

Lactobacillus acidophilus 발효유가 cadmium투여된 흰쥐의 혈액상과 신장조직에 미치는 영향

조영채 · 전무형* · 장경수*

충남대학교 의과대학
충남대학교 수의과대학*
(1994년 8월 27일 접수)

Effects of administration of *Lactobacillus acidophilus*-fermented milk on hematological values and histopathological changes of kidney in cadmium-treated rats

Young-chaе Cho, Moo-hyung Jun*, Kyung-soo Chang*

College of Medicine, Chungnam National University,
College of Veterinary Medicine, Chungnam National University*

(Received Aug 27, 1994)

Abstract : To elucidate the protective effects of *Lactobacillus acidophilus*-fermented milk against cadmium toxicity, the effects of administration of *L. acidophilus*-fermented milk on hematological values and histopathological changes in cadmium-treated rats were investigated.

The experimental rats were divided into 2 groups that were consisted of the one group administered with cadmium alone, and the other group administered with cadmium mixed with the fermented milk. Each group was orally administered with different doses of cadmium such as 1.7 μ g/g bw/day, 3.4 μ g/g bw/day, 6.8 μ g/g bw/day, and 13.6 μ g/g bw/day, respectively, for 1 to 8 weeks. Hematological values and enzyme activities, histopathological changes of kidney tissues were examined for the experimental groups.

The values of RBC, WBC, and Hb in the groups administered with cadmium mixed with the fermented milk showed no significant differences to those of the groups administered with cadmium alone, but Hct showed significant reducing values. The activities of glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) in serum were significantly reduced than those of the groups administered with cadmium alone, at the low dose of cadmium treated groups. But alkaline phosphatase(ALP) and lactate dehydrogenase(LDH) were significantly reduced at the high dose of cadmium treated groups. In histopathological study, a severe acute tubular necrosis of the convoluted tubules and distalation of tubules were showed in the groups administered with cadmium alone, but the kidney tissues of the groups administered with cadmium mixed with the fermented milk were similar to those of the normal group.

In conclusion, the above results would suggest that *L. acidophilus*-fermented milk has reducing effects on cadmium toxicity, at the low dose of cadmium administration.

Key words : administration of *L. acidophilus*-fermented milk and cadmium, hematological values, histopathological changes

서 론

유산균발효유는 우유나 양유를 유산균, 즉 *Lactobacilli*나 *Streptococci*로 발효시켜 만든 식품으로서 원래 중등 및 동지중해연안지방 주민들의 전통적인 음료로서 전해 왔으나 최근에는 단순한 식품의 차원을 넘어 건강식품으로 널리 알려져 있다^{1,2}. 지금까지 유산균발효유의 효능과 효과에 대한 연구는 Metchnikoff³의 불로장생설 이래 다수의 보고가 있다. Fykov et al³은 유아에서 유산균발효유를 섭취하므로써 장내에 *Lactobacillus flora*를 조성시킬 수 있었고, Tramer⁴, Shahani와 Ayebo⁵, Sandine et al⁶은 유산균발효유가 위장장애, 간장질환, 신염, 하리, 대장염, 식육부진에 효과가 있을 뿐만 아니라 병원성 세균의 억제, 소화흡수의 촉진, 간장기능의 촉진 등에 좋다고 하였다. Bogdanov et al⁷, Reddy et al⁸, Farmer et al⁹은 복수암세포와 육종세포를 이식한 마우스에 유산균발효유를 투여하여 암세포의 증식억제작용이 있다고 보고하였다.

한편 유산균 특히 *Lactobacillus spp*는 장내에서 증식하게 되면 장내의 pH를 낮추어 대장균의 발육을 억제할 뿐만 아니라 장점막에 병원성 대장균이 정착하는 것을 경쟁적으로 저지 시키므로써 대장균에 의한 설사를 예방하는 효과가 있음은 물론 *Salmonella*, *Staphylococci*, *Pseudomonas* 등의 장내 병원성세균의 성장을 억제하는 것으로 밝혀져 있으며^{10,11}, 장내균총의 정상적인 서식을 유도하므로써 섭취한 음식물의 소화흡수를 도와주고, *L. acidophilus*와 *L. bulgaricus*는 소화불량에 영향을 미치는 각종 부패균들을 억제하는 항생물질을 생성하고 있음도 알려져 있다^{12,13}. 이와 같이 인체에 유익한 유산균을 이용한 유산균발효유는 오늘날 수 많은 종류가 상품화되어 시판되고 있으며 우리나라에서도 그 소비량이 계속 증가하고 있어 건강식품으로 관심이 커지고 있다. 또한 최근에는 가축에서도 질병예방과 사료효율을 증대시키기 위한 목적으로 생균제(probiotics)로 개발되고 있다¹⁴. 이처럼 유산균발효유는 사람과 동물에 있어서 위장장애, 간염, 신염, 빈혈의 치료, 노화 방지 및 암의 억제 등 광범위한 효과가 인정되고 있으나 최근 환경오염에서 큰 문제로 대두되고 있는 중금속 물질의 생체내 흡수 및 축적 과정에서 유산균발효유가 어떠한 영향을 미치는 지는 연구된 바가 없다.

중금속중 카드뮴은 아연 광석의 채광이나 제련과정에서 부산물로 생성되며 부식성이 강하기 때문에 전기도금이나 판금의 용접, 합금, 합성화학의 안정제, 형광등, 반도체, 자동차와 항공기제작, 축전지, 광전지 및 도기나 페인트의 색소 등 여러 분야에서 광범위하게 사용

되고 있어 직업적으로 폭로되는 일이 점차 확대되고 있으며, 토양이나 수질오염에 의하여 식품을 통해 섭취되기도 한다¹⁵. 카드뮴은 노출되는 양과 화학적 형태, 폭로기간 및 체내 투입경로 등에 따라 다양한 독성을 나타내는데¹ 일반적으로 신기능장애, 간조직손상, 중추신경장애, 골연화증, 고혈압 등을 유발시키는 것으로 알려져 있으며^{16,67}, 또한 체내 각종 금속 효소의 활성을 저해하는 작용을 하고 적혈구에 손상을 일으키며 성장을 저해하고¹⁸ 발암성^{19,20}, 최기성²¹, 염색체이상 및 변이원성^{22,23}의 원인이 된다고 보고되어 있다.

동물실험에서 카드뮴의 흡수는 식이중의 칼슘이나 단백질량이 적을수록 높아지고 카드뮴의 소화흡수는 음식물의 무기질 함량에 따라 달라진다고 보고된 바 있으며^{24,25}, Calabrese²⁶는 칼슘이온이 카드뮴의 유리를 촉진하여 배설함으로 카드뮴의 체내 축적을 방지하며 칼슘이 부족할 때 카드뮴의 골내 축적이 용이해짐으로써 골연화증을 유발한다고 보고하였다. 한편 Worker와 Mogenicovsky²⁷는 칼슘과 비타민D 함량이 낮은 사료를 섭취한 병아리에서 카드뮴의 흡수가 증가되었음을 보고하였다. Taguchi와 Suzuki²⁸는 카드뮴을 섭취한 흰쥐의 장점막의 용해성 세포질에서 카드뮴 bounding성분이 유도되어 소장에서의 방어기전에 중요한 역할을 한다고 하였고, Schafer et al²⁹은 지방식은 카드뮴 흡수에 영향을 미치지 않으나 고단백과 고지방 혼합식이군은 저단백과 저지방혼합식이군 보다 카드뮴의 흡수를 제한한다고 하였다.

그러나 이상과 같이 유산균발효유제제의 생체내 질병방어기전과 카드뮴의 생체 흡수기전에 대한 많은 연구에도 불구하고 지금까지 유산균발효유의 섭취가 생체내에서 유해 중금속물질인 카드뮴의 흡수 및 축적에 어떤 영향을 주는지에 대한 연구보고 자료는 찾아 보기 어렵다. 따라서 본 연구에서는 흰쥐를 모델로 하여 *L. acidophilus* 발효유의 투여가 카드뮴의 생체내 독성 특히 혈액학치 및 혈장 효소 활성치의 변동과 신장의 병리조직학적 변화에 미치는 영향을 구명하고자 일련의 시험을 수행하였다.

재료 및 방법

실험 동물 : 생후 4주된 체중 75±5g의 Sprague-Dawley계 흰쥐(♂, 화학연구소, 대전)를 구입하여 2주간 적응사육 및 임상관찰을 하여 건강상태를 확인한 180마리를 선정 공시 하였다. 실험기간중의 사육환경은 실온 24±2℃, 상대습도 55±5%로 하였으며, 사육

상자는 polycarbonate cage(420W×180D×175Hmm)를 사용하였고 각 케이지당 5마리씩 넣어 표준 사양기준에 준하여 사육하였다. 실험기간중의 사료(제일사료, 대전) 및 음용수는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

카드뮴 및 유산균 발효유의 투여 : 카드뮴화합물로는 염화카드뮴(CdCl₂, 和光純藥, 日本)을 공시하였으며 투여용량은 土屋 등³⁰의 보고를 응용하여 1일 최저 카드뮴 투여용량을 체중 g당 1.7μg을 기준으로 하여, 2배수인 3.4μg, 4배수인 6.8μg 및 8배수인 13.6μg을 실험에 공시하였다. 유산균발효유는 탈지유를 93℃에서 60분간 살균한 다음 Starter로 *L. acidophilus*를 접종하고 36℃에서 12-16시간 배양한 후 균질화시켜 *L. acidophilus*의 농도가 8×10⁸CFU/ml인 유산균발효유(fermented milk, FM)를 4-5℃의 냉장상태에 보존하면서 24시간 이내에 실험에 공시하였다.

실험군은 Table 1에 요약된 바와 같이 모두 9개군으로 설정하고 각 군당 20수의 흰쥐를 배치하였다. 실험동물 대조군에는 5ml의 증류수를 매일 투여하였고, 카드뮴 단독투여군인 Cd-I-1군, Cd-II-1군, Cd-III-1군 및 Cd-IV-1군에서는 증류수 5ml에 카드뮴이 체중 g당 각각 1.7μg, 3.4μg, 6.8μg 및 13.6μg이 되게 혼합하여 매일 투여하였다. 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군인 Cd-I-2군, Cd-II-2군, Cd-III-2군 및 Cd-IV-2군에서는 *L. acidophilus* 발효유액 5ml에 카드뮴이 체중 g당 1.7μg, 3.4μg, 6.8μg 및 13.6μg이 되게 혼합하여 경구투

여 하였다. 투여방법은 매일 오전 10시 부터 12시 사이에 카테타(catheter)를 사용하여 경구투여 하였다. 실험동물은 실험개시후 1주, 2주, 4주 및 8주마다 5수씩 ethyl ether로 마취시키고 가검물을 채취하였다.

혈액화치 및 혈장 효소활성치 측정 : 혈액화치 측정에는 sodium-EDTA로 처리된 CBS-bottle(녹십자, 서울)에 혈액을 채취한 후 20분 이내에 Coulter counter(S-plus STKR, USA)를 사용하여 백혈구수(white blood cell, WBC), 적혈구수(red blood cell, RBC), hemoglobin(Hb)치 및 hematocrit(Hct)치를 측정하였다. 혈장 효소활성치 측정에 이용된 혈장은 항응고 처리된 혈액을 3000rpm에 10분간 원심침전하여 분리하였으며 냉장고에 보관하면서 6시간 이내에 측정하여 사용하였다. 혈장중의 효소 활성치 측정은 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT), lactate dehydrogenase(LDH) 및 alkaline phosphatase(ALP)를 효소활성 측정용 kit (Hitachi Co, Japan)를 각각 이용하여 효소활성 분석기 (Hitachi 736-20, Japan)로 측정하였다.

병리조직학적 관찰 : 신장조직의 병리학적 관찰은 일반법에 준하여 실시하였다. 약술하면 채취한 조직의 일부를 10% buffered formalin 용액속에 넣고 실온에서 48시간 고정한 후 수도물로 12시간 세척하였다. 세척한 조직을 alcohol로 탈수시키고, xylene으로 투명화시킨 다음 파라핀에 포매하여 박절기로 4-5μm씩의 조직

Table 1. Experimental design for treatment of cadmium and *L. acidophilus*-fermented milk

Groups	Treatments ^{a)}	No of rats tested				
		1wk	2wks	4wks	8wks	Total
Control	DW	5	5	5	5	20
Cd-I-1	Cd 1.7μg/g bw+DW	5	5	5	5	20
Cd-I-2	Cd 1.7μg/g bw+FM ^{b)}	5	5	5	5	20
Cd-II-1	Cd 3.4μg/g bw+DW	5	5	5	5	20
Cd-II-2	Cd 3.4μg/g bw+FM	5	5	5	5	20
Cd-III-1	Cd 6.8μg/g bw+DW	5	5	5	5	20
Cd-III-2	Cd 6.8μg/g bw+FM	5	5	5	5	20
Cd-IV-1	Cd 13.6μg/g bw+DW	5	5	5	5	20
Cd-IV-2	Cd 13.6μg/g bw+FM	5	5	5	5	20

^{a)} : Total volume of administration per day; 5.0ml

^{b)} : DW=distilled water, FM = *L. acidophilus*-fermented milk

절편을 만들었다. 그 다음 파라핀 제거 및 탈수과정을 거쳐 hematoxylin-eosin(H&E) 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

통계처리 및 분석 : 실험으로 얻은 모든 자료는 statistical package for the social science(SPSS) program을 이용하여 분석하였으며 실험군과 대조군간의 유의성 검증은 Student t-test 및 Mann-Whitney U-test로 하였고, 카드뮴 축적량에 따른 각 변수들간의 상관관계를 분석하였다.

결 과

혈액학치 변동 : *L. acidophilus* 발효유의 투여가 카드

뮴을 투여한 흰쥐의 각종 혈액학치에 미치는 영향을 조사한 바 Table 2와 같은 결과를 얻었다. 즉, RBC수와 WBC수의 경우 각각 대조군에 비해 모든 실험군에서 높은 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었고, 주별 RBC와 WBC수의 변동은 대조군과 실험군 모두 투여기간이 길어짐에 따라 높아지는 경향이었으며, Hb의 변동은 대조군과 모든 실험군간에 유의한 차이가 없었고, 투여기간이 길어짐에 따라 수치는 증가하는 경향이 있었다. Hct의 변동은 대조군에 비해 모든 군에서 감소하는 경향을 보였으며 통계적으로도 유의한 차이가 있었다(P<0.05, P<0.01). 그러나 RBC, WBC, Hb 및 Hct의 변동은 전 기간에 걸쳐 카드뮴 단독투여군과 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군간을 비교한 바 유의한 차이가 인정되지 않았다.

Table 2. Hematological values of rats orally administered CdCl₂ in distilled water or CdCl₂ mixed with *L. acidophilus*-fermented milk

Items	Weeks	Control	Cd-I-1	Cd-I-2	Cd-II-1	Cd-II-2	Cd-III-1	Cd-III-2	Cd-IV-1	Cd-IV-2
RBC (/mm ³)	1	5.3±0.3 ^{a)}	6.0±0.2	6.1±0.1	6.0±0.9	5.9±0.3	6.4±0.3	5.7±0.5	5.6±0.7	6.1±0.5
	2	6.1±0.1	6.5±0.3	6.4±0.2	6.3±0.2	6.1±0.8	6.8±0.3	6.6±0.6	6.0±0.3	5.8±0.4
	4	7.4±0.1	7.2±0.3	6.7±0.1	7.3±0.6	6.8±0.3	7.9±0.5	6.9±0.1	7.4±0.2	6.6±0.6
	8	7.4±0.2	7.6±0.4	7.8±0.1	8.9±0.3	7.5±0.1	8.4±0.4	7.9±0.4	8.0±0.3	8.0±0.1
WBC (/mm ³)	1	8.0±1.3	9.4±1.3	9.2±0.8	9.2±1.5	8.3±1.8	9.5±1.0	8.5±1.8	9.8±0.8	9.6±1.8
	2	10.0±2.0	9.9±3.7	11.9±3.6	11.1±1.1	11.1±5.2	10.1±3.5	9.7±0.8	10.4±1.3	9.3±1.3
	4	10.7±0.2	12.5±1.0	12.0±0.8	12.5±0.5	11.7±5.8	12.1±5.1	12.7±1.4	12.2±1.5	12.6±5.0
	8	10.3±4.2	13.5±3.5	11.4±0.4	11.7±2.0	0.2±1.1	12.3±2.3	10.9±2.3	12.4±1.2	11.3±0.5
Hb (g/dl)	1	12.2±2.9	13.8±0.2	13.6±0.2	14.0±2.6	13.1±0.5	13.6±0.6	13.4±0.2	15.4±3.9	13.3±0.9
	2	14.5±0.7	14.4±0.9	13.7±0.4	13.4±0.4	13.0±1.5	12.9±0.9	13.8±1.5	12.7±2.0	13.9±0.8
	4	15.1±0.6	14.8±0.7	14.5±0.3	14.3±1.0	13.2±0.9	14.4±1.5	15.3±0.1	14.5±0.5	15.2±1.2
	8	15.4±1.2	14.8±0.3	15.4±0.3	15.3±0.6	14.9±0.5	14.1±0.6	15.2±0.5	15.5±0.6	14.6±0.1
Hct (%)	1	39.7±2.0	37.7±0.7	37.8±1.3	36.3±5.9	35.5±1.6	38.1±1.1	36.4±1.2	33.6±3.9	36.8±2.7
	2	41.5±0.7	39.5±1.8	38.4±0.9	36.5±0.9	35.4±4.7	35.0±1.5	38.2±3.9	35.5±2.1	33.8±1.7
	4	43.0±1.4	39.0±1.6	38.5±0.9	38.8±1.6	37.0±1.7	38.3±3.0	37.5±0.1	40.1±1.3	39.7±0.8
	8	40.4±0.8	39.4±1.5	40.5±0.8	41.0±1.8	39.6±1.6	37.9±1.8	40.6±1.6	41.3±1.4	39.7±0.3
			**	**	*	**	**	*	*	**

^{a)} : Mean ± SD

* : P<0.05, ** : P<0.01 (difference from control)

혈장 GOT, GPT, ALP 및 LDH 활성치의 변동 : *L acidophilus* 발효유의 투여가 카드뮴을 투여한 실험군의 혈장중 각종 효소활성치의 변동에 미치는 영향을 시험한 바 Table 3과 같은 결과를 얻었다. GOT활성치의 경우 대조군과 비교할 때 Cd-1-2군과 Cd-II-2군은 유의한 차이가 없었으나 다른 실험군은 모두 대조군 보다 유의하게 상승하였다(P<0.05, P<0.01). 카드뮴 단독투여군과 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군간의 GOT의 활성을 비교해 보면 카드뮴단독투여군인 Cd-I-1군, Cd-II-1군 및 Cd-III-1군보다 유산균발효유 혼합투여군인 Cd-I-2군, Cd-II-2군 및 Cd-III-2군에서 유의하게 낮았으나(P<0.01), Cd-IV-1군과 Cd-IV-2군의 경우에는 두 군간에 유의한 차이가 없었다.

각 군의 GPT 활성치는 대조군과 비교하면 Cd-I-2군과 Cd-II-2군에서는 유의한 차이가 없었으나 다른

실험군에서는 모두 대조군 보다 유의하게 높았다(P<0.05, P<0.01). 카드뮴 단독투여군과 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군간의 GPT의 활성을 비교한 바 카드뮴 단독투여군인 Cd-I-1군 및 Cd-II-1군보다 카드뮴 유산균발효유 혼합투여군인 Cd-I-2군 및 Cd-II-2군에서 유의하게 낮았다(P<0.01). 그러나 다른 실험군간에는 유의한 차이가 없었다.

ALP 활성치는 대조군에 비해 Cd-III-1군, Cd-IV-1군 및 Cd-IV-2군에서 유의하게 상승하였으나, 그 밖의 실험군에서는 대조군에 비해 유의한 차이가 없어 카드뮴 투여농도가 낮은 군보다 높은 군에서 활성치가 상승함을 알 수 있었다. 또한 카드뮴 단독투여군과 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군간의 ALP활성치를 비교한 바 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군인 Cd-III-2군과 Cd-IV-2군이 카드뮴 단독투여군인 Cd-III-1군과 Cd-

Table 3 Enzyme activities of rats orally administered CdCl₂ in distilled water or CdCl₂ mixed with *L acidophilus*-fermented milk

Items	Weeks	Control	Cd-I-1	Cd-I-2	Cd-II-1	Cd-II-2	Cd-III-1	Cd-III-2	Cd-IV-1	Cd-IV-2
GOT (IU/L)	1	103.7±20.5 ^{a)}	146.7±16.0	128.0±8.2	148.3±11.0	116.5±13.4	173.3±10.9	143.7±11.9	182.6±11.7	157.2±17.4
	2	100.4±11.9	19.1±6.0	95.2±12.0	125.6±13.9	108.4±12.1	144.9±12.7	102.6±9.7	164.0±12.4	154.3±14.6
	4	96.7±20.15	116.2±12.0	90.3±10.0	142.7±12.6	102.0±12.9	139.6±19.5	106.4±6.5	169.1±15.0	160.2±10.8
	8	93.3±8.2	106.4±12.0	85.2±11.0	105.8±12.2	96.0±8.4	118.1±11.1	102.2±10.1	114.4±13.3	110.3±11.5
GPT (IU/L)	1	61.4±5.7	68.1±7.1	57.2±3.1	83.0±5.6	73.2±4.0	84.6±4.0	80.2±7.1	88.4±5.2	83.0±5.0
	2	56.6±9.1	62.3±5.2	59.0±7.7	76.1±6.0	60.0±8.2	82.4±6.2	80.4±3.1	83.2±5.5	32.8±3.0
	4	56.1±5.8	68.9±7.7	55.7±5.4	65.7±5.3	56.9±5.9	80.5±4.3	74.3±4.0	88.4±7.3	82.2±4.2
	8	51.4±5.6	56.0±4.5	52.7±4.2	67.0±6.7	54.1±4.0	77.6±6.6	75.1±5.1	84.5±5.4	82.5±5.2
ALP (IU/L)	1	842.0±19.8	838.0±18.0	840.0±15.0	846.0±14.6	842.3±12.8	1184.3±21.5 [#]	1094.6±22.5	1245.7±15.7	1107.3±15.2
	2	741.5±25.5	762.0±12.0	750.0±11.0	753.3±13.1	738.3±16.5	928.0±14.6	848.7±16.7	918.7±14.4	888.7±18.6
	4	551.0±29.7	564.0±13.0	566.0±15.0	559.0±17.0	561.0±11.9	715.7±13.5	625.7±22.5	810.3±15.6	742.3±12.1
	8	383.0±10.6	364.0±13.0	341.0±11.0	451.0±21.0	363.3±12.9	421.0±20.4	396.3±15.9	514.3±12.4	429.0±18.4
LDH (IU/L)	1	2361.0±175.4	2305.0±103.0	2386.0±126.0	2392.3±161.9	2297.0±111.6	3143.7±120.7	3014.3±104.8	3841.7±140.8	3540.7±140.9
	2	2285.0±213.5	2284.0±182.0	2214.7±112.0	2245.7±143.3	2305.0±200.1	2810.3±100.4	2525.7±123.9	2885.0±155.7	2740.0±140.4
	4	1948.0±198.0	1979.7±166.2	1902.3±200.1	1914.3±162.4	1991.3±140.9	2111.0±111.0	2018.7±113.0	2443.0±142.6	2333.7±123.9
	8	1434.0±91.4	1440.7±135.1	1481.3±170.9	1541.3±128.3	1515.3±115.8	1845.3±145.3	1617.0±210.5	1914.7±214.7	1856.7±150.2

^{a)} : Mean ± SD

[#] : P<0.05, ^{**} : P<0.01 (difference from control)

^{*} : P<0.05, (difference from Cd-I-1, Cd-II-1, Cd-III-1 and Cd-IV-1)

IV-1군보다 유의하게 낮았다($P<0.05$).

LDH 활성치는 대조군에 비해 Cd-III-1군과 Cd-III-2군 및 Cd-IV-1군과 Cd-IV-2군에서 유의하게 상승한 것으로 나타나($P<0.05$, $P<0.01$) 카드뮴 투여농도가 낮은 군 보다 높은 군에서 높은 상승치를 보였다. 또한 카드뮴 단독투여군과 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군 간의 LDH의 활성치를 비교한 바 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군인 Cd-III-2군과 Cd-IV-2군이 카드뮴 단독투여군인 Cd-III-1군과 Cd-IV-1군보다 활성치가 유의하게 낮았다($P<0.05$). 그러나 다른 실험군간에는 유의한 차이가 없었다.

신장조직의 병리 조직학적 관찰 : 실험동물의 신장조직을 광학현미경을 이용하여 관찰한 결과는 Fig 1, 2 및 3과 같다. 증류수만 투여한 정상 대조군의 신장조직(Fig 1)은 사구체, 원위곡세뇨관 및 근위곡세뇨관이 잘 구분되었고 조직의 변성이나 괴사는 관찰되지 않았다. 카드뮴 단독투여군인 Cd-I-1군의 경우 카드뮴 투여 1주째에 신장피질의 곡세뇨관 상피세포의 변성 및 괴사, 세뇨관 확장 등의 소견이 관찰되었으며(Fig 2), 2주째에는 신장피질의 곡세뇨관 상피세포의 변성 및 괴사 소견이 다소 경미하였고, 4주째에는 곡세뇨관 상피세포의 변성 및 괴사, 세뇨관 확장 소견이 대조군에 가까웠다. 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군인 Cd-I-2군의 신장조직은 전 기간동안 특이 병변이 관찰되지 않았다(Fig 3). 한편 카드뮴 단독투여군인 Cd-II-1군, Cd-III-1군 및 Cd-IV-1군에서도 Cd-I-1군보다는 다소 심한 병변을 나타냈고, 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군인 Cd-III-2군, Cd-III-2군 및 Cd-IV-2군에서도 카드뮴 투여 초기에 신장조직 병변이 관찰되었으나 카드뮴 단독투여군 보다는 경미한 조직변화를 보였다.

고 찰

유산균발효유는 위암, 결장암, 비장암 등에 항암효과를 갖고 있으며³⁵, 화학물질에 기인된 암세포를 억제하는 작용이 있고^{7,9,31-33}, 장점막에 균막을 형성하며, 단백질의 소화흡수를 증진시키는 작용과³⁴, 칼슘(Ca), 인(P), 철(Fe)의 이용도를 향상시키며³⁵ 체내에 비타민 B₁, B₂, niacin, folic acid의 양을 증진시키고³⁶, 화학물질에 의해 유도된 DNA손상의 회복에 대한 효과가 있다³⁷는 사실과 카드뮴의 체내흡수가 장관내 균총과 무기질과 단백질함량이 높은 식이에 의해 저지된다는 많은 보고가 있다³⁸. 따라서 유산균발효유의 지속적인 섭취가 카드뮴의 장관내 흡수를 억제하여 카드뮴 중독증을 완화

시킬 수 있는 가능성을 예측하게 되었다. 또한 카드뮴의 대표적인 표적장기로는 급성중독시는 간장과 고환, 만성중독시는 신장으로 알려져 있으며³⁹ 인위적으로 카드뮴을 경구투여한 실험동물에서 일차적으로 간독성을 나타내는 생화학적 이상소견이 관찰되고 시간경과에 따라 신독성이 나타나는 것으로 밝혀져 있다³⁹.

이에 따라 본 실험에서는 모델동물로써 흰쥐를 이용하였고 카드뮴의 적용용량은 성숙 흰쥐의 1일 중독량인 1.7 μ g/g bw을 기준^{21,23,28}으로 2배수인 3.4 μ g/g bw, 4배수인 6.8 μ g/g bw, 8배수인 13.6 μ g/g bw의 카드뮴 단독투여군과 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군으로 구분하여 8주까지 사육하면서 혈액학적 수치, 혈장 효소 활성치의 변동 및 신장의 병리조직학적 변화에 대해 관찰하였다.

카드뮴 투여량에 따른 실험군의 각종 혈액학적 변동을 보면 RBC수, WBC수 및 Hb치는 대조군에 비해 모든 실험군에서 낮은 경향이 있으나 유의한 차이는 없었고, Hct는 대조군에 비해 모든 실험군에서 유의하게 낮은 것으로 관찰되었다(Table 2). 이 같은 결과는 카드뮴중독시 저혈구성, 저색소성 빈혈이 발생되며 카드뮴이 적혈구 막에서 Na-K-ATPase를 억제하여 세포막의 완전성을 상실케 함으로서 용혈성 빈혈을 초래하여 적혈구 조혈인자의 자극저해로 세포수가 급격히 감소된 결과가 아닌가 생각된다.

혈장중 효소활성치의 변동(Table 3)에서는 GOT활성치는 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군이 카드뮴 단독투여군 보다 Cd-I군, Cd-II군 및 Cd-III군에서 유의하게 낮게 관찰되었고($P<0.01$), GPT활성치는 Cd-I군과 Cd-II군에서 유의하게 낮게 관찰되었으나($P<0.01$), ALP와 LDH 활성치는 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군이 카드뮴 단독투여군 보다 Cd-III군과 Cd-IV군에서 유의하게 낮게 관찰되어 GOT와 GPT는 저농도의 카드뮴 투여에 의해서도 크게 영향을 받는 것으로 생각된다. 한편 GOT, GPT, ALP 및 LDH 활성치는 카드뮴 단독투여군보다 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군에서 더 낮은 수치를 보인 것으로 카드뮴 단독투여군의 경우 흡수된 카드뮴이 간조직의 손상을 일으킴으로써 이들 효소치가 증가한데 반해 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군에서는 유산균발효유가 장관내에서 카드뮴의 흡수를 저지함으로써 카드뮴에 의한 간조직의 손상이 저하되어 상대적으로 이들 효소치가 증가되지 않은 것으로 생각된다.

Nomiyama⁴⁰와 Contzea와 Popescu⁴¹는 카드뮴의 경구투여에 의해 각종 효소활성은 상승된다고 보고하였고, 카드뮴의 생체영향의 조기진단에는 간기능검사가

유효하다고 하였으며, Faeder et al¹⁶은 카드뮴에 의한 간장의 조직학적 변화와 효소활성의 변동에는 상관관계가 있을 뿐만 아니라 카드뮴 섭취후 간 장애가 있다고 시사하고 있어 카드뮴의 경구투여에 의한 GOT, GPT, ALP 및 LDH 등의 효소활성의 변동은 조직내 카드뮴 축적에 좋은 지표가 될 수 있을 것으로 생각된다. 흰쥐에 카드뮴(CdCl₂)를 경구투여할 경우 LD₅₀는 Cd 8.8mg/Kg bw이고 근육주사할 때의 LD₅₀는 Cd 2.5mg/Kg bw이며, 일반적으로 Cd 4.0mg/Kg bw 이상을 경구투여하면 급여독성을 유발한다^{30,46}. 카드뮴의 병리조직학적 독성은 급성일 경우는 조직변화가 간, 신장 및 고환에서 주로 관찰되며 만성일 경우는 신장에서 예민하게 나타난다고 보고된 바 있다^{30,39,46}. 본 연구에서 흰쥐에 투여한 Cd 1.7μg/g bw는 아급성 또는 만성독성을 유발할 수 있는 용량임으로 본 시험에 병리조직학적 관찰은 신장을 주 대상으로 하였다.

카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군과 카드뮴 단독투여군의 신장조직의 형태학적 관찰결과(Fig 1, 2 및 3), 카드뮴 단독투여군인 Cd-I-1군은 카드뮴 투여 1주째에 신장피질의 곡세뇨관의 확장이 관찰되었으나 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군인 Cd-I-2군에서는 대조군과 유사한 형태를 보였고, 카드뮴을 단독투여한 다른 군들에서는 Cd-I-1군 보다 전반적으로 다소 심한 병변을 나타냈지만, 카드뮴 투여 초기에는 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군이 카드뮴 단독투여군 보다 신장피질의 세뇨관 확장이 감소하는 양상을 보이다가 카드뮴 투여기간이 길어짐에 따라 점차 완화되는 양상을 보이고 있었다.

이상과 같은 병리조직학적 관찰 소견은 조와 전⁴³이 보고한 각 장기별 카드뮴 축적량과 비교해 볼 때 간장, 신장 및 고환의 카드뮴 축적량이 Cd-I 군과 Cd-II 군에서 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군이 카드뮴 단독투여군보다 유의하게 낮게 검출된 것과 관련성이 있는 것으로 생각된다.

또한 카드뮴 투여 초기에는 신장조직에서의 이상소

견이 발견되다가 투여기간이 길어짐에 따라 이상소견이 점차 감소되는 양상은 Goering와 Klaassen⁴⁴, Dunn et al⁴⁵이 보고한 바와 같이 신장에 카드뮴이 들어오게 되면 metallothionein이 형성되어 카드뮴을 저장, 운반 및 대사시킴으로써 카드뮴 중독에 대한 방어효과를 나타내어 병리학적 현상을 경감시킨 것으로 사료된다.

결론

Lactobacillus acidophilus 발효유의 투여가 카드뮴의 생체내 독성에 미치는 영향을 구명하고자 흰쥐에 1.7μg/g bw/day, 3.4μg/g bw/day, 6.8μg/g bw/day 및 13.6μg/g bw/day의 염화카드뮴과 *L. acidophilus* 발효유를 경구투여 하여 혈액학치, 혈장 효소 활성치의 변동 및 신장조직의 병리조직학적인 변화에 대해 일련의 실험을 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군에서 RBC, WBC 및 Hb의 수치는 대조군에 유의한 차이가 없었으나 Hct의 수치는 대조군에 비해 유의하게 낮았다.

2. 혈청중의 효소 활성치 변동은 GOT와 GPT는 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군이 카드뮴 단독투여군보다 저농도 카드뮴 투여군(Cd 1.7μg/g bw, Cd 3.4μg/g bw, Cd 6.8μg/g bw)에서 유의하게 낮았고(P < 0.01), ALP와 LDH는 고농도 카드뮴 투여군(Cd 6.8μg/g bw, Cd 13.6μg/g bw)에서 유의하게 낮았다(P < 0.05)

3. 대상동물의 신장조직을 관찰한 결과 카드뮴 단독투여군은 신장피질의 곡세뇨관 상피세포의 변성 및 괴사, 세뇨관확장 등의 소견이 관찰되었으나 카드뮴과 유산균발효유 혼합투여군에서는 조직병변이 미약하게 관찰되었다.

4. 이상과 같은 결과로 유산균발효유의 투여는 흰쥐에서 저농도 카드뮴 투여에 따른 독성을 감소시킴을 알 수 있었다.

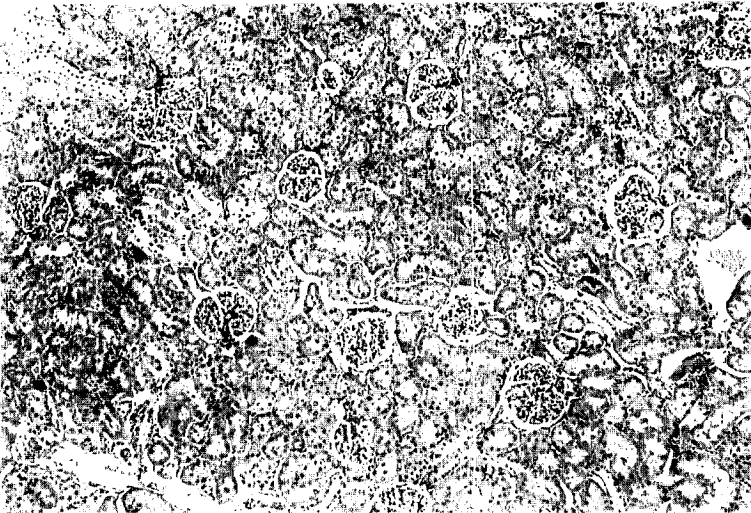
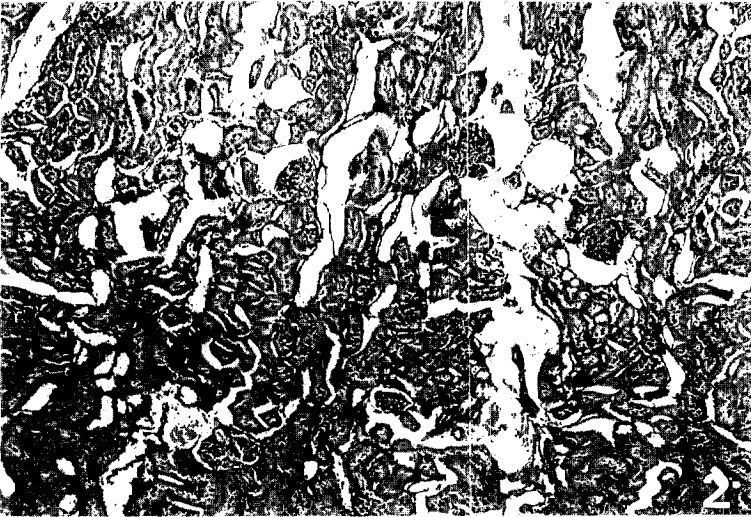
Legends for figures

Fig 1. The kidney of control group, showing normal structure. H & E, ×100.

Fig 2. The kidney of rat administered with CdCl₂(1.7μg/g bw/day) for 1 week.

Notice a severe acute tubular necrosis of the convoluted tubules and dilatation of tubules. H & E, × 100.

Fig 3. The kidney of rat administered with CdCl₂(1.7μg/g bw/day) mixed with *L. acidophilus*-fermented milk for 1 week. Notice no obvious changes comparing with the normal structure. H & E, × 100.



참 고 문 헌

1. Wollen A. *Food industries manual*. 20th ed., New York, Chemical publishing Co, 1970; 153-156.
2. Metchnikoff E. *The prolongation life* New York, Arno press, , 1977.
3. Fykwow A, Mayer JB. *Nutr. Abstr. Rev* 1940; 10: 162. cited from Seneca H, Henderson E, Collins A: *Am Pract* 1950; 1: 1252-1259.
4. Tramer J. Inhibitory effect of *Lactobacillus acidophilus*. *Nature* 1966; 21: 204-205.
5. Shahani KM, Ayebo AD. Role of dietary *Lactobacilli* in gastrointestinal microecology. *Am J clin Nutrition* 1980; 33: 2448-2457.
6. Sandine WE. Functions of intestinal lactic acid bacteria in humans. *Second Annual National Symposium for Lactic Acid Bacteria and Health*. Korea, 1981; 43-54.
7. Bogdanov IG, Dalev PG, Gurenich AI. Antitumor glycopeptides from *Lactobacillus bulgaricus* cell wall. *FEBS Letters* 1975; 57: 259-261.
8. Reddy GV, Shahani KM, Banerjee MR. Inhibitory effect of Yogurt on Ehrlich ascites tumor cell proliferation. *J Natl Cancer Inst* 1973; 50: 815-817.
9. Farmer RE, Reddy GV, Shahani KM. Antitumor activity of yogurt fractions. *J Dairy Sci* 1974; 57: 582.
10. Muralidhara KS, Sheggery GG, Elliker PR, et al Effect of feeding *Lactobacilli* on the coliform and *Lactobacillus* flora of intestinal tissue and feces form piglets. *J Food Protect* 1977; 40: 288.
11. Sorrells KM, Speck ML. Inhibition of *Salmonella gallinarum* by culture filtrates of *Leuconostoc citrovorum*. *J Dairy Sci* 1970; 53: 239-241.
12. Mikolajcik EM, Hamdan IY. *Lactobacillus acidophilus*. II. Antimicrobial agents. *Cultured Dairy Products J* 1975; 10(1): 18-20.
13. Shahani KM, Vakil JR, Kilara, A. Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*. I. Cultural conditions for the production of antibiosis. *Cultured Dairy Products J* 1976; 11(4): 14-17.
14. Sandine WE, Muralidhara KS, Elliker PR, et al. Lactic acid bacteria in food and health: a review with special reference to enteropathogenic *Escherichia coli* as well as certain enteric diseases and their treatment with antibiotics and *lactobacilli*, *J Milk Food Technol* 1972; 35: 691-702.
15. Goyer RA. Toxic effects of metals. in : Klaassem CD, Amdur MO, Doull J(eds), Casarett and Doull's *Toxicology*. 3rd ed., Macmillian Publishing Co, New York 1986; 582-596.
16. Faeder EJ, Chanet SQ, King LC. Biochemical and ultrastructural changes in livers of cadmium treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1977; 39: 473-483.
17. Dudley RE, Svovoda DJ, Klassen CD. Acute exposure to cadmium causes severe liver injury in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1982; 65: 302-313.
18. Mckee WD. *Environmental problems in medicine*. 1st ed., Charles C. Thomas, Illinois 1974.
19. Schrauzer GN, White DA, Schneider CJ. Cancer mortality correlation studies IV. Associations with dietary intakes and blood levels of certain trace elements, notalby Se-antagonists, *Bioinorg. Chem* 1972; 7: 35-56.
20. Bako G, Hanson J, Dewar R, et al. Cadmium and prostatic cancer in Alberta, *Can Med Assoc J* 1981; 124: 121.
21. Holden H. Further mortality studies on workers exposed to cadmium fume, In : Occupational Exposure to Cadmium. *Metal Bulletin, London* 1980; 23-24.
22. O'Riordan ML, Hughes EG, Evans HJ. Chromosome studies on blood lymphocytes of men occupationally exposed to cadmium. *Mutat Res* 1978; 58: 305-311.
23. Sirover MA, Loed LA. Infidelity of DNA synthesis in vitro: Screening for potential metal mutagens or carcinogens. *Science* 1976; 194: 1434-1436.
24. Omori M, Muto Y. Effects of dietary protein, calcium, phosphorus and fiber on renal accumulation of exogenous cadmium in young rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1977; 23: 361-373.
25. Fox MRS. Nutritional influences on metal toxicity. Cadmium as a model toxic element. *Environ Health Persp* 1979; 29: 95-104.
26. Calabrese EJ. Nutrition and environmental health, minerals and macronutrients. *New York, Wiley*

- and Sons 1981; 12.
27. Worker NA, Mogenicovsky BB. Effect of vitamin D on the utilization of zinc, cadmium and mercury in the chick. *J Nutr* 1961; 75: 222-224.
 28. Taquchi T, Suzuki S. The metabolism of 109 Cd administered to mice previously given and oral dose of cadmium. *Jap J Hyg* 1979; 34: 382-387.
 29. Schafer L, Andersen O, Nielsen JB. Effects of dietary factors on GI: Cd absorption in mice. *Acta Pharmacol Toxicol* 1986; 59: 549-552.
 30. 土屋 健三郎. 金屬中毒學. 醫齒藥出版株式會社, 東京, 1983; 285-301.
 31. Hirayama T. An epidemiological study on the effect of diet, especially of milk, on the incidence of stomach cancer. *Abstr International Cancer Congress, Tokyo* 1966; 713.
 32. Scioli SE. The influence of acidophilus milk and yogurt diets on the repair of carcinogen-induced DNA damage. Masters Thesis. University of Nebraska, 1982.
 33. Bogdanov IG, Popkhrstov P, Marinov L. Anti cancer effect of antibioticum *bulgaricum* on Sarcoma-180 and the solid from of Ehrlich carcinoma. *Abstr Intl Cancer Congress, Moscow* 1962; 364-365.
 34. Breslaw ES, Kleyn DH. In vitro digestibility of protein in yogurt at various stages of processing. *J Food Sci* 1973; 38: 1016-1021.
 35. Deeth HC, Tamime AY. Yogurt-nutritive and therapeutic aspects. *J Food Protect* 1981; 44: 78-86.
 36. Hartman AM, Dryden, LP. Vitamin in milk and milk products. Champaign, Ill. *Am Dairy Assoc* . 1965.
 37. Scioli SE. The influence of acidophilus milk and yogurt diets on the repair of carcinogen-induced DNA damage. Masters Thesis. University of Nebraska, 1982.
 38. Underwood EJ. *Trace elements in human and animal nutrition*. 4th ed., New York, Academic press 1977; 243-257.
 39. Dudley RE, Gammal LM, Klaassen CD. Cadmium-induced hepatic cadmium metallothionein in nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 77: 414-426.
 40. Nomiyama K. Effect of dietary cadmium on rabbits. I. Early signs of cadmium intoxication. *Toxicol Appl Pharmacol* 1975; 31: 4-12.
 41. Contzea I, Popescu F. The effect of body protein supply on resistance to cadmium. *Brit J Ind Med* 1978; 35: 154-160.
 42. Faeder EJ. Biochemical and ultrastructural changes in livers of cadmium-treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1977; 39: 473-478.
 43. 즈영채, 전무형. *Lactobacillus acidophilus* 발효유가 흰쥐의 생체내 cadmium 축적에 미치는 영향. 한국수의공중보건학회지 1994; 18(3): 217-283.
 44. Goering PL, Klaassen CD. Tolerance to cadmium-induced hepatotoxicity following cadmium pre-treatment. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984; 74: 308-313.
 45. Dunn MA, Blalock TL, Cousins RJ. Metallothionein. *Proc Soc Experim Bio Med* 1967; 185: 107-119.
 46. 정규철, 박정덕, 조병희. 급성 카드뮴의 치사량과 혈액 및 간조직에 미치는 영향. *중앙의대지* 1988; 13(1): 31-43.