

Intralipidos에 대한 급성독성 및 4주간 정맥 내 반복투여 독성시험

이광훈 · 제정환 · 강병철 · 이원우 · 임종희 · 정지윤 · 이병희 · 남정석 · 박재학** · 이영순*
서울대학교 수의과대학 공중보건학교실, **실험동물의학교실

Acute Toxicity and Four-week Intravenous Toxicity Studies of Intralipidos

Guang-Xun Li, Jeong-Hwan Che, Byeong-Cheol Kang, Won-Woo Lee, Jong-Hee Ihm, Ji-Yun Jung, Beoung-Hi Yi, Jeong-Seok Nam, Jae-Hak Park** and Yong-Soon Lee*

Department of Public Health and **Laboratory Animal Science, College of Veterinary Medicine, Seoul National University

(Received)

(Accepted)

ABSTRACT : This study was carried out to investigate the acute toxicity and four-week intravenous toxicity of the intralipidos in rats and rabbits. The acute toxicity study of Intralipidos was performed in Sprague-Dawley (SD) rats. Intralipidos was administered by intravenous to maximum dose 200 ml/kg. LD₅₀ of intralipidos was found 139.5 ml/kg and 153.8 ml/kg in male and female SD rats. Four-week toxicity of intralipidos using New Zealand White Rabbit and SD rats. The Rabbit and Rats were administered by intravenous seven days per week for 28 days, with dosage of 15, 6, 2 ml/kg/day and 20, 6, 2 ml/kg/day, respectively. Animals treated with intralipidos did not cause any death and show any clinical signs. They did not show any significant changes of body weight, feed uptake and water consumption. They were not significantly different from the control group in urinalysis, ocular examination hematological, serum biochemical value and histopathological examination. Therefore, Intralipidos was not indicated to have any toxic effect in the Rabbits and Rats, when it was administrated by intravenous below the dosage 15 ml/kg/day and 20 ml/kg/day for four weeks.

Key Words : Intralipidos, New zealand white rabbits, Sprague-dawley rats, Acute toxicity, Four-week intravenous toxicity.

I. 서 론

환자의 경구영양섭취가 불가능한 경우 각종 영양소(단백질, 탄수화물, 지방, 비타민, 전해질 등)는 정맥을 통하여 투여하게 된다. 이제까지 탄수화물은 당으로서, 단백질은 아미노산으로서 공급되어 왔으나 지방은 지질대사에 이상이 생긴다는 우려 때문에 사용이 습관적으로 제어되어 왔다. 탄수화물, 단백질을 등장액으로 투여하자면 많은 양이 필요하고 농축액을 하면 혈전성 정맥염이 생길우려가 있다. 이러한 결점을 배제하기 위하여 최근 Wretlind Schubert 박사의 연구로 소량의 주사로 다량의 칼로리를 얻을수 있으며 부작용이 없이 임상적으로 사용가능한 정주용 지방유제

Intralipidos가 완성되었다. 지방 유제는 창상성 또는 패혈증 환자에게 있어서 매우 유용한 에너지원이 되는 것이 보고되고 있다(Ball, M.J., 1991; Nordenstrom, J. et al., 1982).

Intralipidos는 정제대두유를 난황레시틴으로 유화하여 미세화한 안정한 정맥주사용 지방유제로서 글리세린을 첨가하여 체액에 가까운 삼투압을 가지고 있어 말초정맥으로 뿐만 아니라 중심정맥으로도 안전하게 투여가능하고 소량으로도 높은 칼로리를 보급할수 있고 필수지방산의 보급에도 효과적이므로 수술전후 및 각종 병중병후에 영양수액으로 광범위하게 사용할수 있는 정주용 지방유제로 연구되었다.

따라서, 본 연구에서는 Intralipidos를 임상에 적용하기 위하여 안전성시험의 일환으로 Intralipidos에 대하여 급성독성시험과 4주간 정맥내 반복투여에 의한 독

*To whom correspondence should be addressed.

성시험을 수행하게 되었다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

녹십자양행(주)에서 제공한 정맥주사용 Intralipidos를 시험에 사용하였다.

2. 실험동물

실험동물로는 랫드의 경우 6개월령의 암·수 각각 16마리씩을 대한실험동물연구센터에서 구입하여 약 1주간 순화시키면서 일반증상을 관찰하여 건강한 동물 암·수 각각 12마리씩을 시험에 사용하였다. 또 SD Rat의 경우 4주령의 암·수 각각 50마리씩을 서울대학교 실험동물사육장에서 구입하여 동물실에서 1주간 순화시키면서 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 40마리씩 선정한 후 사용하였다. 실험기간 중 사육실 환경조건은 실내온도 $24 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 10\%$, 환기회수 10~12회/hr로 하였으며, 조명시간은 오전 7시부터 오후 7시까지, 조도는 150~200 Lux로 하였다. 토끼는 토끼용 삼단사육상자(42×50×31 cm, 명진기계제작)에서, 랫드는 랫드용 polycarbonate 상자(26×42×18 cm, 명진기계제작)에서 사육하였다. 모든 동물은 공히 사료(랫드용 고품사료: 삼양사료 주식회사, 토끼용 고품사료: 삼양사료 주식회사)와 음수를 자유급여하였다.

3. 시험군의 구성, 투여농도 및 용량

급성독성시험은 임상용량, 기존자료와 예비실험 등의 자료를 근거로 200 ml/kg을 고용량으로 하여 공비 × 0.9로 각각 5개의 용량군을 설정하였으며, 투여액량은 정맥으로 체중을 기준으로 투여하였다. 정맥내 투여는 24G 바늘을 가진 주사기와 Infusion pump(World precision)를 사용하여 2.5 ml/kg/min의 속도로 미정맥내로 1회 투여하였다. 대조군에는 주사용 생리식염수((주)중외제약)를 200 ml/kg으로 투여하였다. 투여 후 임상증상, 체중의 변화 및 폐사여부를 1주일 동안 관찰하였고, 체중측정은 투여직전 및 투여 후 1, 3 및 7일째에 실시하였다. 시험종료 후 모든 동물을 ether마취하에 방혈치사하고, 육안적으로 장기의 이상여부를 관찰하였다.

4주간 반복투여시험은 임상용량, 기존자료와 예비실험

등의 자료를 근거로 토끼에서는 2, 6, 15 ml/kg/day를 각각 저용량군, 중간용량군, 고용량군으로 정맥 투여하고, 음성대조군으로는 주사용 생리식염수만을 15 ml/kg/day 정맥 투여하였고 랫드에서는 2, 6, 20 ml/kg/day를 각각 저용량군, 중간용량군, 고용량군으로 정맥 투여하였으며 음성대조군으로는 주사용 생리식염수를 20 ml/kg/day 정맥 투여하였다.

4. 관찰 및 검사항목

1) 일반증상 관찰

시험기간 중 1일 1회 실시하였고, 일반 임상증상 항목으로서 anorexia, salivation, diarrhea, vomiting, polyuria, anuria, fecal change의 정도를 기록하였다.

2) 체중측정

모든 동물에 대하여 시험개시일로부터 시험종료일까지 매주 2회 측정하였다.

3) 사료섭취량 및 음수량 측정

사육상자별로 당일 급여 및 급수총량과 익일 잔량의 차를 시험개시 후 매주 2회 측정하여 일일 사료섭취량 및 음수섭취량으로 하였다.

4) 뇨검사

토끼의 경우 모든 동물에 대하여 시험개시전과 시험기간 중 각각 1회 채뇨하였으며, 랫드인 경우는 시험기간 중 무작위로 각 군당 5마리씩의 동물에 대하여 1회 채뇨하였다. 채취한 뇨에 대하여 외관, 뇨량, 색을 관찰하고, 즉시 뇨검사용 시험지(N-multistix, Ames)를 사용하여 nitrite, urobilinogen, protein, pH, blood urea, gravity, ketone body, bilirubin, glucose 등을 측정하였다.

5) 안과학적 검사

토끼에서는 시험개시전 및 시험기간중 모든 시험동물에 대하여, 랫드에서는 투여기간 중 무작위로 각 군당 5마리씩의 동물에 대하여 육안 및 검안경을 이용한 안과학적 검사를 실시하였다.

6) 혈액학적 및 혈청생화학적 검사

토끼에서는 시험개시전 및 부검전 모든 시험동물에 대하여, 랫드에서는 부검 전에 모든 시험동물에 대하여 채혈을 실시하였다. 일반 혈액학적 검사는 혈액자동분석기(Coulter S880과 H1, technicon, USA)를 이용하여 적혈구수(RBC), 총백혈구수(WBC), 헤모글로빈

(hemoglobin), hematocrit, MCV, MCH, MCHC, platelet, 호산구(eosinophil), 호중구(neutrophil), 임파구(lymphocyte), monocyte, 호염구(basophil)수를 측정하였으며, 혈액응고시간[Prothrombin time(PT), Partial thromboplastin time(PTT)]은 APTT, PT reagent(國際試藥, Japan)를 이용하여 직접 검사하였다. 혈청 생화학적 검사는 채취한 혈액의 일부를 실온에 30분간 방치하여 응고 후 원심분리(3,000 rpm, 30 min)하여 얻은 혈청에 대해서 혈청자동분석기(Express 550과 SPOCHEM™ SP-440, ARKRAY, Japan)를 이용하여 alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase(AST), alkaline phosphatase (ALP), 총 콜레스테롤(total cholesterol), 혈당(blood glucose), 총단백(total protein), 총 빌리루빈(total bilirubin), 혈액요소질소(BUN), creatinine, albumin, triglyceride, lactate dehydrogenase(LDH), chloride 및 Ca를 측정하였다.

7) 장기중량 및 크기 측정

모든 시험동물에 대하여 간장, 신장(좌·우), 폐, 비장, 심장, 부신(좌·우), 뇌, 흉선, 난소(좌·우), 고환(좌·우), 타액선(좌·우), 자궁 등의 체중에 대한 상대 장기 중량 및 크기를 측정하였다.

8) 병리조직검사

토끼에서는 ketamine(1 mg/kg)으로 마취시킨 다음, 목동맥에 카테터를 삽입하여 충분한 방혈을 시켰고, 랫드에서는 ether로 마취한 다음 복대동맥을 절단하여 충분한 방혈을 시켰다. 장기중량 측정이 끝난 모든 장기를 10% 중성 포르말린액에 고정시켰고 2주간 이상의 충분한 고정을 거친 모든 장기조직은 파라핀 포매기(SAKURA, Tissue-Tek® VIP)에 포매하여 마이크로

탐(MICROM, Rotary Microtome, HM340E)으로 3 μ m 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색을 하여 관찰하였다. 대퇴골은 buffered formic acid를 이용하여 탈회시킨 다음 포매하여 절편을 만들고 염색하여 관찰하며, 관찰부위는 연골판 하부의 골수를 관찰하였다.

9) 통계학적 방법

Rat의 LD₅₀은 Litchfield and Wilcoxon법을 이용하여 산출하였고 체중변화는 대조군과 투여군과의 차이를 one-way ANOVA에서 유의차가 인정되는 F값이 관찰될 때 대조군과 각 용량군과 비교하기 위하여 Dunnett's t-test를 하였으며, 발생병변의 빈도는 χ^2 (chi-square)검정을 하였다.

4주간 반복투여시험에서 얻은 측정치의 통계학적 분석은 통계처리 computer program인 SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 등분산 검정 후 one-way ANOVA에서 유의한 F값이 관찰되는 항목에 대하여 대조군과 각 용량군 사이에 유의수준 p<0.05로 Dunnett's t-test를 이용하여 비교하였고, 비모수인 경우는 분산에 대하여 Kruskal-Wallis nonparametric analysis 후 유의한 경우 Wilcoxon-Mann-Whitney rank-sum test, Nemenye-Kruskal-Wallis multiple comparisons을 실시하였다. 또한, 병리조직학적으로 관찰된 병변의 발생빈도는 χ^2 (Chi-square)검정을 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 임상증상

랫드 급성독성시험의 모든 시험동물에 대하여 임상

Table 1. Mortality of SD rats after intravenously treated with Intralipidos

Sex	Dose (ml/kg)	Hours after treatment						Days after treatment							Finalmortality	
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7		
Male	200	4 ^a	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	6/6
	180	1	2	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	6/6
	162	0	0	0	0	0	0	2	2	1	0	0	0	0	0	6/6
	146	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	4/6
	131	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2/6
	118	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
Female	200	2	1	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	6/6
	180	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	6/6
	162	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	4/6
	146	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2/6
	131	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
	118	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6

^a. No. of dead animal found.

Table 2. Body weights of male and female SD rats intravenously treated with Intralipos (unit :g)

Dose (ml/kg/day)	\Sex \day No. of animal	Male		
		0 6	4 6	7 6
200		181.05±12.18	-	-
180		182.90±14.92	-	-
162		184.42±10.78	-	-
146		183.57±7.61	183.10±0.46	182.75±0.49
131		184.32±6.91	191.40±5.53	199.30±9.55
118		182.42±5.34	203.18±7.59	210.83±13.8
0		182.63±5.07	192.80±9.94	200.70±11.42

Dose (ml/kg/day)	\Sex \day No. of animal	Female		
		0 6	4 6	7 6
200		156.12±9.75	-	-
180		153.40±9.38	-	-
162		153.72±9.37	163.95±0.35	162.55±0.64
146		153.27±8.09	165.05±4.19	163.95±6.22
131		153.58±6.49	170.47±8.83	175.77±10.27
118		154.30±5.66	173.12±11.2	182.42±15.32
0		155.30±5.46	164.02±5.18	174.08±2.36

^a, value were expressed mean ± S.D. ^b, value were expressed No. of animals examined.

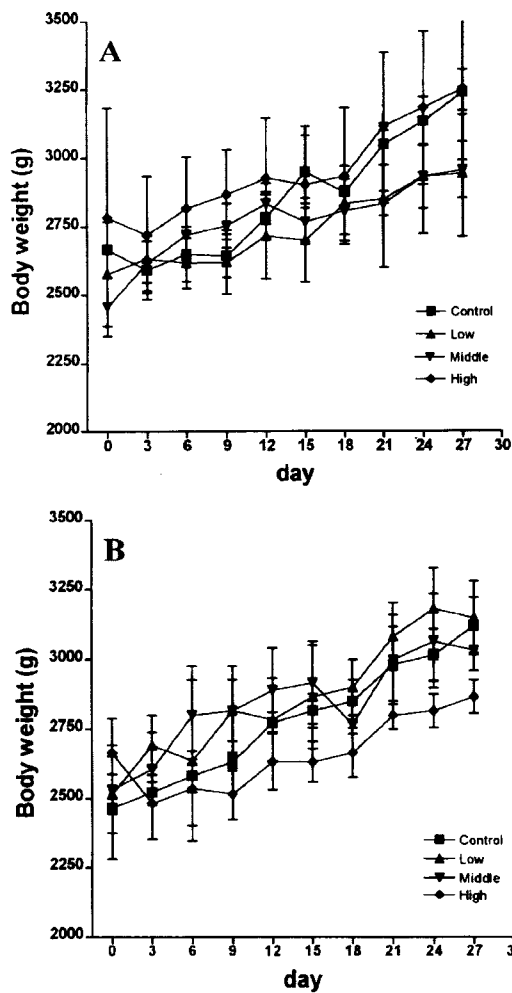


Fig. 1. Body weights changes in male (A) and female (B) rabbits intravenously injected with intralipidos for 28 days. Values were presented mean ± SD.

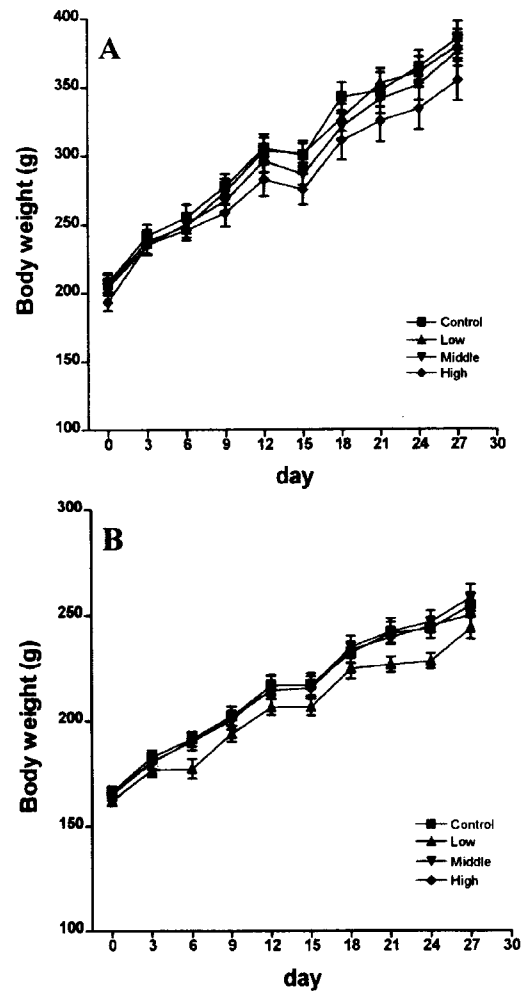


Fig. 2. Body weights changes in male (A) and female (B) SD rats intravenously injected with intralipidos for 28 days. Values were presented mean ± SD.

Table 5. Hematological values of rabbits intravenously treated with Intralipidos

Parameter	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 15
Neutrophil (%)		59.00±13.00	47.67±14.01	53.00±18.39	48.33±7.77
Lymphocyte (%)		38.67±11.37	49.67±16.50	45.50±19.09	49.67±8.08
Monocyte (%)		2.00±2.65	2.00±1.73	1.00±0.00	2.00±1.00
Eosinophil (%)		0.33±0.58	0.67±1.16	0.00±0.00	0.00±0.00
Basophil (%)		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)		10.77±1.82	10.20±0.27	11.05±1.20	12.97±3.82
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)		6.02±0.23	5.86±0.68	5.51±0.21	5.21±0.59
HGB (g/dl)		12.77±0.45	12.27±1.10	11.45±0.50	11.27±0.76
HCT (%)		37.00±2.00	36.67±2.52	34.00±1.41	33.00±2.00
MCV (fL)		62.00±2.65	62.67±3.79	61.50±0.71	64.00±4.00
MCH (pg)		20.67±0.58	20.67±1.16	20.00±0.00	21.33±1.16
MCHC (g/dl)		33.33±0.58	32.67±1.16	33.00±0.00	33.33±1.16
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)		480.33±74.46	467.00±64.51	471.00±107.48	352.33±185.11
Parameter	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Female			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 15
Neutrophil (%)		61.00±1.73	49.33±11.37	51.00±14.73	46.50±0.71
Lymphocyte (%)		37.67±2.08	48.67±10.21	45.33±12.42	50.00±4.24
Monocyte (%)		1.00±1.73	1.67±2.08	3.00±2.00	2.00±1.41
Eosinophil (%)		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Basophil (%)		0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)		9.83±0.61	10.33±2.07	10.27±1.08	10.75±0.21
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)		5.64±0.71	5.91±0.45	5.71±0.83	4.86±0.34
HGB (g/dl)		12.40±0.95	12.50±0.46	12.43±1.70	10.70±0.71
HCT (%)		36.67±2.52	36.67±0.58	37.00±5.57	32.00±1.41
MCV (fL)		66.00±4.36	62.67±4.04	65.33±0.58	67.00±1.41
MCH (pg)		21.67±1.16	21.00±1.00	21.00±0.00	21.50±0.71
MCHC (g/dl)		33.00±1.00	33.33±1.16	32.67±0.58	32.00±0.00
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)		327.67±101.12	370.00±53.78	463.00±61.44	343.00±110.31

Each value was expressed as mean \pm S.D. of 3 rabbits. WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet.

Table 6. Hematological values of rats intravenously treated with Intralipidos

Parameter	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 15
Lymphocyte ($\times 10^3/\mu\text{l}$)		74.64±4.56	76.79±10.03	75.39±5.49	76.93±1.95
MID (%)		13.80±2.43	13.14±6.25	13.51±3.26	12.85±0.68
GRAN (%)		12.26±2.49	10.07±3.88	11.1±3.48	10.22±1.31
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)		9.30±2.54	12.90±2.34	10.51±4.28	12.15±3.57
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)		6.36±0.45	6.36±0.63	6.79±0.84	6.52±0.40
HGB (g/dl)		14.34±0.91	13.90±1.10	14.68±1.65	14.04±0.58
HCT (%)		34.45±2.13	34.18±3.27	37.19±4.14	36.16±1.97
MCV (fL)		54.18±1.18	53.74±1.40	54.88±1.14	54.66±1.58
MCH (pg)		22.37±0.82	21.87±1.11	21.66±0.73	21.29±0.46
MCHC (g/dl)		40.56±0.78	40.69±1.66	39.58±0.74	39.55±1.56
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)		1149.00±273.94	1130.22±276.34	1115.00±241.37	1305.44±329.82
Parameter	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Female			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 15
Lymphocyte ($\times 10^3/\mu\text{l}$)		77.01±3.00	76.00±9.85	81.06±4.42	75.74±7.43
MID (%)		12.27±1.15	13.11±6.49	10.90±3.37	13.37±5.79
GRAN (%)		10.72±2.05	10.99±4.69	8.60±2.65	10.47±3.26
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)		11.19±3.48	10.42±3.82	9.99±3.37	13.33±7.10
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)		5.68±0.32	5.50±0.49	5.60±0.27	5.20±0.35*
HGB (g/dl)		14.14±0.55	13.57±0.85	13.95±0.75	13.33±0.69
HCT (%)		31.39±1.68	29.91±2.63	30.68±1.75	28.89±2.04
MCV (fL)		55.31±0.46	54.41±0.80	54.69±0.72	54.88±1.91
MCH (pg)		24.71±1.04	24.90±1.08	24.79±1.25	25.62±1.42
MCHC (g/dl)		44.79±2.01	45.77±1.78	45.24±2.60	46.71±2.39
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)		905.75±178.53	1034.25±162.97	1123.88±76.58	1073.75±187.50

Each value was expressed as mean \pm S.D. of 10 rats. *, Significantly different from control group ($p < 0.05$). MID, middle range population; GRAN, granulocytic; WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet.

증상을 관찰한 결과 200 ml/kg과 180 ml/kg에서 모든 동물이 폐사하였고 각 용량군에서 폐사된 동물은 죽기 전에 빈맥, 호흡곤란, 입모현상, 혈뇨 등의 임상증상을 나타내었다. 그러나 생존동물은 별다른 임상증상이 관찰되지 않았다(data not shown).

4주간 반복투여독성시험의 토끼와 랫드에서 각각 저용량(2 ml/kg/day), 중간용량(6 ml/kg/day), 고용량(토끼에서 15 ml/kg/day, 랫드에서 20 ml/kg/day) 및 대조군에서 시험물질 투여로 여겨지는 임상증상을 관찰하지 못하였다(data not shown).

2. 폐사율

랫드 급성독성시험의 시험전기간을 통하여 200 ml/kg B. W. 최고용량의 투여군에서 암, 수 모든 동물이 폐사하였으며 180 ml/kg B. W. 투여군에서 암·수동물이 모두 폐사였다. 또한 162 ml/kg B. W. 투여군에서 수컷은 모두 폐사하였고 암컷은 4마리가 폐사하였으며 146 ml/kg B.W. 투여군에서 수컷 4마리가 폐사하였고

암컷은 2마리 폐사하였다. 131 ml/kg B. W. 투여군에서 수컷 2마리 폐사하였다(Table 1). 따라서, rat에서의 LD₅₀치는 수컷에서 139.47 ml/kg B.W.이었고 암컷에서는 153.76 ml/kg B.W.이었다.

토끼와 랫드에서 4주간 정맥내 반복투여 독성시험에서는 저용량, 중간용량, 고용량 및 대조군에서 시험기간 중 사망 동물은 관찰되지 않았다(data not shown).

3. 체중변화

랫드를 이용한 급성독성시험에서 암수 각각 6개 용량으로 투여한 군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 또한 투여용량군 사이의 체중변화는 용량의존성을 나타내지 않았다(Table 2).

4주간반복투여독성시험의 토끼와 랫드의 대조군 및 투여군 모두에서 유의할 만한 체중 변화는 관찰되지 않았다(Figs. 1 and 2).

4. 사료 및 음수섭취량 변화

Table 7. Serum biochemical values of rabbits intravenously treated with Intralipidos

Parameter	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 15
ALT (IU/L)		49.33±58.05	17.67±6.81	12.33±4.04	11.33±2.31
AST (IU/L)		28.00±25.12	12.33±4.04	10.00±0.00	10.33±0.58
CHOL (mg/dl)		59.00±15.59	50.00±0.00	50.00±0.00	50.00±0.00
GLU (mg/dl)		83.00±21.66	77.67±3.22	97.33±12.10	98.00±11.53
TB (mg/dl)		0.43±0.15	0.30±0.17	0.37±0.21	0.27±0.06
TP (g/dl)		9.03±0.76	8.20±0.70	8.50±0.87	7.57±0.45
TG (mg/dl)		57.00±25.53	76.67±57.29	51.67±43.62	68.33±26.58
ALP (IU/L)		161.67±24.01	145.67±35.36	135.33±49.57	134.67±26.10
LDH (IU/L)		322.33±283.79	300.00±100.00	100.00±0.00	318.67±378.74
CREAT (mg/dl)		1.33±0.21	1.00±0.63	1.17±0.78	1.27±0.21
BUN (mg/dl)		26.33±2.52	21.33±1.53	22.33±4.16	21.67±4.51
Ca (mg/dl)		17.07±0.80	14.83±5.58	13.30±8.92	16.33±1.01
Albumin (g/dl)		5.77±0.21	4.13±0.81	4.13±2.54	4.70±0.26
Parameter	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Female			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 15
ALT (IU/L)		67.67±8.62	24.33±14.51	23.33±4.16	16.67±5.03
AST (IU/L)		34.00±31.75	14.67±8.08	10.00±0.00	11.00±1.73
CHOL (mg/dl)		57.00±12.12	53.00±3.00	63.67±9.02	60.67±17.62
GLU (mg/dl)		86.00±20.81	96.33±8.15	97.33±6.03	98.67±29.70
TB (mg/dl)		0.47±0.38	0.33±0.06	0.33±0.06	0.37±0.15
TP (g/dl)		7.47±0.60	8.23±0.86	8.03±0.42	7.50±0.78
TG (mg/dl)		46.33±30.29	35.00±14.80	68.00±23.00	38.33±12.10
ALP (IU/L)		149.33±46.43	156.00±65.05	114.33±20.50	128.00±21.66
LDH (IU/L)		495.33±282.57	100.00±0.00	142.00±72.75	309.67±164.49
CREAT (mg/dl)		1.40±0.46	1.40±0.00	1.27±0.23	1.23±0.15
BUN (mg/dl)		25.33±5.51	26.67±4.51	22.33±1.16	23.67±2.52
Ca (mg/dl)		16.87±0.72	16.53±0.45	16.60±1.25	16.13±0.84
Albumin (g/dl)		5.33±0.32	5.57±0.25	5.17±0.23	4.87±0.12

Each value was expressed as mean±S.D. of 3 rabbits. ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; CHOL, Total cholesterol; GLU, glucose; TB, total bilirubin; TP, total protein; TG, triglyceride; ALP, alkaline phosphatase; LDH, lactate dehydrogenase; CREAT, creatinine; BUN, blood urea nitrogen.

토끼와 랫드의 대조군 및 투여군 모두에서 유의할 만한 사료 및 음수섭취량 변화는 관찰되지 않았다 (data not shown).

5. 뇨검사 소견

토끼와 랫드의 대조군 및 투여군 모두에서 유의할 만한 이상을 나타내지 않았다(Tables 3 and 4).

6. 안과학적 검사소견

토끼와 랫드의 대조군 및 투여군 모두에서 유의할 만한 이상을 나타내지 않았다(data not shown).

7. 혈액학적 및 혈청생화학적 검사소견

부검시의 혈액학적 검사에 있어서 토끼에서 시험군은 대조군에 비하여 유의성 있는 차이를 보이지 않았지만 랫드에서 암컷의 RBC치는 고용량군(5.20±0.35)에서 대조군(5.68±0.32)에 비하여 통계적으로 유의성 있는 감소를 보였으나, 모두 랫드의 RBC정상치(4.95~7.59) 범위에 속하므로 정상으로 사료된다(Tables 5 and 6).

부검시의 혈청생화학적 검사에 있어서 토끼와 랫드에서 모든 시험군은 대조군에 비하여 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Tables 7 and 8).

Table 8. Serum biochemical values of rats intravenously treated with Intralipidos

Parameter	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 20
ALT (u/l)		54.99±6.38	52.74±6.92	56.03±7.61	47.06±10.11
AST (u/l)		226.74±52.72	239.47±49.66	205.48±19.77	209.22±55.01
CHOL (mg/dl)		41.70±9.23	46.70±7.92	45.56±5.88	44.70±6.26
GLU (mg/dl)		90.75±22.08	67.63±14.94	82.22±20.32	77.78±15.83
TB (mg/dl)		0.14±0.05	0.19±0.10	0.16±0.04	0.14±0.03
TP (g/dl)		7.31±0.47	7.26±0.60	6.86±0.78	6.91±0.57
TG (mg/dl)		61.50±15.76	48.10±13.25	64.67±20.22	67.80±21.31
ALP (u/l)		207.70±32.22	213.30±59.71	224.78±68.17	193.60±60.46
Ca (meq/dl)		9.92±1.19	9.80±1.23	9.60±1.47	9.73±0.53
CREAT (mg/dl)		0.35±0.05	0.34±0.07	0.30±0.09	0.32±0.06
BUN (mg/dl)		16.20±2.08	17.23±3.67	16.07±2.37	13.81±2.67
Cl (meq/l)		110.90±6.16	110.90±10.25	108.67±10.99	102.80±5.27
Albumin (g/dl)		3.89±0.16	3.58±0.31	3.60±0.41	3.46±0.32

Parameter	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Female			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 20
ALT (u/l)		50.03±7.55	47.48±5.61	43.41±12.76	59.26±48.49
AST (u/l)		192.79±39.31	194.40±42.53	155.60±60.43	194.75±89.05
CHOL (mg/dl)		50.88±10.62	49.90±7.62	48.10±7.53	44.50±5.87
GLU (mg/dl)		70.00±21.77	69.30±19.03	94.00±31.01	74.20±27.57
TB (mg/dl)		0.18±0.04	0.18±0.03	0.17±0.07	0.14±0.03
TP (g/dl)		7.14±0.73	6.81±0.43	6.78±1.20	6.91±0.63
TG (mg/dl)		43.50±12.15	29.90±8.70	38.00±16.27	38.30±9.48
ALP (u/l)		103.75±36.58	116.50±20.88	126.80±53.10	145.90±81.45
Ca (meq/l)		9.66±0.88	9.66±0.46	9.48±1.75	10.16±0.76
CREAT (mg/dl)		0.24±0.11	0.30±0.07	0.33±0.17	0.33±0.05
BUN (mg/dl)		16.48±3.61	20.29±2.85	17.17±4.90	16.81±2.73
Cl (meq/dl)		99.88±5.46	99.30±10.16	99.60±15.03	103.60±5.91
Albumin (g/dl)		3.64±0.39	3.71±0.28	3.76±0.76	3.65±0.54

Each value was expressed as mean±S.D. of 10 rats.

ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; CHOL, Total cholesterol; GLU, glucose; TB, total bilirubin; TP, total protein; TG, triglyceride; ALP, alkaline phosphatase; Cl, chloride; CREAT, creatinine; BUN, blood urea nitrogen.

Table 9. Prothrombin time and thromboplastin time of rabbits intravenously treated with Intralipidos (unit: second)

Intralipidos	\Group \Dose (ml/kg/day)	Control 0	Low 2	Middle 6	High 15	
						Male
Female	PT PTT	Mean S.D. Mean S.D.	13.00±2.00 23.33±3.22	10.67±1.16 17.00±3.00	11.33±2.08 19.33±4.04	9.33±0.58 19.67±1.53

Each value was expressed as mean±S.D. of 3 rabbits.

PT, Prothrombin time; PTT, Partial thromboplastin time.

Table 10. Prothrombin time and thromboplastin time of rats intravenously treated with Intralipidos (unit: second)

Intralipidos	\Group \Dose (ml/kg/day)			Control	Low	Middle	High
		Mean	S.D.	0	2	6	20
Male	PT	Mean	S.D.	17.90±5.63	19.50±5.58	19.00±4.19	24.40±7.78
	PTT	Mean	S.D.	28.40±3.44	24.00±8.56	23.60±6.70	28.70±3.83
Female	PT	Mean	S.D.	16.80±2.25	16.30±4.45	19.40±5.32	18.30±2.87
	PTT	Mean	S.D.	19.30±6.475	21.50±7.00	24.60±5.74	26.10±4.20

Each value was expressed as mean±S.D. of 10 rats.

PT, Prothrombin time; PTT, Partial thromboplastin time.

Prothrombin time(PT) 및 partial thromboplastin time (PTT) 검사소견에서는 토끼와 랫드의 대조군 및 투여군에서 유의할 만한 이상을 나타내지 않았다(Tables 9 and 10).

8. 체중에 대한 각 장기의 상대중량비

토끼 상대 장기 중량비에 있어서 시험군은 대조군에 비하여 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으나 랫드 암

컷 Spleen의 상대장기 중량비에 있어서 고용량군(0.31±0.05)은 대조군(0.27±0.03)에 비하여 유의성 있는 증가를 보였다(Tables 11 and 12). 그러나, 병리조직 검사 결과 어떠한 병변도 관찰할 수 없었다.

9. 병리조직검사 소견

랫드급성독성시험에서 본 시험물질의 투여에 기인한다고 사료되는 어떠한 유의할 만한 병변을 관찰하지

Table 11. Relative organ weights of rabbits intravenously treated with Intralipidos (unit: %)

Variable	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 15
Heart		0.27±0.04	0.29±0.05	0.26±0.08	0.24±0.02
Liver		2.31±0.24	2.07±0.12	2.14±0.22	2.27±0.21
Spleen		0.05±0.01	0.07±0.02	0.06±0.03	0.07±0.02
Brain		0.28±0.02	0.32±0.04	0.31±0.01	0.28±0.03
Adrenal gland	Left	0.004±0.001	0.004±0.001	0.004±0.001	0.004±0.001
	Right	0.004±0.001	0.004±0.001	0.004±0.001	0.004±0.001
Thymus gland		0.14±0.03	0.16±0.07	0.13±0.02	0.11±0.02
Salivary gland	Left	0.02±0.002	0.02±0.001	0.02±0.002	0.02±0.004
	Right	0.02±0.002	0.02±0.001	0.02±0.002	0.02±0.004
Lung		0.42±0.02	0.49±0.07	0.43±0.03	0.50±0.04
Kidney	Left	0.27±0.04	0.25±0.05	0.24±0.02	0.27±0.02
	Right	0.27±0.04	0.25±0.04	0.23±0.01	0.27±0.02
Testis	Left	0.09±0.03	0.08±0.01	0.07±0.02	0.08±0.03
	Right	0.09±0.03	0.07±0.02	0.06±0.04	0.08±0.03

Variable	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 15
Heart		0.26±0.05	0.25±0.04	0.25±0.02	0.29±0.11
Liver		1.83±0.07	1.97±0.15	1.92±0.31	2.12±0.16
Spleen		0.04±0.01	0.05±0.02	0.06±0.01	0.05±0.01
Brain		0.31±0.03	0.29±0.02	0.30±0.01	0.31±0.05
Adrenal gland	Left	0.004±0.001	0.004±0.001	0.005±0.001	0.004±0.001
	Right	0.004±0.001	0.004±0.001	0.005±0.001	0.004±0.002
Thymus gland		0.14±0.04	0.15±0.04	0.13±0.02	0.11±0.01
Salivary gland	Left	0.02±0.002	0.02±0.001	0.02±0.004	0.02±0.002
	Right	0.02±0.001	0.02±0.002	0.02±0.01	0.02±0.002
Lung		0.41±0.01	0.40±0.02	0.45±0.05	0.49±0.10
Kidney	Left	0.23±0.02	0.24±0.01	0.25±0.02	0.24±0.02
	Right	0.23±0.02	0.25±0.001	0.25±0.02	0.25±0.01
Ovary	Left	0.004±0.001	0.004±0.001	0.004±0.001	0.004±0.001
	Right	0.004±0.001	0.004±0.001	0.005±0.001	0.004±0.001

Each value was expressed as mean±S.D. of 3 rabbits.

Table 12. Relative organ weights of rats intravenously treated with Intralipidos

(unit: %)

Variable	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 20
Heart		0.38±0.03	0.36±0.03	0.35±0.03	0.37±0.03
Liver		2.86±0.16	2.94±0.16	2.96±0.42	3.01±0.25
Spleen		0.23±0.02	0.27±0.05	0.23±0.08	0.26±0.03
Brain		0.54±0.05	0.54±0.05	0.52±0.06	0.56±0.06
Adrenal gland	Left	0.02±0.03	0.01±0.003	0.01±0.002	0.01±0.002
	Right	0.02±0.03	0.01±0.003	0.01±0.003	0.01±0.003
Thymus gland		0.19±0.05	0.18±0.06	0.15±0.03	0.17±0.05
Salivary gland	Left	0.08±0.01	0.07±0.02	0.08±0.02	0.08±0.02
	Right	0.08±0.01	0.07±0.02	0.09±0.03	0.08±0.01
Lung		0.50±0.05	0.61±0.37	0.58±0.25	0.51±0.03
Kidney	Left	0.37±0.01	0.39±0.03	0.38±0.05	0.40±0.04
	Right	0.36±0.03	0.39±0.03	0.38±0.06	0.40±0.04
Testis	Left	0.43±0.07	0.45±0.05	0.43±0.07	0.48±0.08
	Right	0.44±0.07	0.45±0.05	0.43±0.07	0.48±0.07

Variable	\Sex \Group \Dose (ml/kg/day)	Male			
		Control 0	Low 2	Middle 6	High 20
Heart		0.41±0.03	0.40±0.04	0.39±0.03	0.40±0.03
Liver		3.08±0.25	3.05±0.37	3.11±0.31	3.29±0.37
Spleen		0.27±0.03	0.29±0.02	0.27±0.03	0.31±0.05*
Brain		0.77±0.05	0.76±0.05	0.73±0.06	0.73±0.05
Adrenal gland	Left	0.02±0.003	0.02±0.004	0.01±0.002	0.01±0.002
	Right	0.01±0.003	0.02±0.003	0.01±0.002	0.01±0.002
Thymus gland		0.22±0.04	0.26±0.03	0.23±0.07	0.23±0.01
Salivary gland	Left	0.08±0.01	0.09±0.01	0.09±0.01	0.09±0.02
	Right	0.09±0.01	0.09±0.02	0.09±0.01	0.09±0.02
Lung		0.60±0.06	0.61±0.03	0.61±0.07	0.62±0.09
Kidney	Left	0.38±0.02	0.37±0.03	0.37±0.02	0.36±0.03
	Right	0.38±0.02	0.37±0.02	0.36±0.03	0.37±0.04
Ovary	Left	0.03±0.05	0.03±0.005	0.03±0.008	0.03±0.005
	Right	0.03±0.004	0.03±0.007	0.03±0.008	0.03±0.005

Each value was expressed as mean±S.D. of 10 rats.

*, Significantly different from control group(p<0.05).

못하였다.

4주간반복투여독성시험의 병리조직학적 검사 결과, 토끼와 랫드에서 대조군에 비하여 시험물질의 투여로 인한 용량의존적인 특이할만한 소견은 인지되지 않았다. 특히 Spleen에 대한 조직학적 관찰에서 용량의존적인 조직변화가 관찰되지 않았다(data not shown).

따라서, intralipidos의 랫드를 이용한 급성독성시험 결과 LD₅₀치는 수컷에서는 139.47 ml/kg B.W. 이었고 암컷에서는 153.76 ml/kg B.W.로 설정되었다. 또한, 토끼와 랫드에서 4주간 Intralipidos 정맥 내 연속투여는 각각 최고용량 15 ml/kg/day와 20 ml/kg/day까지 독성을 나타내지 않는 것으로 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 서울대학교 수의과대학 수의과학연구소의 지원에 의해 수행되었음.

참고문헌

- Ball, M.J., (1991): Hematological and biochemical effects of parenteral nutrition with medium-chain triglycerides, comparison with long-chain triglyceride. *Am J Clin Nutr*, **53**, 916-922.
- English Wolford, S.T., Schroer, R.A., Gohs, F.X., Gallo, P.P., Brodeck, M., Falk, H.B. and Ruhren, R. (1986): Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals, *J. Toxicol. Environm. Health*, **18**, 161-188.
- Nordenstrom, J. (1982): Metabolic utilization of intravenous fat emulsion during total parenteral nutrition. *Ann. Surg.* 221-231.
- 식품의약품안전본부(1996): 의약품 등의 독성시험 기준, 식품의약품안전본부 고시 제 96-8호.