

오토메탈로그라피에 의한 마우스의 신장, 간장, 비장 및 소뇌에 축적된 수은의 검출

조현욱 · 김명훈¹ · 황규영 · 이성태

순천대학교 자연대 생물학과, ¹광주보건전문대학 물리치료과

Detection of Mercury in Kidney, Liver, Spleen and Cerebellum of the Mouse by Autometallography

Hyun Wook Cho, Myung Hoon Kim¹, Kyu Young Hwang and Sung Tae Yee

Dept. of Biology, Sunchon National University, Sunchon, Chonnam, Korea

¹Dept. of Physical Therapy, Kwangju Health College, Kwangju, Korea

(Received November 11, 1997)

(Accepted December 6, 1997)

ABSTRACT : Adult male ICR mice were exposed to methylmercuric chloride (CH_3HgCl) through drinking water for 80 days. The distribution of mercury in the kidney, liver, spleen and cerebellum of the mouse was examined according to a autometallographic silver-enhancement technique based on a physical development process which renders mercury deposit visible. Grains of mercury traces were located in the proximal convoluted tubules. Lesser staining of the grains was seen in the collecting tubules of medulla. The glomerular basement membrane was void. In the liver, mercury accumulations were present primarily in the hepatocytes around portal area containing interlobular bile duct, artery and portal vein. Also grains of mercury traces were accumulated in the white pulp of the spleen and Purkinje cell layer of the cerebellum.

Key Words : Mercury, Kidney, Liver, Spleen, Cerebellum, Mouse, Autometallography

I. 서 론

1950년대 일본의 미나마따만과 1971-1972년 이라크에서 수은독성으로 인한 문제가 발생한 이후, 수은은 매우 위험한 환경오염원으로 알려져 있다(Møller-Madsen and Danscher, 1986). 그러나, 이런 독성에도 불구하고 여전히 살균제, 살충제 및 페인트 같은 공업물질을 만드는데에 수은이 사용되고 있다. 더욱이 산업 폐기물에는 수은이 함유되어 있으며 이런 폐기물을 해양, 강, 호수 와 매립지 등에 처리함으로써 일반인들이 수은에 노출될 가능성이 훨씬 높아졌다.

수은화합물에 노출시킬 경우 가장 많은 농도의 수은이 신장에 축적되는 것으로 밝혀져 있다(Morcillo and Santamaria, 1996). 대부분의 중금속은 신장에 신장괴사와 무뇨증과 같은 독성영향을 미친다. 염화수은을 흰쥐에 투여하면 근위 뇨세관에 조직병리학적 그리고 기능적 변화를 유발시키는데, 그 생화학적 독성기작은 밝혀져 있지 않다. 그러나, 현재 수은이 황화수소 그룹

과 결합하고 많은 수의 효소계를 억제하는 것으로 추정되고 있다. 특히 미토콘드리아의 효소가 수은에 민감하게 반응하는 것으로 보인다.

그리고, 수은에 노출될 경우, 신경계의 퇴행성 변화가 유발되는데(Garman *et al.*, 1975), Chang(1977)은 특히 유기 수은화합물은 다양한 신경계 결함, 예를 들면 감각마비, 운동실조, 시야의 감소 혹은 진전 등을 유발한다고 보고하였다.

여러 기관이나 혹은 신경계에서 수은에 의해 유발된 형태학적 장애를 기재하는것 외에도, 수은중독의 병리적 기작을 이해하는데 더욱 중요한 것은 수은이 침착된 세포를 찾아내는 것이다(Schiønning and Møller-Madsen, 1992). 본 연구에서는, 장기간 수은을 투여하였을 때 마우스의 신장, 간장, 비장 및 소뇌에 축적된 수은의 분포위치를 autometallography (Danscher, 1982; Møller-Madsen and Danscher, 1986, 1991; Nørgaard *et al.*, 1989; Danscher and Montagnese, 1994)라고 하는 조직화학적 방법으로 찾고자 한다. 생물체내에 있는

내재성 혹은 외부로부터 유입되어 축적된 금속을, 은 증폭(silver amplification)과정을 거쳐 조직이나 세포 수준에서 이들 금속을 광학 혹은 전자현미경으로 확인하는 방법이 autometallography(AMG)이다. 그리고, 수은을 검출할 수 있는 유일한 조직화학적 방법이 이 AMG이다(Danschler and Møller-Madsen, 1985).

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에서는 주령 12주된 ICR계 마우스 수컷 20 마리를 사용하였으며, 실험 시작할 때의 평균 무게는 30 g 이었다. 한 사육상자당 10 마리를 넣어 사육하였으며, 먹이는 펠렛(제일사료주식회사, No. 6-1-1)을 공급하였고, 사육실은 온도 $21 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$ 로 유지하였으며 조명시간은 12 시간을 주기로 하였다. 수은 투여군과 대조군의 두 그룹으로 나누고 한 군당 10 마리를 배정하였다.

2. 수은의 처치

수은 투여군의 경우, 예비실험에서 급성중독을 유발하지 않고 사지마비와 같은 이상증세를 나타내지 않는 적정농도인 증류수 ml 당 methylmercuric chloride(CH_3HgCl) 20 μg 을 용해하여, 식이용 물병에 넣어 하루는 수은이 든 물을, 그 다음 하루는 증류수를 교대로 반복하여 80 일간 공급하였다. 대조군의 경우는 증류수만 같은기간 동안 공급하였다. 실험 24 시간 전에 절식시켜 단두도살 하였다. 각 군의 10 마리중 5 마리는 동결절편기용을 위한 재료로, 나머지 5 마리는 epon포매용 재료로 사용하였다.

3. 동결절편기용 재료처리

마우스의 복부를 절개하여 신장, 간장 및 비장을 적출하고 두개골을 조각조각 떼어낸 다음 소뇌를 적출하여 기체 이산화탄소로 급속 냉동시켰다. 냉동된 기관 및 소뇌를 동결절편기내에서 30 μm 의 두께로 잘라 연속절편을 만들었다. 2% Farmer 용액(2% sodium thiosulfate와 2% potassium ferricyanide를 9:1의 비율로 혼합)으로 깨끗이 닦은 슬라이드 글라스에 절편을 올리고 2 시간 동안 실온에서 건조시켰다. 이 절편을 70% 에탄올에 30분 고정, 50%와 30% 에탄올에 각각 10분간 흡수, 증류수에 20분 그리고 0.5% gelatin용액에 30분간 담가

두었다가 들어내어 실온에서 2시간 동안 건조시켰다. 다음에 빛이 차단된 상태에서 26°C 의 발색제에서 1시간동안 발색시켰다. 발색제의 조성(Danschler and Montagnese, 1995)은 아래와 같이 하였다.

(1) protective colloid : 1 kg natural gum arabic resin을 2 l의 증류수에 용해, 5일간 저어주고 여러겹의 거머즈로 여과, 사용하지 않은 colloid 는 플라스틱 통에 넣어서 동결시키면 일년이상 보관 가능하다. (2) citrate buffer : 25.5 g citric acid · H_2O 를 증류수 50 ml에 용해한 다음 23.5 g sodium citrate · $2\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가하여 용해하고 최종량이 100 ml 되도록 한다. (3) reducing agent : 0.85 g hydroquinone을 45°C 의 증류수 15 ml에 용해한다. (4) silver ion supply : 염색 직전에 0.11 g silver lactate를 40°C 의 증류수 15 ml에 용해(반드시 알루미늄 호일 등과 같은 차폐물로 빛 차단하면서 용해)한다. 상기 용액 중 (1)번 용액 60 ml, (2)번 용액 10 ml, (3)번 용액 15 ml를 조심스럽게 혼합한 다음 발색 직전에 (4)번 용액 15 ml를 첨가하였다.

이어서 절편을 40°C 의 흐르는 물에 45분, 증류수에 10분, 5% sodium thiosulfate에 12분 그리고 증류수에 5분 동안 수세한 다음 1% toluidine blue에 3분 동안 대조염색시켰다. 증류수에 5분 동안 수세, 70% 에탄올에 30분 고정 및 80%, 95%, 100% 에탄올의 탈수과정, xy-lene 투명과정을 거쳐 Dammar resin으로 봉입하였다.

4. Epon 포매용 재료처리

신장, 간장, 비장 및 소뇌를 적출하여 3% glutaraldehyde 용액에 두었다가, 약 2 시간 지난다음 각 기관의 일부분을 0.5 mm 두께 이하로 자르고, 그 잘려진 조직을 다시 새로운 3% glutaraldehyde 용액에 24 시간 고정하였다. Phosphate buffer(pH 7.4)에 24 시간 수세하고, 60, 70, 80% 에탄올에 각 10분, 95% 에탄올에 15분씩 2회, 100% 에탄올에 20분씩 2회 담가 두어 탈수시킨다음 epon에 포매시켰다. 울트라툼을 이용하여 3 μm 두께의 semithin 절편을 만들어서 0.5% gelatin에 코팅된 slide glass에 올렸다. 45°C 의 hot plate에서 2시간 건조시킨 다음 0.5% gelatin 용액에 30분간 담가 두었다가 들어내어 실온에서 2 시간 동안 건조시켰다. 앞의 동결절편기용 재료처리에서와 동일한 발색제를 만들어 그 속에 담가서 염색시켰다. 이어서 절편을 40°C 의 증류수에 45분, 10% Farmer 용액(10% sodium thiosulfate와 10% potassium ferricyanide를 9:1의 비율로 혼합)에 10초간 수세 하였다. 1% toluidine blue로 대조염색하고 증류수에 수세하였으며 건조 후에 광학현미경으로 관찰하였다.

III. 결 과

수은화합물을 마우스에 장기간 경구투여 하여 신장, 간장, 비장 및 소뇌 부위에 축적되는 수은의 위치를 조직 화학적인 방법으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. 기관들을 동결시켜 절편표본을 만든 경우와 epon에 포매하여 절편을 만들어서 전체적으로 염색한 결과를 비교해 보면, 동결표본에서 수은이 매우 강하게 염색이 나타난 반면 epon에서는 약하게 관찰되었다(Figs. 1-4).

수은을 투여한 처리군의 신장에서 얻은 동결절편에

서 보면, 수은은 피질의 뇨세관에 강하게 염색되어 나타났으나 수질에서는 약하게 나타났다(Fig. 1). 사구체에는 수은이 침전되지 않았고, 근위뇨세관을 구성하는 상피세포들의 솔가장자리(brush border)에 특히 많은 수은이 축적되었으며, 결과적으로 수은이 뇨세관을 따라서 강하게 염색되어 나타났다(Fig. 1b). 저배율에서는 수질에 축적된 수은이 잘 관찰되지 않았으나, 고배율로 보면 수질에 있는 집합세관을 따라서 미약하게 침전된 수은이 관찰되었다(Fig. 1b). Epon에 포매하여 얻은 절편에서는 사구체 주위의 근위 곡요 뇨세관에

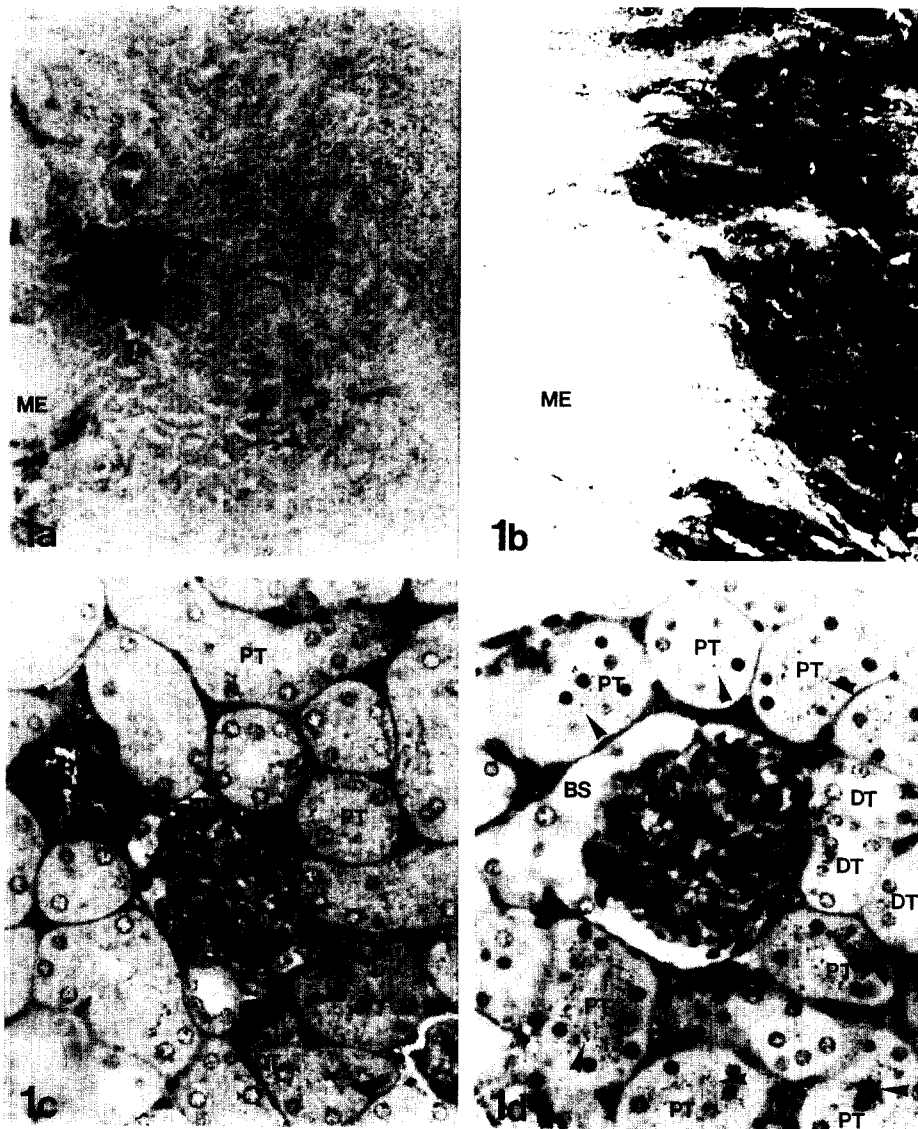


Fig. 1. Photomicrographs of a 30 μ m thick cryostat sections of kidney obtained from control (a) and mercury treated (b) groups respectively. Grains of mercury traces were located in the renal tubules of cortex. 100 X. Photomicrographs of a 3 μ m thick epon sections from control (c) and mercury treated (d) groups. Grains (arrowheads) of mercury traces were located in the proximal convoluted tubules. Bowman's space of treated group was more expended than that of control group. 400 X. Abbreviations used: BS, Bowman's space; CO, cortex; DT, distal convoluted tubule; GL, glomerulus; ME, medulla; PT, proximal convoluted tubule

수은이 축적되어 있었고 원위 뇨세관과 사구체에서는 관찰되지 않았다(Fig. 1d). 대조군에 비하여(Fig. 1c) 수은투여군에서는 보우만 주머니안에 있는 사구체가 위축되어 보우만 강(Bowman's space)이 확장되어 나타났다. 그리고, 근위곡요 뇨세관을 구성하는 상피세포의 기저면보다 내강에 접하는 유리면 가까운 쪽의 세포질에 수은이 축적되었다(Fig. 1d).

간 조직의 경우, 동결절편에서 보면 수은이 간 문맥의 분지가 있는 문맥야(portal area) 주위의 간세포에 집

중적으로 축적되어 있고, 중심정맥 주위의 간세포에는 축적되지 않았다(Fig. 2b). 따라서 대조군에 비하여(Fig. 2a) 문맥야에 침전된 수은 때문에 중심정맥(central vein)을 중심으로 한 간소엽(liver lobule)이 쉽게 관찰되었다. 소엽간 담관, 소엽간 동맥 및 소엽간 정맥으로 구성된 문맥야 부위가 epon절편에서는 형태적으로 쉽게 구별되는(Figs. 2c, 2d) 반면, 동결절편에서는 소엽간 정맥속의 혈액과 소엽간 담관속의 담즙이 서로 다르게 염색되어 구별이 되었다(Fig. 2b). 소엽간

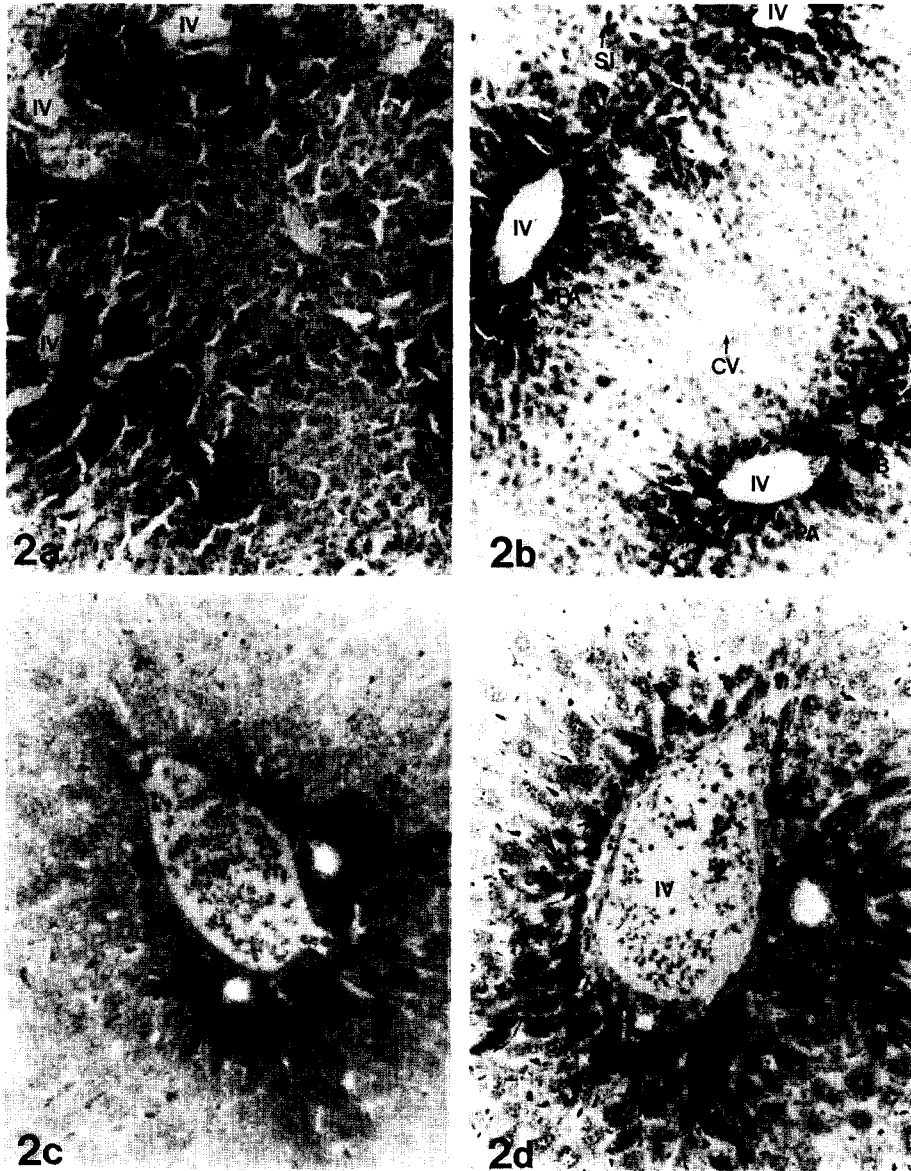


Fig. 2. Photomicrographs of cryostat sections of liver from control (a) and mercury treated (b) groups. 100 X. Grains of mercury were located in the portal area. Sinusoidal space of control was more wide than that of treated group. 100 X. Photomicrographs of epon sections of from control (c) and treated (d) groups. Grains (arrowheads) of mercury traces were accumulated in the portal area containing interlobular bile duct, artery and hepatic vein. 200 X. Abbreviations used: CV, central vein; IA, Interlobular artery; IB, interlobular bile duct; IV, interlobular hepatic vein; PA, portal area; SI, sinusoid

동맥은 직경이 작아서 확인하기가 어려웠다. 혈액에 비하여 담관의 담즙이 소량의 수은침전물을 함유하였다. 문맥야 이외의 간실질을 구성하는 간세포에서는 수은침전물이 뚜렷하지 않았으나(Fig. 2b) epon절편에서는 미약하나마 관찰되었다(Fig. 2d). 동양혈관의 내강이 대조군에 비해서(Fig. 2a) 투여군에서는 수축되어 나타났다(Fig. 2b). Epon절편의 간 조직에서 관찰해 보면 문맥야 부위의 간세포가 다른 부위에 있는 세포에 비하여 대조염색인 toluidine blue에 강하게 염색되면서 문맥야의 정맥, 동맥 및 담관 주위의 간세포에 수은

이 침전되어 있고, 그외의 간 세포에도 약하게 축적되어 있었다(Fig. 2d). 소엽간 정맥내의 적혈구로 인해 담관과는 구별이 잘 되었다. 동양혈관내의 대식세포인 Kupffer 세포도 수은을 함유하였다.

면역기관인 비장은 동결절편에서 세포가 조밀하게 배열되어 toluidine blue에 강하게 염색되는 백수(white pulp)와 세포가 드물게 배열되어 약하게 염색되는 적수(red pulp)로 구별되었다(Fig. 3a). 적수에 수은이 거의 축적되지 않았으며 백수에 집중적으로 침전되었다. 백수내에서도 중심동맥 주위의 약간 약하게 염색되는 종 중심

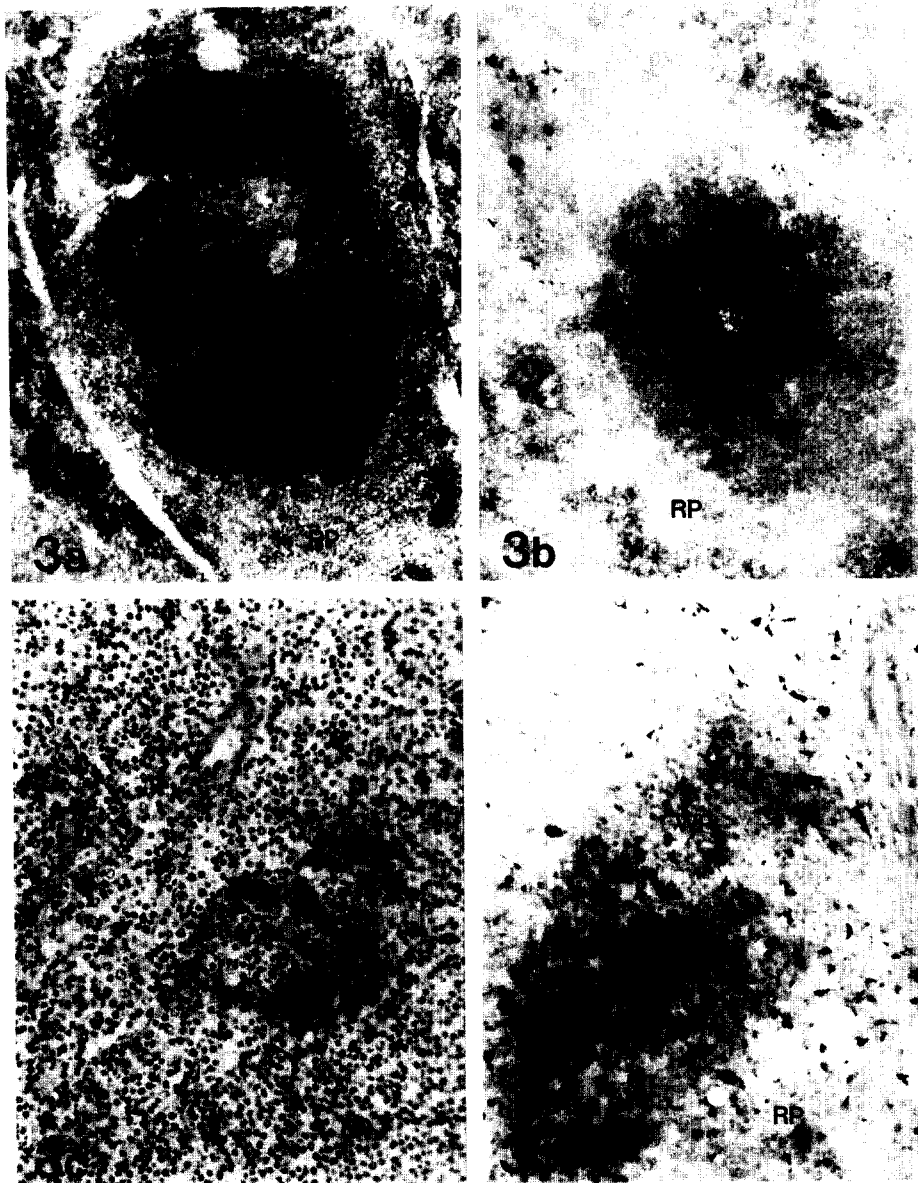


Fig. 3. Photomicrographs of cryostat sections of spleen from the control (a) and mercury (b) groups. Grains of mercury were located in the germinal center of white pulp. 100 X. Photomicrographs of epon sections of spleen from the control (c) and mercury (d) groups. 200 X. Abbreviations used: CA, central artery; GC, germinal center; RP, red pulp; WP, white pulp

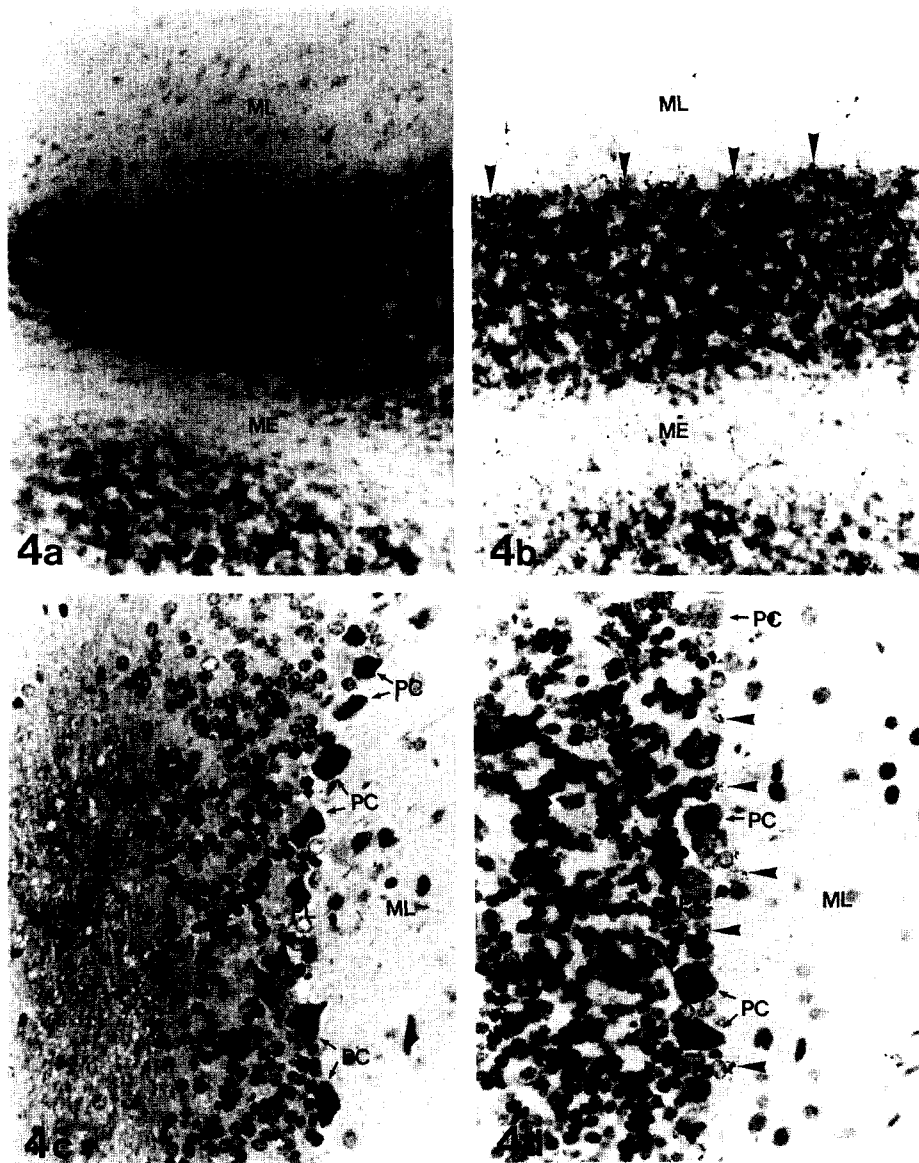


Fig. 4. Photomicrographs of cryostat sections of cerebellum from the control (a) and mercury (b) groups. Grains (arrowheads) of mercury were located in the Purkinje cell layer. 200 X. Photomicrographs of epon sections from the control (c) and mercury (d) treated groups. Grains (arrowheads) of mercury were located around the Purkinje cell, granular layer and medulla. 400 X. Abbreviations used: GL, granular layer; ME, medulla; ML, molecular layer; PC, Purkinje cell; PL, Purkinje cell layer

(germinal center)에 수은이 축적되어 나타났다(Fig. 3b). 신장이나 간장에서의 수은이 축적되는 형태와는 다르게 수은침전물이 모여서 된 큰 과립 형태로 관찰되었다. Epon절편의 대조군과 수은 투여군에서 비주동맥과 비주정맥으로된 비주(trabeculae)가 관찰되고 염색면에서 비교해 보면 동결절편에서 처럼 적수와 백수가 염색차이에 의해서 명확하게 구별되지 않았다(Figs. 3c, 3d).

중추신경계의 소뇌 부분을 중심으로 관찰하였다. Toluidine blue로 대조염색한 결과 소뇌의 분자층, Purkinje 세포층, 과립층 및 수질이 선명히 구별되었다

(Fig. 4). 수은은 주로 Purkinje 세포층에 미세한 과립형태로 존재하였으며 또한 수질과 과립층에 흩어져 나타났다(Figs. 4b, 4d). Epon절편에서 고배율로 관찰해 보면 수은이 Purkinje 세포에 국한되지 않고 그 주위에 흩어져 나타났다(Fig. 4d).

IV. 고 찰

이 연구의 목적은 물에 용해된 수은화합물을 마우스에 경구적으로 장기간 먹었을 때 신장, 간장, 비장 및

소뇌 부위에 축적된 수은을 조직화학적 방법으로 염색하고 광학현미경으로 관찰하여 그 정확한 분포위치를 확인하는 것이다. 본 실험방법에서 사용된 autometallography(AMG)라고 하는 이 조직화학적 방법은 매우 민감하여 약 10 분자 미만의 수은화합물만 있어도 발색되어 현미경으로 관찰이 된다(Danscher and Rungby, 1986).

수은화합물은 랫트의 기관 중에서도 신장에 가장 많이 축적되는 것으로 알려져 있는데(Morcillo and Santamaria, 1996), 마우스를 사용한 본 실험에서도 간장, 비장 혹은 소뇌에 비하여 매우 강하게 신장의 피질부위가 염색되어 위의 보고와 일치하였다. 염화수은을 흰쥐에 10일 동안 피하주사하고 AMG 방법으로 조사해 보면, 수은이 신장의 근위 곡요뇨세관을 이루는 상피세포에 주로 축적되며(Danscher and Rungby, 1986) 상피세포 내에서도 세포질의 리소솜에 분포한다고 보고하였다(Nørgaard *et al.*, 1989). 본 실험에서 마우스 신장의 경우, 동결절편된 표본에서는 뚜렷하게 수은이 축적된 뇨세관의 종류를 찾기가 어려웠으나, Epon에 포매하여 3 μm 두께로 semi-thin절편을 만든 표본에서는 수은이 거의 근위 곡요뇨세관에 분포하고 있음을 알 수 있었다. 사구체에는 수은이 축적되지 않았다. 특히 근위 곡요뇨세관에 수은이 대량으로 축적되는 것은 이 부위에서 재흡수가 활발하기 때문으로 보인다. Wester와 Canton(1992)은 수조에 methyl mercury chloride를 가하여 열대어인 구피를 3개월 동안 사육하면 신장의 뇨세관 상피세포가 괴사되며 또한 세포분열상을 보여주기도 하는데, 이것은 수은이 유사분열을 방해하기 때문으로 보고하였다. 본 연구에서는 뇨세관 상피세포의 이상을 관찰하기가 어려웠다.

동물의 간장은 독성물질이 소화관을 통하여 투입될 때 그 영향을 곧바로 받게 된다. 중금속이 직접적으로 간장에 미치는 영향에 대한 보고는 많지 않은 것 같다. Liu 등(1990)은 배양중인 흰쥐의 간세포에 카드뮴을 투여하면 K^+ 이온의 저해 뿐만 아니라 독성제거에 중요한 역할을 하는 glutathione의 농도를 감소시킨다고 하였다. Latta와 Donaldson(1986)에 의하면, sulfhydryl group을 갖고 있는 glutathione이 중금속과 복합물을 형성하고 이 복합물이 담즙에 배출되어 독성을 낮출 수 있다고 하였다. 이번 연구에서는 장에서 오는 정맥의 일종인 간문맥의 가지들을 포함하고 있는 문맥야(portal area) 부위에 수은이 집중되어 있었다. 특히 문맥야의 정맥 주위 간세포에 수은이 주로 분포하였고, 중심정맥(central vein) 주위의 간세포에는 분포하지 않았다. 이번의 결과로 볼 때, 장에서 다른 소화산물과

함께 흡수된 수은이 간문맥을 통해 간장으로 운반되는 것으로 여겨진다. Kupffer 세포도 수은과립을 함유하였는데 이것은 식작용의 일부로 보인다. Epon으로 포매한 절편에서 보면 간소엽을 구성하는 모든 간세포내에서도 약하게 수은이 관찰되는 것으로 보아 간문맥을 통하여 운반된 수은이 간조직 전체에 축적되는 것으로 사료된다.

Toluidine blue로 대조염색한 동결절편 표본에서 비장의 조직은 적수와 toluidine blue에 강하게 염색되는 비임파소절이라고 하는 백수로 명확히 구별되었다. 수은을 투여한 group에서는 여러 종류의 임파구가 발생되는 백수의 배중심(germinal center)에 수은이 축적되었다. 따라서 수은 축적에 의한 임파구 형성의 문제로 인하여 면역기능이 저하될 것으로 생각된다. Hultman 등(1994)에 의하면, 치과용 아말감(amalgam)을 마우스의 복강에 이식하여 6개월 동안 사육했을 경우, 아말감 속의 수은이 면역계인 비장에 축적되어 자가면역을 유발한다고 하였다. 이처럼 수은화합물이 자가면역을 일으킨다는 면에서 많은 보고가 일치하고 있다(LyMBERI *et al.*, 1986; Gillespie *et al.*, 1995). 본 실험에서는 비장에 축적된 수은의 분포만 확인하였기 때문에 자가면역과 관련된 부분은 차후에 더욱 조사되어야 할 것이다. *In vitro* 상태에서도 수은화합물에 노출되면 비장에서 유래한 T 세포와 같은 임파구의 interleukin-2 생산이 유도된다는 사실이 밝혀졌다(Hu *et al.*, 1997).

수은화합물은 특히 다양한 신경계 결함, 예를 들면 감각마비, 운동실조, 혹은 시야의 감소 등을 유발한다고 보고 되어 있다(Chang, 1977). 랫트에 CH_3HgCl 를 7주 동안 피하주사하고 척수를 조사해보면 수은이 주로 운동신경이 많은 회백질의 VII, VIII 및 IX층에 있는 신경원의 세포질에 축적됨으로서 상기와 같은 신경계 결함이 나타나는 것으로 추정하였다(Schiønning and Møller-Madsen, 1992). 본 실험에서는 소뇌 부분만 한정하여 관찰하였고 이 결과에 의하면 수은은 주로 소뇌의 Purkinje 세포층에 분포하였으며 과립세포로 구성된 과립층과 그리고 수질에 약하게 나타났다. Purkinje 세포층 주위에는 Purkinje 세포, 골지 세포, 바구니 모양의 농세포(basket cell)와 그리고 Bergmann 교세포 등이 존재하므로 수은이 축적된 정확한 세포의 종류는 전자현미경을 통하여 분석될 수 있을 것이다. 일반적으로 여러 가지 화합물은 혈뇌관문의 장벽에 의해서 뇌조직속으로 확산해 들어갈 수 없다. 그러나 수은화합물은 특수한 운반체인 L-cystein에 의해 이 관문을 통과해 들어가는 것으로 추정되고 있다(Thomas and Smith, 1982; Hirayama, 1985; Aschner and Clarkson, 1989).

REFERENCES

- Aschner, M. and Clarkson, T.W. (1989): Methylmercury uptake across bovine brain capillary endothelial cells in vitro. The role of amino acids, *Pharmacol. Toxicol.*, **64**, 293-299.
- Chang, L.W. (1977): Neurotoxic effects of mercury—a review, *Environ. Res.*, **14**, 329-373.
- Danscher, G. (1982): Exogenous selenium in the brain: A histochemical technique for light and electron microscopical localization of catalytic selenium bonds, *Histochemistry*, **76**, 281-293.
- Danscher, G. and Møller-Madsen, B. (1985): Silver amplification of mercury sulphides and selenides. A histochemical method for light and electron microscopic localization of mercury in tissue, *J. Histochem. Cytochem.*, **31**, 219-228.
- Danscher, G. and Montagnese, C. (1994): Autometallo-graphic localization of synaptic vesicular zinc and lysosomal gold, silver and mercury, *J. Histochemistry*, **17**, 15-22.
- Danscher, G. and Rungby, J. (1986): Differentiation of histochemically visualized mercury and silver, *Histochemical J.*, **18**, 109-114.
- Garman, R.H., Weiss, B. and Evans, H.L. (1975): Alkylmercurial encephalopathy in the monkey (Saimiri Sciurius and Macacar Arctoides), *Acta Neuropathol.*, **32**, 61-74.
- Gillespie, K.M., Qasim, F.J., Tibbatts, L.M., Thiru, S., Oliveira, D.B. and Mathieson, P.W. (1995): Interleukin-4 gene expression in mercury-induced autoimmunity, *Scand. J. Immunol.*, **41**, 268-272.
- Hirayama, K.L. (1985): Effect of combined administration of thiol compounds and methylmercury chloride on mercury distribution in rats, *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 2030-2032.
- Hu, H., Abedi-Valugerdi, M. and Moller, G. (1997): Pretreatment of lymphocytes with mercury in vitro induces a response in T cells from genetically determined low-responders and a shift of the interleukin profile, *Immunology*, **90**, 198-204.
- Hultman, P., Johansson, U., Turley, S.J., Lindh, U., Enestrom, S. and Pollard, K.M. (1994): Adverse immunological effects and autoimmunity induced by dental amalgam and alloy in mice, *FASEB J.*, **8**, 1183-1190.
- Latta, D.M. and Donaldson, W.E. (1986): Lead toxicity in chicks: Interaction with dietary methionine and choline, *J. Nutr.*, **116**, 1561-1568.
- Liu, J., Kershaw, W.C. and Klaassen, C.D. (1990): Rat primary hepatocyte culture are good model for examining metallothionein-induced tolerance to cadmium toxicity, *In vitro Cell. Dev. Biol.*, **26**, 75-79.
- Lymberi, P., Hirsch, F., Kuhn, J., Ternynck, T., Druet, P. and Avrameas, S. (1986): Autoimmunity induced by HgCl₂ in Brown-Norway rats. II. Monoclonal antibodies sharing specificities and idiotypes with mouse natural monoclonal antibodies, *J. Immunol.*, **136**, 3277-3281.
- Møller-Madsen, B. and Danscher, G. (1986): Localization of mercury in CNS of the rat. I. Mercuric chloride (HgCl₂) per os, *Environ. Res.*, **41**, 29-43.
- Møller-Madsen, B. and Danscher, G. (1991): Localization of mercury in CNS of the rat. IV. The effect of selenium on orally administered organic and inorganic mercury, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **108**, 457-473.
- Morcillo, M.A. and Santamaria, J. (1996): Mercury distribution and renal metallothionein induction after subchronic oral exposure in rats, *Biometals*, **9**, 213-220.
- Nørgaard, J.O.R., Møller-Madsen, B., Hertel, N. and Danscher, G. (1989): Silver enhancement of tissue mercury: Demonstration of mercury in autometallographic silver grains from rat kidneys, *J. Histochem. Cytochem.*, **37**, 1545-1547.
- Schiønning, J.D. and Møller-Madsen, B., (1992): Autometallographic detection of mercury in rat spinal cord after treatment with organic mercury, *Virchows Archiv B Cell Pathol.*, **61**, 307-313.
- Thomas, D.J. and Smith, C.J. (1982): Effects of coadministered low- molecular weight thiol compounds on short-term distribution of methylmercury in the rat, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **62**, 104-110.
- Wester, P.W. and Canton, H.H. (1992): Histopathological effects in *Poecilia reticulata* (guppy) exposed to methyl mercury chloride, *Toxicol. Pathol.*, **20**, 81-92.