10 mg/kg) 투여시에 혈중 c-AMP 농도가 유의하게 감소하였다.

이상의 실험 결과로 부터 카드뮴을 섭취한 백서에 selenium을 병용 투여 하였을 때 간장의 GOT 및 GPT 효소 활성에 대한 독성 장애가 경감되었으며, 해독 지표로서의 혈중 c-AMP의 농도가 정상으로 회복 되었으나 metallothionein을 병용 투여하였을 때는 이와같은 효과를 관찰할 수 없었다.

참고문헌

- J.S.Lee and K.L.White, "A Review of the health effects of Cadmium." *Am.J. Ind.Med.* **1**, 307(1980).
- K.J.Yost, "Some aspects of cadmium flow in the U.S." *Environ. Health Perspectives.* **28**, 5(1979).
- P.B.Hammond and R.P. Beliles, "Metals." CASARETT and DOULL'S Toxicology. pp 428(1975).
- P.L.Goering and C.D. Klaassen, "Altered subcellular distribution of cadmium pretreatment." Possible mechanism of tolerance to cadmium induced lethality. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **70**, 195(1983).
- J.Parizek, I.Ostadalova, J.Kalouskva, A.Babichy and J.Benes. "The detoxifying effects of selenium". Interaction between compounds of selenium and certain metals. *Newer Trace Elements in Nutrition*, Mertz W. Cornatzer WE eds. Marcel Dekker Inc. NY. 85-122(1971).
- R.F.Burk, K.A.Foster, D.M.Greenfield and K.W.Kiker. "Binding of simultaneously administered inorganic selenium and mercury to a rat plasma protein". *Proc. Soc. Exp Biol Med.* **145**, 782(1974).
- R.W.Chen, P.D.Whanger, S.C.Fang. "Diversion of mercury binding in rat at tissues by selenium; A Possible mechanism of Protection". *Pharmacol Res Commun.* **6**, 571(1974).
- S.C.Fang, R.W.Chen, E.Fallin. "Influence of dietary selenite on the binding characterization of rat serum proteins to mercurial compounds". *Chem. Biol. Interact.* **15**, 51(1976).
- J.H.R.Kagi and B.L.Vallee. "Metallothionein; A Cadmium and Zinc Containing protein from equine renal cortex." *J Biol Chem.* **236**, 2435(1961).
- P.Pulido, J.H.R.Kagi and B.L.Vallee. "Isolation and some properties of human methallothionein." *Biochemistry.* **5**, 1769(1966).
- G.W.Evans, P.F.Majors, W.E.Cornatzer. "Mechanism for cadmium and Zinc antagonism of copper metabolism." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **40**, 1142(1970).
- S.H.Oh, P.D.Whanger and J.T. Deagen. "Tissue metallothionein; Dietary interaction of cadmium and Zinc with Copper mercury and silver." *J. Toxicol. Environ. Health.* **7**, 547(1981).
- D.L.Eaton, N.H.Stacey, K.Wong, C. D.Klassen. "Dose response effects of various metal ions on rat liver metal-

- lothionein, glutathione, heme oxygenase, and cytochrome p-450" *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **55**, 393(1980).
14. S.H.Oh, M.H.Lee, "Interaction between inorganic mercury and selenium on tissue sulfhydryl groups and glutathione-linked enzymes in rats." *Yonsei Medical Journal.* **22**, 122(1981).
15. Z.A.Shaikh, J.C.Smith, *Chem. Biol. Interactions.* **15**, 327(1976).
16. L.Friberg, M.Piscator and G.Nordberg, *Cadmium in the Environment*, CRC Press, Cleveland, Ohio. p393(1971).

Effects of Selenium and Metallothionein on the Toxicity of Cadmium in Rats

Yong-Wun Ryu and Kee-Ho Lee

Korea Cancer Center Hospital, KAERI

ABSTRACT

To find out an effective way of treating the toxicity of cadmium, concentrations of K^+ , Ca^{2+} and c-AMP, and activities of GOT and GPT in blood of rats were determined at definite time intervals after administration of cadmium to rats.

Cadmium caused more decrease of Ca^{2+} concentration than K^+ concentration but increases of GOT and GPT activities and of c-AMP concentrations. The decreased concentration of Ca^{2+} was not recovered by selenium or metallothionein. However, the increased activities of GOT and GPT, and the c-AMP concentration were down regulated remarkably by selenium but not by metallothionein.

These results suggested that selenium might have the compensate effects concerning toxic index against cadmium such as increases of GOT and GPT activities, and of c-AMP concentration.