

Dichlorvos가 흰쥐 심근의 미세구조에 미치는 영향

백태경 · 이화모 · 정호삼

A Study on the Ultrastructural Changes of Cardiac Muscle in Dichlorvos Treated Albino Rat

Baik, Tai Kyoung, Wha Mo Lee and Ho Sam Chung

(Received August 16, 1994)

ABSTRACT

It is well known that dichlorvos (DDVP), an organophosphate insecticide in common use, is so easily and rapidly hydrolyzed and excreted that it has usually little toxic effect on human body. In these days, however, it is widely used as an industrial and domestic insecticide and as an anthelmintic agent for animals, so that the accident of chemical poisoning occurs frequently. DDVP acts as a powerful inhibitor of carboxylic esterase, which can cause accumulation of acetylcholine at the synapses so paralysis of muscle and the transmission failure in cholinergic synapses dueing to desensitization of acetylcholin receptor may occure. Moreover accumulation of the acetylcholine brings about the elevation of the cyclic-AMP, which alters the cellular metabolisms of nucleic acid, carbohydrate, protein and lipid.

Present study has undertaken to investigate the cardiotoxic effect of DDVP by electron microscopic study.

A total of 30 Sprague-Dawley strain rats, weighing about 250gm were used as experimental animals. 2mg/kg/day of DDVP is intraperitonealy injected 3 times with intervals of every other day. On 1 day, 3 days, 5 days, 7 days and 14 days after drug administration, the animals were sacrificed by cervical dislocation. Left ventricular cardiac muscles were resected and sliced into 1mm³. The specimens were embedded with Epon 812 and prepared by routine methods for electron microscopical observation. All preparations were stained with lead citrate and uranyl acetate and then observed with Hitachi-600 transmission electron microscope.

The results were as follows:

1. In the cardiac muscle of DDVP treated rats, mitochondria with disorganized double

membrane and mitochondrial crista, and vacuole formation in mitochondrial matrix were observed. But structures of mitochondria were recovered to normal in 14 days group.

2. In the cardiac muscle of DDVP treated rats, cisternae of sarcoplasmic reticulum were dilated and sacculated. But these changes were recovered to normal in 14 days group.

3. In the cardiac muscle of DDVP treated rats, glycogen particles around damaged myofibrils were decreased. But amount of glycogen particles were restored in 14 days group.

4. In the cardiac muscle of DDVP treated rats, disruption and discontinuation of myofilaments and disorganization of Z-disc were observed. But the structures of myofibrils were recovered to normal in 14 days group.

It is consequently suggested that DDVP would induce the reversible degenerative changes on the ultrastructures in cardiac muscle of rat.

Key words: Dichlorvos, cardiac muscle, mitochondria, myofibril

서 론

유기인화합물은 비교적 독성이 낮은 화합물로 알려져 있고, Ecobichon과 Comeau(1973) 및 Casale 등(1983)에 의하면 유기인화합물 중에서 DDVP는 DFP, parathion 및 malathion 보다 체내에서 빨리 분해되고 독성도 낮은 화합물임이 밝혀졌다. Bisby와 Simpson(1975)에 의해 DDVP는 휘발성이 강하고 특히 파리가 이 화합물에 각별히 예민하여 심한 독성이 발현됨이 발표된 이래, DDVP는 농촌뿐만 아니라 도시에서도 가정용살충제로서 많이 사용되고 있어, 취급부주의로 인한 중독증상이 비교적 빈번히 발생되고 있다. 유기인화합물은 체내에서 비교적 빨리 분해되고 배설되므로 급성중독이 문제가 되고 있는데, Gaines(1960)와 Namba 등(1970)은 malathion에 중독될 경우 생체내에서 쉽게 가수분해되어 축적작용이 적으나 일시에 다량이 흡수될 경우 급성 중독증상이 일어난다고 보고하였으며, 소량의 유기인화합물이 계속 흡수될 경우에는 만성중독이 유발될 수 있음도 알려져 있다. 만성중독에 관한 임상 예로서 Menz 등(1974)은 DDVP 제조공장에 종사하는 근로자를 대상으로 1년동안 pseudocholinesterase와 acetylcholinesterase의 효소활성을 검색한 결과 이들 효소의 활성도가 저하되어 있었다고 보고하였다. 이러한 유기인계 살충제의 급성 및 만성중독증상은 acetylcholinesterase나 pseudocholinesterase와 같은 carboxylic esterase의 활성의 저하와 밀접한 관계가 있다. Fukuto와 Metcalf(1969)에 의하면 대부분의 유기인계 농약은

phosphorothionate나 phosphorodithionate기를 가지고 있고 생체내에 투여되면 이들 인산기는 간장에서 NADPH-dependent mixed function oxidase에 의해 산화된 후 신경세포 연결부(synapse)로 이동되어 carboxylic esterase의 활성을 억제하여 acetylcholine을 축적하게 되어 이로 인하여 신경기능에 장애가 초래되는 것이라고 하였다. 유기인계 농약중독시 신경기능의 장애로 나타나는 muscarinic 증상은 평활근, 심장 및 외분비선의 choline성 신경연접에 acetylcholine이 축적된 결과로 나타나는 증세로 가슴이 답답하고 기관지 분비물의 증가, 타액과 땀분비의 증가, 위와 장관의 smooth muscle tone의 증가로 인한 설사, 구토 및 복부 경련 등이며, nicotinic 증상은 골격근과 자율신경의 신경말단에서의 acetylcholine 축적의 결과로 나타나는 증세로 호흡근의 약화, 피로, 혈압상승 및 과혈당증 등이 나타나고 중추신경계에서 acetylcholine이 축적되면 긴장, 불안, 두통 및 혼수상태 등이 발현된다. 이러한 중독증상은 대부분 약제 투여후 5분에서 12시간 사이에 나타나는 것으로 알려져 있고 증상의 지속시간은 1~5일간이며 약물의 투여나 약물과의 접촉이 중단되고 시간이 경과되면 증상은 완전히 회복됨이 보통이다.

DDVP는 이러한 신경기능장애뿐만 아니라 세포내 대사과정에 영향을 미치고 세포내 소기관에도 변화를 초래함도 여러 학자들에 의하여 보고되었다. Teichert 등(1976)은 DDVP에 의해 catecholamine의 분비가 자극되어 cyclic-AMP의 양이 증가하고 이로 인하여 세포내 물질 대사과정에 많은 변화가 야기된다고 보고하였으며, Teichert와 Szymczyk(1979)는 DDVP를 흰쥐에

투여한 결과 glycogen phosphorylase 활성이 증가하여 탄수화물의 대사에 변화가 유발됨을 관찰하였으며, Civen 등(1980)은 DDVP에 중독된 흰쥐의 steroid 대사에 변화가 일어났다고 하였고, Schop 등(1990)은 DDVP를 피부에 도포한 mouse에서 모낭세포내 핵산대사가 저하됨을 보고하였다. 이 등(1983)과 김 등(1984)은 유기인화합물에 의해 나타나는 세포내 미세구조의 변화를 관찰한 바 parathion과 diazinon을 투여받은 흰쥐의 간질세포내의 조면내형질세망의 구조에 변화가 나타났고 막부착 ribosome이 탈락되었다고 보고하였으며, 이 등(1987)은 DDVP를 투여한 mouse 간세포에서 조면내형질세망 및 Golgi 복합체에 퇴행성 변화가 초래됨을 보고하였다. 신경의 손상 혹은 핵산 및 단백질 대사에 장애를 유발하는 약제에 의하여 근손상이 일어남도 여러 학자들에 의하여 보고되었다(Shrodt와 Walker, 1966; Wohlfart, 1949; Hicks, 1950; 정 등, 1989).

이상 여러 보고를 종합한 바, 저자는 choline성 신경기능을 항진시키고 세포내 핵산 및 단백질 대사를 저해하는 DDVP를 실험동물에 투여하면 심근의 미세구조에 손상이 초래될 것으로 사료되어 본 실험을 시도하였다.

실험재료 및 방법

실험동물로는 체중 250gm 내외의 건강한 Sprague-Dawley계 흰쥐 30마리를 대조군 5마리와 DDVP 투여군 25마리로 구분하여 DDVP 투여군에는 체중 kg당 2mg의 DDVP를 주사용 증류수 0.2cc에 희석하여 격일 간으로 3회 복강내로 투여하였으며 최종 주사후 시간경과에 따라 1일, 3일, 5일, 7일 및 14일 경과군으로 세분하여 각 군에 5마리씩 배당하였고 대조군에는 동량의 생리적 식염수를 동일한 방법으로 투여하였다. 모든 실험동물은 해당일에 경추탈구법으로 희생시킨 후 개흉하여 심장을 노출시킨 상태에서 좌측심실벽을 절취한 즉시 1mm³의 크기로 세절하고 Millonig 인산염 완충용액(pH 7.2)으로 완충된 2% glutaraldehyde-2.5% paraformaldehyde 혼합액으로 4°C에서 3시간 전고정하고, 동일 완충용액에 8시간 침적시킨 후 동일 완충용액으로 제작한 1% osmium tetroxide 용액으로 2~4시간 후고정하였으며 alcohol-aceton 농도차에 따라 탈수한 후 Epon 812에 포매하고 Soval ultramicrotome으로 두께 2~5 μ m의 박절편을 제작하여 methylene blue

로 염색하고 적정부위를 확인한 후 두께 600~800Å의 초박절편을 제작하여 uranyl acetate(Watson, 1958)와 lead citrate(Venable과 Coggeshall, 1965)로 이중 염색하고 Hitachi-600형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

실험 결과

1. 대조군 흰쥐 좌심실 심근의 전자현미경 소견

대조군 흰쥐 좌심실의 심근에서는 근형질의 중앙에 난원형의 핵이 존재하였으며, 핵주위 근형질에는 다수의 당원과립과 약간의 지방소적이 관찰되었다. 이 중의 한 계막으로 쌓인 사립체는 핵주위 및 근원섬유 사이에서 다수 관찰되었으며 존재하는 부위에 따라 형태가 다양하였으나 대체로 원형, 난원형 혹은 간형이었고 사립체 기질내에는 대체로 일정한 간격으로 배열된 사립체통과 전자밀도가 다소 높은 사립체기질이 관찰되었다. 근원섬유에서는 횡문근의 특징인 A-대, M-선을 포함하는 H-대 및 I-대가 잘 구분되었으며 I-대의 중앙에는 전자밀도가 매우 높은 Z-판이 일정한 간격으로 잘 관찰되었고, 근원섬유 주위의 근형질에는 근형질세망의 소조와 근형질막의 합입에 의하여 형성되는 T-소관이 관찰되었다(Fig. 1).

2. DDVP 투여군 흰쥐 좌심실 심근의 전자현미경 소견

DDVP 투여후 1일 경과군 흰쥐 좌심실 심근에서는 근원섬유의 대부분은 A-대, I-대 및 H-대가 잘 구분되었으며 Z-판의 배열이 규칙적이었으나, 근세사가 국소적으로 결손된 근원섬유와 이중막과 사립체통이 불명해진 사립체가 관찰되었으며 손상부위에서는 당원과립이 감소되어 있었다(Fig. 2).

DDVP 투여후 3일 경과군 흰쥐 좌심실 심근에서는 근형질세망의 소조가 심하게 팽대되었으며 사립체통이 불명해진 사립체와 Z-판이 지그재그 모양으로 변성되면서 불명해졌거나 근세사가 단절 혹은 결손된 근원섬유가 다수 관찰되었다(Figs. 3, 4).

DDVP 투여후 5일 경과군 흰쥐 좌심실 심근에서는 근형질세망의 소조가 심하게 팽대되어 있었고, 이중막과 사립체통이 불명해진 사립체 및 사립체기질 내에 소포가 형성된 사립체가 관찰되었으며 Z-판이 불명해진 근원섬

유 및 근세사가 국소적으로 결손된 근원섬유가 관찰되었다(Figs. 5, 6).

DDVP 투여후 7일 경과군 흰쥐 좌심실 심근의 일부 근원섬유에서는 근형질세망의 소조가 다소 팽대되어 있었고 Z-판 및 M-선이 불명해졌으며 A-대와 H-대의 구분이 불명해졌으나 사립체는 정상대조군과 유사한 소견을 나타내었다(Fig. 7).

DDVP 투여후 14일 경과군 흰쥐 좌심실 심근의 근원섬유내에서는 규칙적으로 배열된 Z-판 및 M-선이 뚜렷이 관찰되었고 A-대, I-대 및 H-대가 잘 구분되었으며 사립체층과 이중막이 명확한 사립체와 정상대조군에서와 유사한 구조의 근형질세망과 당원과립이 관찰되었다(Figs. 8, 9).

고 찰

현재까지 알려진 살충제에는 유기염소계 화합물로서 benzene hexachloride (BHC), 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethane (DDT), eldria, heptachlor, dieldrin 및 toxaphane 등이 있고, 유기인계 화합물로는 diazinon, guthion, malathion, parathion, trithion, ethoxy-p-nitrophenyl thionobenzene phosphate (EPN), dimethyl-2,2-dichlorovinyl phosphate (DDVP), tetraethyl pyrophosphate (TEPP) 및 diisopropyl fluoro-phosphate (DFP) 등이 있으며 carbamate계 화합물로는 baygon, moban 및 carbaryl 등이 있다. 이들 중 유기염소계 화합물의 대부분은 현재 생산이 금지 또는 제한되어 있으며 현재 시판되는 대부분의 농약은 유기인계 화합물로서 그 사용량이 증가추세에 있고 우리나라에서는 유기인계 화합물 중 diazinon, DDVP, EPN, malathion 및 parathion이 널리 사용되고 있다.

Hoper(1981)에 의하면 DDVP는 dimethyl-2,2-dichlorovinyl phosphate의 구조물로서 methyl기는 생체내의 nucleophilic기와 반응하는 alkyl 화합물로 작용하며, dichlorovinyl기는 olefin의 이중결합 및 enol phosphate에 작용하고, phosphorothionate기는 수산기(-OH)와 반응하여 DDVP 분자를 o,o-dimethyl-phosphate와 dichlorovinylate로 분해시킨다.

생체내에서 대부분의 유기인계 화합물은 간장에서 NADPH-dependent mixed function oxidase에 의하

여 인산기가 산화된 후 신경세포 연결부로 이동되어 acetylcholinesterase와 같은 carboxylic esterase의 활성을 억제하여 acetylcholine을 축적시킨다. 이렇게 축적된 acetylcholine은 초기에는 cholinergic synapse에서 자극전달을 촉진하나 acetylcholine의 자극이 지속되면 acetylcholine 수용기(receptor)가 탈감작화(desensitization)되어 신경기능에 장애를 초래하게 된다.

Cholinergic synapse는 중추신경계, 자율신경계의 ganglionic synapse, 부교감신경계의 종말부 및 한선(sweat gland)과 같은 일부 교감신경 종말부에서 볼 수 있으며, 유기인계 살충제에 중독되면 유연, 호흡곤란, 복통, 운동실조, 설사 및 경련과 같은 cholinergic sign이 나타나고 증상이 나타나는 시기는 살충제가 투여된 경로, 투여량 등에 따라 차이가 있지만 대부분 5분에서 12시간 사이에 나타나며 24시간 이후에는 육안적 중독증상의 대부분은 소실된다. Sterri(1981)는 흰쥐에 15mg/kg의 DDVP를 복강내로 투여한 결과 10분내에 중독증상이 출현하였고 1시간 내에 중독증상이 소멸되었다고 보고하였는데 본 실험에서도 DDVP 투여 5분 후에 중독증상이 나타났으며 1시간 내에 중독증상이 사라졌다.

이와같이 DDVP는 carboxylic esterase의 활성을 억제하여 신경장애를 나타낼 뿐 아니라 신체 각 장기의 대사에도 변화를 준다. Teichert 등(1976)은 DDVP에 의해 acetylcholinesterase 활성이 억제되어 acetylcholine이 축적되면 생체내에서 catecholamines의 분비가 촉진되어 cyclic-AMP의 분비를 증가시키고 cyclic-AMP는 corticotropin, glucagon 및 insulin 등 호르몬의 생산과 분비를 억제하여 세포내 탄수화물, 단백질 및 지방의 대사에 변화가 나타난다고 하였다. Civen 등(1980)도 흰쥐에 DDVP를 투여한 결과 adrenal acyl-CoA의 감소, cholesterol acyltransferase, neutral cytosolic ester hydrolase, neutral cytosolic cholesterol ester hydrolase 등의 활성이 억제됨을 발견하고 DDVP에 의해 adrenal steroidogenesis가 억제되어 cholesterol ester의 합성 및 분해가 억제된다고 보고하였다. Nicholas 등(1978)은 DDVP를 투여받은 사람의 말초혈액에서 임파구의 수가 증가되었으며 또한 자매 염색체 교환이 빈발하였으므로 DDVP가 세포의 유전자에도 영향을 미칠 것이라 하였

고, Casele 등(1983)은 mouse에 유기인계 살충제를 처리한 후 양의 적혈구에 대한 IgM 및 IgG 생성량을 조사하고 유기인계 살충제가 면역억제 작용을 한다고 주장하였다. Koelle 등(1946)은 유기인계 화합물인 DFP를 개에게 반복 투여하면 체중이 감소되고 폐포에 이형핵백혈구(polymorphonuclear leukocyte)가 다수 침윤됨을 관찰하였음을 보고하였고, Lehman(1949) 역시 유기인계 TEPP 및 parathion을 실험동물에 투여한 바 담낭괴사 및 소장과 결장에 염증반응이 유발되었다고 하였다. Verma 등(1983)은 DDVP를 투여받은 어류에서 간 및 근육내 glycogen량과 혈중 포도당 및 젖산이 매우 감소되었다 하였고, Ebeigbe와 Campbell(1986)은 분리된 흰쥐 미동맥에 DDVP를 처리한 후 norepinephrine, 5-HT 및 KCl을 투여해도 근육이 수축되지 않으므로 DDVP가 신경자극을 차단하여 근육수축을 억제할 뿐만 아니라 근세포에 직접적인 손상도 초래할 것으로 추정하였다. 최근에 Damska와 Maslinska(1989) 및 Damska 등(1992)은 DDVP가 단순히 신경말단에서 acetylcholinesterase의 활성을 억제할 뿐만 아니라 신경세포에도 직접적인 손상을 초래함을 보고하였고, Silveira 등(1990)은 심근에 존재하는 M_2 muscarinic receptor가 DDVP에 강한 친화성을 나타낸다고 하였다.

체내에 흡수된 유기인계 화합물은 이와 같이 세포독성을 나타내며 그 일부는 효소 및 비효소반응에 의해 해독된다. 효소반응에 의한 해독작용은 가수분해효소 등에 의해 이루어지며 주로 carboxylic esterase(alicesterase)에 의해 이루어지는 것으로 알려져 있다. Cohen과 Murphy(1972), Ecobichon과 Comeau(1973) 및 Sterri(1981)는 간장의 carboxylesterase의 catalytic site에는 분해산물인 o,o-dimethylphosphate가 결합하여 이 효소의 활성을 억제하는 반면, noncatalytic site에는 DDVP가 직접 결합하여 acetylcholinesterase 및 pseudocholinesterase의 활성이 억제됨을 방지한다는 사실을 밝혔다. Dicowsky와 Morelle(1970)은 DDVP가 glutathione methyltransferase에 의해, Hutson 등(1971)은 oxidative demethylase에 의해 분해되어 해독된다고 보고하였다. 비효소반응에 의한 해독작용에 관해 Lauwerys와 Murphy(1969)는 paraoxon의 해독작용을 연구한 결과 paraoxon은 간장조직내의 단백질에 결합되어 독성이 소실되며 이 작용은 효소에 의한 해

독작용보다 더 중요한 역할을 한다고 보고하였다.

질병 혹은 근독성이 있는 약제에 의하여 심근의 미세구조에 변화가 초래됨도 여러 학자들에 의하여 보고되었다. Bishop과 Cole(1969), Bozner 등(1969), Goodman 등(1970), Maron과 Edwards(1974) 및 Maron 등(1975)은 울혈성 심부전, copper, iron 혹은 thiamine 결핍 등에 의하여 심근비대증이 유발되면 간질섬유화, 심근세포의 위축, Z-판의 변성, 근원섬유의 소실 및 파괴, 사립체의 변태, 심근형질내 지방소적의 축적 등 퇴행성 변화가 관찰되었다고 하였으며, Behrendt(1977)는 metanolrostenclone을 장기간 투여한 흰쥐 좌심실근에서 nonmyofibrillar filaments가 현저히 증가되어 Z-판내로 침투되고 더 진행되면 Z-판을 가로질러 핵막까지 연결되어 근세포의 대사에 장애를 초래하고 이러한 대사장애에 의하여 근원섬유의 파괴가 유발된다고 하였다. 또한 정 등(1989)은 adriamycin을 투여한 mouse의 좌심실근에서 근형질세망 소조의 팽대 및 막용해, 사립체의 종창 및 근원섬유내 근세사의 단절 및 소실이 관찰됨을 보고하였다.

심근의 근원섬유내 근세사는 actin과 myosin으로 구성되어 골격근과 거의 동일한 구조이므로 골격근의 손상이 관찰되는 구조는 심근의 손상을 이해하는데 참고가 될 수 있다. Stenger 등(1962) 및 Moore 등(1956)은 허혈(ischemia) 시킨 개의 골격근내 근섬유의 구조가 변형됨을 전자현미경적 연구로 밝혔다. 즉 허혈후 24시간까지는 근섬유 형태가 유지되어 있으나 48시간이 지나면 근세사의 I-대가 파괴 및 용해되고 Z-판의 과립성퇴화가 일어난다고 하였으나 A-대, H-대 및 M-선은 정상구조를 보였고 근형질내에 당원입자가 감소되었으며 근섬유의 PAS 양성반응이 사라졌다고 보고하였다. Hicks(1950)는 antimalarial drug인 plasmocid(8-aminquinoline)를 흰쥐에 투여한 결과 골격근 및 심근이 파괴되는 독성을 보였다고 하였고, 2,4-dinitrophenol을 투여한 흰쥐에서는 골격근과 심근에서 근섬유의 퇴화현상이 관찰되었다고 하였다. 또 Price 등(1962)은 plasmocid를 Long-Evans계 흰쥐에 투여한 결과 골격근의 actin 근세사와 Z-판이 파괴되었다고 하였으며 I-대의 근세사가 용해(dissolution)되어 용해된 근세사질편으로 점유된다고 하였고 근형질세망의 sarcotubules가 팽대되었으며 투약 후 3일 경과군에서는 근형질세망이 파괴되었으나 11일 후부터 정상적인 구조로 회복된다

고 하였는데, 이때 당원입자가 증가되었고 지방소적도 다수 나타났다고 하였다. Van Breemen (1960)은 근이 영양증이 있는 환자의 비복근(gastrocnemius)을 전자현미경으로 관찰한 결과 근형질세망의 소조가 팽대되어 공포화되었다고 하였는데 이것은 adenylic acid system의 이상에 기인한 것이라고 하였고, 이때 근섬유는 초자화(hyalinization) 되었으며 근원섬유 사이에는 사립체와 소포가 군집화현상을 일으켰고 사립체와 근형질세망은 점차 퇴화된다고 하였으며 특히 사립체는 엽상화(lobulated)되어 분해(disintegration)된다고 하였다. Ross 등(1960)은 유전적으로 dystrophia muscularis 가 있는 129 mouse strain을 개발하여, 비복근(gastrocnemius)을 전자현미경으로 관찰한 결과 dystrophy가 진행될수록 근육의 근원섬유의 수가 줄어들어가면서 근세사가 단절 혹은 융해되는 현상을 보였으며 이때 사립체도 손상되어 있었고 근형질세망은 팽대되거나 공포화되었다고 하였다.

이상 여러 학자들의 의견을 종합하면, 신경손상 혹은 약제에 의하여 심근에 손상이 오면 근형질세망, 사립체와 같은 막성구조의 변성과 심근세사의 파괴 등이 일어나며 손상받은 부위의 당원과립이 감소됨을 알 수 있다. 본 실험에서도 DDVP를 투여한 흰쥐 심근에서 근형질내 근형질세망의 소조가 팽대되었고 사립체의 이중막과 사립체층이 불명해지거나 사립체 기질내에 공포가 형성된 사립체가 관찰되었으며, 근원섬유내 Z-판이 지그재그 모양으로 변성되거나 불명해졌고 근원섬유가 단절되고 근세사가 소실되었다. 이러한 결과로 DDVP에 의하여 심근세포가 손상받았음을 알 수 있고 14일 경과군에서는 심근이 정상대조군과 유사한 소견을 나타내었으므로 실험동물에 DDVP를 투여하면 심근의 미세구조에 퇴행성변화를 초래하나 이러한 손상은 시간이 경과함에 따라 회복되는 것으로 사료된다.

결 론

생체 신경조직에서 acetylcholinesterase의 활성을 억제하고 세포내 물질대사에 장애를 초래하는 것으로 알려진 DDVP 투여에 의한 심근의 미세구조의 변화를 추구하기 위하여 저자는 체중 250gm 내외의 Sprague-Dawley계 흰쥐에 체중 kg당 2mg의 DDVP를 주사용 증류수 0.2cc에 희석하여 격일간격으로 3회 복강내로 투

여한 후 1일, 3일, 5일, 7일 및 14일 후에 경추탈구범으로 희생시켜 좌측심실을 절취하고 통상적인 방법으로 전자현미경표본을 제작한 후 Hitachi-600형 투과전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. DDVP 투여후 1일 및 3일 경과군 흰쥐 심근의 근형질내 사립체는 이중막과 사립체층이 불명해졌으며, 5일 경과군에서는 사립체 기질내에 소포가 형성되어 있었으나, 14일 경과군에서는 정상대조군의 심근에서와 유사한 형태를 나타내었다.

2. DDVP 투여후 3일 및 5일 경과군 흰쥐 심근의 근형질내 근형질세망 소조가 심하게 팽대되었으나, 7일 경과군에서는 근형질세망 소조가 다소 팽대되었고, 14일 경과군에서는 정상대조군의 심근에서와 유사한 소견을 나타내었다.

3. DDVP 투여후 흰쥐 심근의 근형질내 당원과립이 감소되었으나, 14일 경과군에서는 정상대조군의 심근에서와 유사한 소견을 나타내었다.

4. DDVP 투여후 1일 경과군 흰쥐 심근에서는 일부 근원섬유내 근세사가 소실 혹은 단절되었고 3일 및 5일 경과군에서는 근세사가 소실 혹은 단절되면서 Z-판의 형태가 불규칙해지거나 소실된 근원섬유가 다수 관찰되었으나, 14일 경과후에는 정상대조군의 심근에서와 유사한 소견을 나타내었다.

이상의 결과를 종합하면 DDVP는 흰쥐 심근의 미세구조에 퇴행성변화를 유발하나 이러한 손상은 시간이 경과되면 거의 완전히 회복되는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 정도영, 정호삼, 이규식, 1989. Adriamycin이 Mouse 심근의 미세구조에 미치는 영향. 한양의대학술지, 제 9권 제 1호, 193~206.
- 김영호, 정호삼, 이규식, 1984. Diazinon이 Mouse의 간세포내 미세구조에 미치는 영향. 한국전자현미경학회지, 제14권, 66~80.
- 이동식, 김숙영, 이규식, 1983. Parathion이 mouse 간세포의 미세구조에 미치는 영향. 대한해부학회지, 제 16권, 145~161.
- 이수호, 이근자, 정호삼, 이규식, 1987. Dichlorvos가 Mouse 간세포의 소기관에 미치는 영향. 한양의대학술지, 제 7권 제 1호, 15~25.

- Behrendt, H., 1977. Effect of anabolic steroids on rat heart muscle cells. I. intermediate filaments. *Cell Tiss. Res.* 180, 303~315.
- Bisby, J.A. and G.R. Simpson, 1975. An unusual presentation of systemic organophosphate poisoning. *Med. J. Aust.* 2, 394~395.
- Bishop, S.P. and C.R. Cole, 1969. Ultrastructural changes in the canine myocardium with right ventricular hypertrophy and congestive failure. *Lab. Invest.* 20, 219.
- Bozner, A., H.J. Knieriem, H., Meeson and H. Reinauer, 1969. Die ultrastruktur und Biochemie des Herzmuskels der Ratte im Thiaminmangel und nach einer Gabe von Thiamin. *Virchows Arch. Cell Pathol.* 2, 125.
- Casale, G.P., S.D. Cohen and R.A. Dicapus, 1983. The effects of organophosphate-induced cholinergic stimulation on the antibody response to sheep erythrocytes in inbred mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 68, 198~205.
- Civen, M., J.E. Leeb, R.M. Wishnow, A. Wolfsen and R.J. Morin, 1980. Effects of low level administration of dichlorvos on adrenocorticotrophic hormone secretion, adrenal cholesterol ester and steroid metabolism. *Biochem. Pharmacol.* 29, 635~641.
- Cohen, S.D. and S.D. Murphy, 1972. Inactivation of malaoxon by mouse liver. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 139, 1385~1389.
- Dambska, M. and D. Maslinska, 1988. Morphological changes after acetylcholinesterase (ACHE) inhibition by dichlorvos (DDVP) in young rabbit brain. *J. Hirnforsch.* 29(5), 569~571.
- Dambska, M., D. Maslinska and R. Pluta, 1992. The effect of some exogenous factors on the formation of intranuclear membrane inclusions in the nerve cells. *Acta Neurobiol. Exp.* 52(1), 37~40.
- Dicowsky, L. and A. Morello, 1971. Glutathionedependent degradation of 2,2-dichlorovinyl dimethylphosphate (DDVP) by the rat. *Life Sci.* 10, 1031~1037.
- Ebeigbe, A.B. and P.I. Campbell, 1986. Inhibitory effect of dichlorvos on arterial smooth muscle contraction. *Pharmacol. Res. Commun.* 18(3), 283~291.
- Ecobichon, D.J. and A.M. Comeau, 1973. Hepatic aliesterase sensitivity to dichlorvos and diisopropylfluorophosphate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 26, 260~263.
- Fukuto, T.R. and R.L. Metcalf, 1969. Metabolism of insecticides in plants and animals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 169, 97~113.
- Gaines, T.B., 1960. The acute toxicity of pesticides to rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2, 88~89.
- Goodman, J.R., J.B. Warshaw and P.R. Dallman, 1970. Cardiac hypertrophy in rats with iron and copper deficiency: quantitative contribution of mitochondrial enlargement. *Pediat. Res.* 4, 244.
- Hicks, S.P., 1950. Brain metabolism in vivo, II The distribution of lesions caused by azide, malanonitrile, plasmocid and dinitrophenol poisoning in rats. *Arch. Pathol.* 50, 544~561.
- Hofer, W., 1987. Chemistry of metrifonate and dichlorvos. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 49(suppl. V), 7~14.
- Hutson, D.H., M. Hadley, C. Elizabeth and B.A. Pickering, 1971. The metabolic fate of (Vinyl) dichlorvos in the rat after oral and inhalation exposure. *Xenobiotica.* 1, 593~611.
- Koelle, G.B., A. Gilman and B.D. Binzer, 1946. The chronic toxicity of di-isopropyl fluorophosphate (DFP) in dogs, monkeys and rats. *J. Pharmacol. Exper. Therapy.* 87, 435~448.
- Lauwerys, R.R. and S.D. Murphy, 1969. Comparison of assay methods for studying o-o-diethyl, o-p-nitrophenyl phosphate (paraoxon) detoxication in vitro. *Biochem. Pharmacol.* 18, 789~800.
- Lehman, A.J., 1949. The major toxic action of insecticides. *Bull. N.Y. Acad. Med.* 25, 382~387.
- Maron, B.J. and J.E. Edqards, 1974. Aggregates of tubules in human cardiac muscle cells. *J. Mol. Cell Cardiol.* 6, 249.

- Maron, B.J., J.E. Edgaard and W.C. Roberts, 1975. Ultrastructural features of degenerated cardiac muscle cells in patients with cardiac hypertrophy. *Am. J. Pathol.* 79, 387.
- Menz, M., H. Leutkemeier and K. Sachesse, 1974. Long-term exposure of factory workers to dichlorvos (DDVP) insecticide. *Arch. Environ. Health.* 28, 72~76.
- Moore, D.H., H. Ruska and W.M. Copenhaver, 1956. Electron microscopic and histochemical observation of muscle degeneration after tourniquet. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2, 755~764.
- Namba, T., C.T. Nolte, J. Jackerel and D. Grob, 1971. Poisoning due to organophosphate insecticides. Acute and chronic manifestation. *Am. J. Med.* 50, 475~492.
- Nicholas, A., M. Vienne and H. Van Den Berghe, 1978. Sister chromatid exchange frequencies in cultured human cells exposed to an organophosphorus insecticide dichlorvos. *Toxicol. Lett.* 2, 271~276.
- Price, H.M., D.C. Pease and C.M. Pearson, 1962. Selective actin filament and Z-band degeneration induced by palemocid. An electron microscopic study. *Lab. Invest.* 11, 549~562.
- Ross, M.H., G.D. Pappas and P.J. Harman, 1960. Alterations in muscle fine structure in hereditary muscular dystrophy of mice. *Lab. Invest.* 9, 388~403.
- Schop, R.N., M.H. Mardy and M.T. Goldberg, 1990. Comparison of the activity of topically applied pesticides and the herbicide 2,4-D in two short-term in vivo assays of gerotoxicity in the mouse. *Fundam Appl. Toxicol.* 15(4), 667~675.
- Shrodt, G.R. and S.M. Walker, 1966. Ultrastructure of membranes in denervation atrophy. *Am. J. Pathol.* 49, 33~51.
- Silveira, C.L., A.T. Eldefrawi and M.E. Eldefrawi, 1990. Putative M₂ muscarinic receptors of rat heart have high affinity for organophosphorus anticholinesterases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 103, 474~481.
- Stenger, R.J., D. Spiro, R.E. Scully and J.M. Shanson, 1962. Ultrastructural and physiologic alterations in ischemic skeletal muscle. *Am. J. Pathol.* 40, 1~15.
- Sterri, S.H., 1981. Factors modifying the toxicity of organophosphorus compounds including dichlorvos. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 49(suppl. V), 67~71.
- Teichert, K.K. and T. Szymczyk, 1979. Changes in rat carbohydrate metabolism after acute and chronic treatment with dichlorvos. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 47, 323~330.
- Teichert, K., T. Szymczyk, S. Consolo and H. Ladin-sky, 1976. Effect of acute and chronic treatment with dichlorvos on rat brain cholinergic parameters. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 35, 77~81.
- Van Breeman, V.L., 1960. Ultrastructure of human muscle. II. Observations dystrophic striated muscle fibers. *Am. J. Pathol.* 37, 333~341.
- Verma, S.R., S. Rani, I.P. Tonk and R.C. Dalera, 1983. Pesticide-induced dysfunction in carbohydrate metabolism in three freshwater fishes. *Environ. Res.* 32(1), 127~133.
- Venable, J.H. and R. Coggeshall, 1965. A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 25, 407~417.
- Watson, M.L., 1958. Staining of tissue section for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4, 475~478.
- Wohlfart, G., 1949. Muscular atrophy in diseases of the lower motor neuron. Contribution to the anatomy of the motor unit. *Arch. Neurol. Psych.* 61, 599~620.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** An electron micrograph of left ventricular cardiac muscle in control rat. Oval shaped nucleus (N), double membraned mitochondria (M) with regularly arranged cristae, glycogen particles (Gly) are observed in sarcoplasm lying between myofibrils (Mf). Uranyl acetate and lead citrate stain.
- Fig. 2.** An electron micrograph of left ventricular cardiac muscle in DDVP treated rat, 1 day group. Dilated and sacculated cisternae of sarcoplasmic reticulum (SR), deletion of myofilaments (arrow), disorganized mitochondria (M_1) with indistinct mitochondrial cristae and intercalated disc (ICD) are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain.
- Fig. 3.** An electron micrograph of left ventricular cardiac muscle in DDVP treated rat, 3 days group. Dilated and sacculated cisternae of sarcoplasmic reticulum (SR), mitochondria (M_1) with indistinct double membrane and cristae, myofibrils with obscure and deformed Z-disc (arrow) are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain.
- Fig. 4.** An electron micrograph of left ventricular cardiac muscle in DDVP treated rat, 3 days group. Dilated cisternae of sarcoplasmic reticulum (SR), disruption and discontinuation of myofibrils (Mf_1) and disolution and deformity of Z-disc (Z_1) are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain.
- Fig. 5.** An electron micrograph of left ventricular cardiac muscle in DDVP treated rat, 5 days group. Dilated cisternae of sarcoplasmic reticulum (SR), mitochondria with indistinct cristae (M_1) and vacuoles in its matrix (M_2), disrupted myofibril (Mf_1), myofibril with disorganized Z-line (Z_1) and transverse tubule (T) are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain.
- Fig. 6.** An electron micrograph of left ventricular cardiac muscle in DDVP treated rat, 5 days group. Discontinuation of myofibril (Mf_1) and mitochondria (M_2) with vacuoles in its matrix are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain.
- Fig. 7.** An electron micrograph of left ventricular cardiac muscle in DDVP treated rat, 7 days group. Mitochondria (M) with distinct double membrane and cristae, myofibril (Mf_1) with obscure and disorganized Z-disc (Z_1), cisternae of sarcoplasmic reticulum (SR) and transverse tubule (T) are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain.
- Fig. 8, 9.** An electron micrograph of left ventricular cardiac muscle in DDVP treated rat, 14 days group. Mitochondria (M) with distinct double membrane and regularly arranged cristae and large amount of glycogen particles (Gly) are observed. Myofibrils (Mf) with distinct zonal differences and Z-disc, cisternae of sarcoplasmic reticulum (SR) and T-tubule (T) are well observed. Uranyl acetate and lead citrate stain.



