

Pb acetate의 13주 반복투여가 랫드의 조혈기능, 정소 및 신장에 미치는 영향

홍 충 만
국립독성연구소 일반독성부

Effects of Repeated Exposure to Pb Acetate on Hematopoietic Function, Testis and Kidney in Male Rats

Hong Choong Man

General Toxicology Department, National Institute of Toxicological Research
5 Nokbun-dong, Eunpyung-gu, Seoul 122-704, Korea
(Received November 19, 2001)
(Accepted December 3, 2001)

ABSTRACT : Male Sprague Dawley rats were exposed to 0, 0.04, 0.2, and 0.8% Pb acetate in drinking water for 13 weeks and fed a commercial diet. Dose-related adverse effects observed at the end of the Pb acetate exposure in the drinking water were as follows: decrease in body weight gain, decrease in hemoglobin, hematocrit(HCT), mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin (MCH), increase in serum glucose, decrease in serum testosterone, increase in lead accumulation and δ ALA release in urine, and decrease in δ ALAD activities of all tissues examined, increase in relative organ weights (kidney, spleen, testis), and changes in testicular DNA content and histopathology (intranuclear inclusion body in kidney proximal tubule cell). Taken together, repeated exposure of lead acetate induced toxicities in hematopoietic system, especially testis and kidney.

Key Words : Lead acetate, Testosterone, FCM, δ -ALAD, δ -ALA

I. 서 론

납은 환경 중에 존재하는 오염물질로 비록 인체에서 명확한 기능은 가지고 있지 않지만, 독성은 널리 알려져 있는데(Goyer와 Mahaffey, 1972) 특히 중추신경계, 생식기계와 면역계(Koller, 1990), 조혈계 및 신장(Vyskocil 등, 1995)에 영향을 준다. 납은 환경 중에서 낮은 농도로 노출될지라도 형태학적 변화에서 생화학적 변화를 다양하게 유발할 수 있으며 다른 중금속처럼 납은 체내 축적성(Cory-Slechta 등, 1989)이 독성유발에 중요한 역할을 하고 있다. 환경 중 미량의 납이 장기간 노출되어 영향을 주는 납 중독은 매우 중요하며, 이에대한 수많은 연구가 이루어져 있지만 아직도 납의 독성기전에 대해서는 좀 더 많은 연구가 이루어질 필요가 있는 실정이다.

본 실험에서는 납(Pb acetate)을 음수로 13주 동안 반복 투여하여 좀 더 독성기전을 연구할 필요가 있는 조혈기능, 정소 및 신장에 미치는 영향을 알아보았다. 이 실험을 통

하여 조혈기능 억제 지표[헤모글로빈, 여러조직 중 δ -Aminolevulinic acid dehydratase(δ -ALAD) 활성도와 미량 원소 농도측정 및 뇨중 δ -Aminolevulinic acid(δ -ALA)를 측정하여 사람들이 환경으로 노출되는 납의 노출지표로 활용하고자 한다. 또한 납에 의한 정소세포의 DNA 함량 변화를 측정하여 현재 잘 알려지지 않은(Sokol 등, 1985) 정소독성의 기전에 대한 자료를 제시하고, 일부 작업장의 근로자의 혈중 납도(376 μ g/l)를 유발하기 위한 투여농도인 0.1%(Vyskocil 등, 1995)에서 신장독성을 유발하는지 알아보는 작업장등의 납 농도설정의 기초자료로 활용하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 Pb acetate의 투여

4주령 수컷 S.D. 랫드를 식품의약품안전청 국립독성연구소 실험동물지원실에서 분양받아 $22\pm 2^\circ\text{C}$, 12-h 명암주기가 유지되는 청정사육실에서 사료(신촌사료)와 물을 자

*To whom correspondence should be addressed

유급식하면서 사육하였다. 실험군은 대조군과 3개의 처리군(0, 0.04, 0.2 및 0.8%)으로 나누어 Pb acetate(SIGMA, U.S.A.)를 음수 중으로 13주 동안 급여하였다. 모든 랫드에 대하여 매일 임상증상을 관찰하였고 매주 체중변화를 측정하였다. 그리고 실험 종료 전에 절식한 후 부검하였다.

2. 혈중 헤모글로빈 농도 측정

혈액은 랫드를 이산화탄소로 마취시켜 EDTA(K3)가 처리된 주사기로 심장에서 채혈하였다. Pb acetate의 반복투여가 조혈기능에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 Hemoglobin, Hematocrit, MCV, MCH와 MCHC를 자동혈구계산기(H1, Technoland, U.S.A.)를 이용하여 측정하였다. 또한 혈액생화학분석기(RA-XT, Technoland, U.S.A.)를 이용하여 일부 혈액생화학적 지표의 변화를 측정하였다.

3. 장기 중 납 및 미량원소의 정량

Pb acetate의 반복투여에 의한 납 및 미량원소의 조직내 분포를 알아보기 위하여 간, 뇌, 혈액, 신장 및 비장에서 정량하였다. 분석할 시료를 농축 질산 : 과산화수소(5 : 1)의 혼합물로 녹인 후, Inductive coupled plasma mass spectrometer(ICP-MS, PQ2 Turbo, VG ELEMENTAL, UK)로 분석정량하였다. 결과는 μg 납 혹은 미량원소/gram 조직 혹은 dl 혈액으로 표기하였다.

4. 혈중 테스토스테론 정량

Pb acetate의 반복투여에 의하여 납이 정소에 미치는 영향을 알아보기 위하여 혈중 테스토스테론 농도를 RIA kit (Coat-a-count, Diagnostic Products Corporation, U.S.A.)를 이용하여 측정하였다.

5. δ -Aminolevulinic acid dehydratase(δ -ALAD) 측정

헤모글로빈 합성을 위한 경로에서 중요한 효소인 δ -ALAD 활성은 간, 신장, 비장 및 정소에서 측정하였다. Sassa(1982) 방법에 따라 porphobilinogen 생성속도를 이용하여 측정하였으며, 적혈구 중 δ -ALAD는 European standard methods(Berlin과 Schaller, 1974)에 따라 측정하였다. 그런 후, δ -ALAD 활성은 555 nm에서 최종 Ehrlich color salt의 molar absorption coefficient(6.1×10^4)를 이용하여 계산하였다. Lowry 등(1951)의 방법에 따라 단백질 정량을 실시하여 최종결과를 nmol porphobilinogen/mg protein 혹은 ml RBC/h로 표시하였다.

6. 뇨중 Aminolevulinic acid(ALA)의 측정

실험 종료 전 대사케이지를 이용하여 채취한 뇨 중 ALA를 Sithisarankul 등의 방법(1999)에 따라 HPLC를 이용하여 정량하였다.

7. 장기중량 측정 및 조직병리학적 검사

부검시 육안적 병변을 관찰한 후 간, 신장, 비장 및 정소를 적출하여 장기중량을 측정하였다. 그리고 간, 신장, 비장, 뇌 및 고환은 납 정량 및 δ -aminolevulinic acid dehydratase(δ -ALAD)의 활성을 측정하기 위하여 분주하여 -70°C 에서 측정시까지 보관하였다. 조직병리학적 변화를 관찰하기 위하여 간, 신장, 뇌, 부신, 고환 및 비장의 일부를 10% 중성포르말린에 고정한 후, 파라핀 포매하여 $5 \mu\text{m}$ 두께로 절편을 만들고 H&E 염색하여 검정하였다.

8. FCM(Flow Cytometer)를 이용한 정소세포의 DNA 함량 측정

Pb acetate의 반복투여가 정소의 DNA 함량에 미치는 영향을 알아보았다. 부검시 얻은 정소의 세포현탁액을 만들기 위하여 $149 \mu\text{m}$ 크기의 polypropylene filter(Spectrum Laboratories, Inc.)를 이용하여 여과한 후, citrate buffer로 1×10^7 cell/ml되게 재현탁하였다. 그런 후, Darzynkiewicz 과 Crissman 방법(1990)에 따라 Propidium iodide 염색을 실시하였다. 이렇게 준비한 정소세포의 DNA 함량은 2-W Argon laser가 있는 FCM(Coulter Epics XL, Coulter Corp., U.S.A.)을 이용하여 488nm에서 측정된 후, 히스토그램을 분석하였다.

9. 통계처리

결과의 통계학적 처리는 ANOVA를 사용하여 통계분석을 한 후 Scheffe test로 유의성을 검정하여 Mean \pm SD로 표시하였다.

III. 결 과

1. 증체율에 미치는 영향

실험기간 중 폐사한 동물은 없었다. 실험기간 중 납이 랫드의 증체율에 미치는 영향을 알아본 결과 대조군에 비하여 Pb acetate 처리군에서 실험전 기간에 걸쳐 증체율이 감소하였다(Fig. 1).

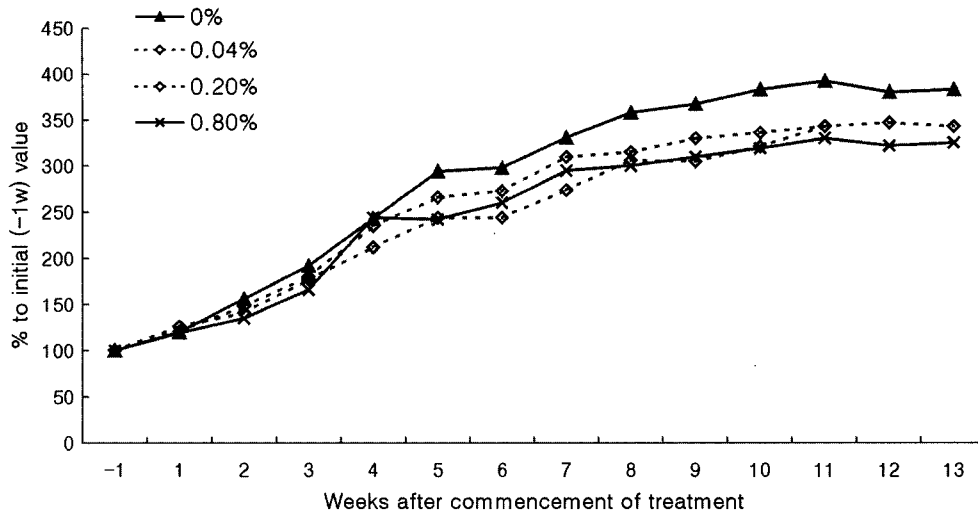


Fig. 1. Changes in body weight gains after administration of Pb acetate to rats. Eight rats in each group were exposed to 0, 0.04, 0.2 or 0.8% Pb acetate in drinking water for 13 weeks.

2. 헤모글로빈 농도 및 혈액생화학적 변화

Pb acetate가 조혈기능, 특히 헤모글로빈 농도에 미치는 영향을 알아본 결과 헤모글로빈, 헤마토크리트(HCT), 평균적혈구용적(MCV) 및 평균적혈구헤모글로빈(MCH)이 모든 처리군에서 용량의존적으로 대조군에 비하여 유의성 있게 ($p < 0.05$, < 0.01) 감소하였다(Fig. 2). 혈청생화학적 검사결과(Table 1) 특히 혈당이 투여군에서 용량의존적으로 유의성있게 증가하였지만, 다른 지표의 경우 일부에서

유의성은 관찰되었지만, 생리적 범위 혹은 연령 증가(ALP)에 따른 정상적인 변화로 Pb acetate 투여에 의한 영향은 아닌 것 같았다.

3. 혈중 및 조직 중 Pb acetate 농도 및 미량원소 분포 변화

Pb acetate 투여에 의한 납의 농도와 미량원소의 분포변화를 Table 2에 나타내었다. 측정된 모든 장기는 대조군과

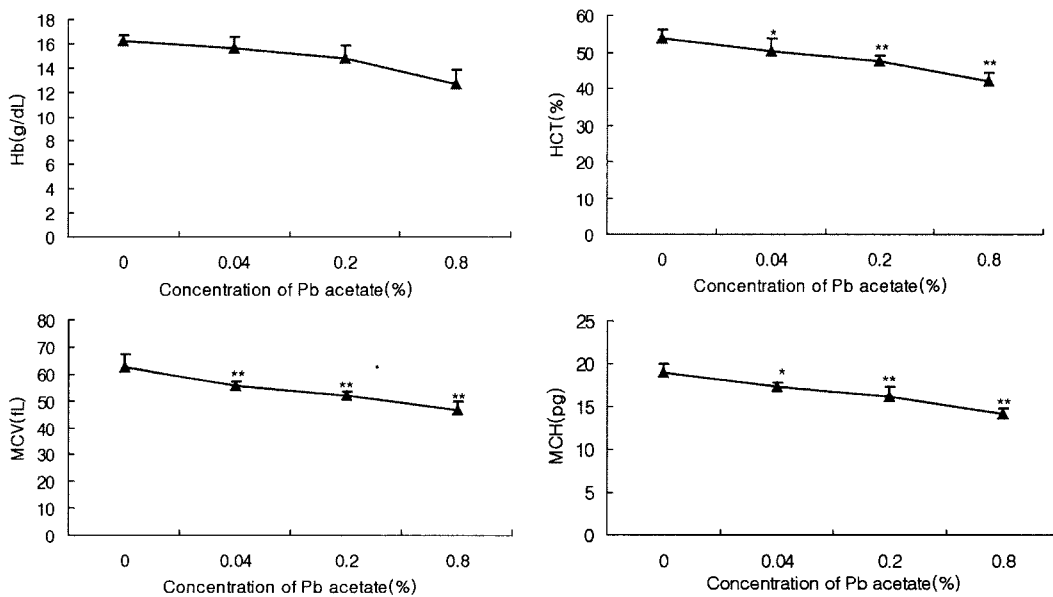


Fig. 2. Hemoglobin concentrations, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) and hematocrit (HCT) after administration of Pb acetate to rats. Eight rats in each group were exposed to 0, 0.04, 0.2 or 0.8% in drinking water for 13 weeks. *, **: Significantly different from corresponding control value at $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

Table 1. Effects of Pb acetate on some biochemical parameters

| Items | Concentration of Pb acetate (%) | | | |
|---------------|---------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | 0 | 0.04 | 0.20 | 0.80 |
| NA (mEq/l) | 159.2±8.96 | 156.7±5.96 | 147.2±4.55* | 156.0±7.26 |
| CHOL (mg/dl) | 67.3±8.31 | 59.5±8.31 | 60.8±13.19* | 64.2±10.30* |
| T PROT (g/dl) | 6.8±0.47 | 6.4±0.91 | 5.9±0.15* | 6.3±0.40 |
| BUN (mg/dl) | 14.1±3.76 | 11.8±3.80 | 10.4±1.81 | 16.7±3.45* |
| K+ (mEq/l) | 7.0±0.35 | 5.4±1.07* | 3.8±0.39* | 4.6±0.96* |
| Glu (mg/dl) | 90.1±57.16 | 117.2±17.76* | 128.0±61.26* | 187.5±63.86* |
| ALP (U/l) | 87.2±21.40 | 114.1±45.46 | 105.8±30.98 | 145.3±38.59* |

Note. Rats at 1 month of age were exposed to 0, 0.04, 0.2, and 0.8% of Pb acetate for 13 weeks. Values are means±SD for eight rats.

*, **: Significantly different from control value at $p < 0.05$.

Table 2. Effect of Pb acetate on lead and elements distribution in rat

| Pb (ppm) | Concentration of Pb acetate (%) | | | |
|----------|---------------------------------|---------------|-----------------|-----------------|
| | 0 | 0.04 | 0.2 | 0.8 |
| Blood | 0.029±0.0025 | 0.426±0.025** | 0.568±0.099** | 2.003±0.2349** |
| Liver | 0.030±0.0048 | 1.318±0.3198 | 4.287±1.668** | 13.218±1.5775** |
| Kidney | 0.069±0.0296 | 22.759±0.171* | 41.463±6.2653** | 54.031±5.831** |
| Spleen | 0.070±0.028 | 2.224±0.4476 | 3.081±1.2921 | 39.249±7.2269** |
| Brain | 0.054±0.0097 | 0.656±0.2195 | 0.780±0.2894* | 2.931±0.3288** |
| Mg (ppm) | Concentration of Pb acetate (%) | | | |
| | 0 | 0.04 | 0.2 | 0.8 |
| Blood | 39.9±4.26 | 41.4±3.94 | 39.2±2.03 | 40.4±4.26 |
| Liver | 237.7±27.23 | 227.4±6.78 | 243.1±11.08 | 238.0±8.94 |
| Kidney | 207.5±15.12 | 218.7±11.60 | 231.4±15.69 | 219.6±11.83 |
| Spleen | 218.9±10.16 | 225.0±5.58 | 235.2±7.97* | 244.0±5.18** |
| Brain | 169.3±2.16 | 178.6±9.80 | 181.7±3.32 | 190.5±5.96** |
| Ca (ppm) | Concentration of Pb acetate (%) | | | |
| | 0 | 0.04 | 0.2 | 0.8 |
| Blood | 57.0±3.40 | 61.5±4.72 | 61.1±2.72 | 65.9±5.41 |
| Liver | 44.6±8.03 | 49.4±4.10 | 44.8±4.02 | 51.8±3.92 |
| Kidney | 68.3±2.12 | 82.4±3.14 | 71.3±7.88 | 72.3±7.32 |
| Spleen | 40.5±5.53 | 49.9±9.93 | 38.9±1.61 | 42.0±1.49 |
| Brain | 83.1±29.19 | 616.1±289.70 | 111.7±110.30 | 98.9±32.02 |
| Fe (ppm) | Concentration of Pb acetate (%) | | | |
| | 0 | 0.04 | 0.2 | 0.8 |
| Blood | 556.5±10.77 | 533.5±18.86 | 470.9±41.54** | 426.2±19.55** |
| Liver | 261.2±29.12 | 285.9±48.38 | 198.0±29.88 | 315.9±70.41* |
| Kidney | 96.1±21.39 | 103.8±18.35 | 71.5±15.26 | 77.1±18.55 |
| Spleen | 1756.0±642.88 | 1542.3±199.26 | 1583.5±230.10 | 3320.9±214.33** |
| Brain | 20.3±2.08 | 23.0±3.35 | 20.6±1.05 | 20.8±1.79 |
| Zn (ppm) | Concentration of Pb acetate (%) | | | |
| | 0 | 0.04 | 0.2 | 0.8 |
| Blood | 5.8±0.12 | 5.9±0.34 | 6.15±1.50 | 5.5±0.31 |
| Liver | 31.5±3.58 | 33.4±2.22 | 36.2±2.64 | 34.6±1.37 |
| Kidney | 24.7±3.53 | 22.2±0.49 | 23.7±2.20 | 20.3±1.07 |
| Spleen | 20.1±1.37 | 22.4±1.84 | 21.2±0.28 | 21.1±0.36 |
| Brain | 13.4±0.75 | 14.3±1.46 | 13.9±0.17 | 13.7±0.34 |

Note. Eight rats in each group were exposed to 0, 0.04, 0.2 or 0.8% of Pb acetate in drinking water for 13 weeks.

*, **: Significantly different from corresponding control values at $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

Values are means±SD for eight rats.

비교하여 처리군에서 납이 용량의존적으로 유의성있게 축적하였는데, 분포양상은 신장 > 비장 > 간 > 뇌 > 혈액 순이었다. 특히 비장에서 납의 축적은 0.8% 투여군에서 다른 투여군보다 약 13배 정도 높게 관찰되었다. 또한 Pb acetate 투여에 의한 미량원소의 분포변화를 관찰한 결과 모든 장기에서 아연과 칼슘은 대조군과 비교하여 차이가 없었지만, 마그네슘은 비장과 뇌에서 용량의존적으로 유의성있게 ($p < 0.05$, < 0.01) 증가하였고 철은 혈액에서는 유의성있게 감소하였지만 비장에서는 최고용량군(0.8%)에서 유의성있게 증가하였다.

4. 혈청 중 testosterone 농도에 미치는 영향

Pb acetate 투여에 의한 testosterone 농도 변화를 Table 3에 나타내었다. 혈청 testosterone은 대조군과 비교하여 처리군에서 감소하였지만 통계학적 유의성은 관찰할 수 없었다.

5. δ -Aminolevulinic acid dehydratase(δ -ALAD) 활성에 미치는 영향

Pb acetate 투여에 의한 혈액, 간, 신장, 정소 및 비장의 δ -ALAD 활성에 미치는 영향을 Fig. 3에 나타내었다. 실험

Table 3. Effects of Pb acetate on serum testosterone concentration (ng/ml)

| Concentration of Pb acetate(%) | | | |
|--------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| 0 | 0.04 | 0.2 | 0.8 |
| 3.1628±1.8391 | 2.3642±1.8073 | 1.1394±1.0337 | 0.7471±0.6614 |

Note. Rats at 1 months of age were exposed to 0, 0.04, 0.2, and 0.8% of Pb acetate for 13 weeks. Values are means±SD for eight rats.

Table 4. Effects of Pb acetate on urine Aminolevulinic acid (mg/l) release

| Concentration of Pb acetate (%) | | | |
|---------------------------------|-----------|-----------|-------------|
| 0 | 0.04 | 0.2 | 0.8 |
| 0.48±0.14 | 0.13±0.03 | 0.74±0.16 | 3.74±1.56** |

Note. Rats at 1 months of age were exposed to 0, 0.04, 0.2, and 0.8% of Pb acetate for 13 weeks. Values are means±SD for eight rats.

결과 헤모글로빈 합성의 필수효소인 δ -ALAD 활성은 정소, 신장 및 비장보다 간(0.01~0.007 μ mole porphobilinogen formed/mg protein)이 2배 정도 높았다. 그리고 혈액, 간 및 비장에서 δ -ALAD 활성이 대조군과 비교하여 처리군에서 농도의존적으로 유의성있게 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) 감소하였다. 그러나 신장의 경우 대조군과 비교하여 0.2와 0.8% 처리군에서 그리고 정소의 경우, 0.8% 처리군에서

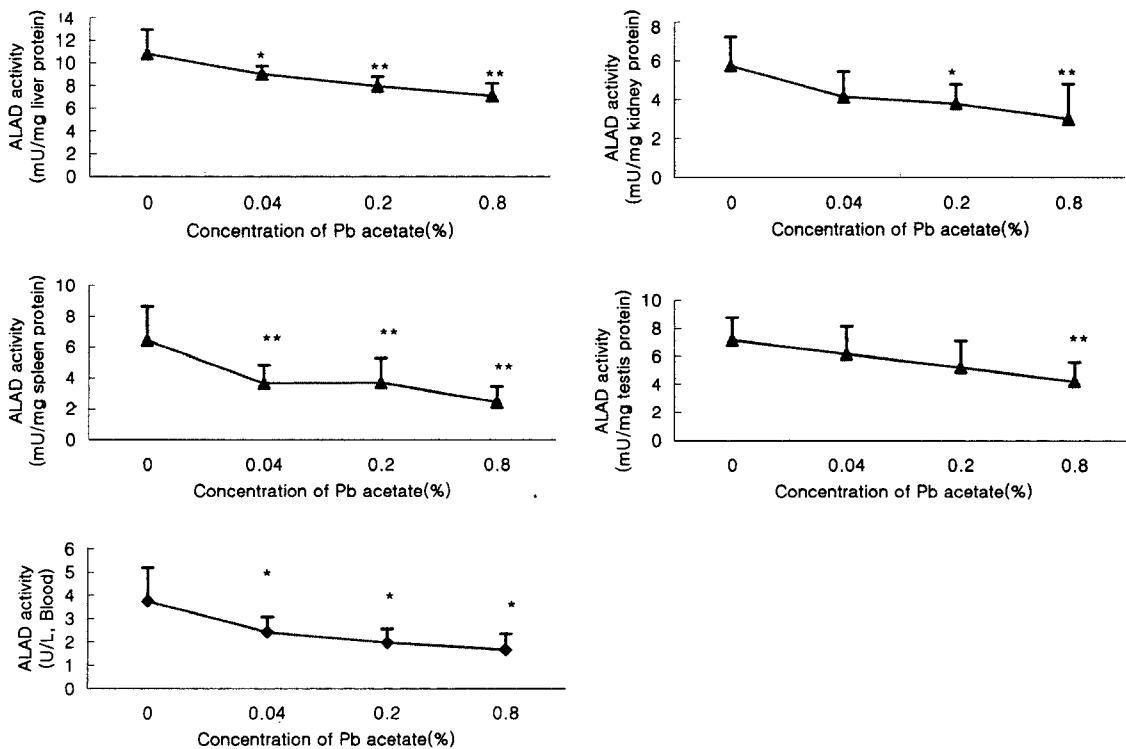


Fig. 3. Changes in δ -ALAD activity after administration of Pb acetate to 1-month old rats. Eight rats in each group were exposed to 0, 0.04, 0.2 or 0.8% in drinking water for 13 weeks. *, **: Significantly different from corresponding control values at $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

Table 5. Effects of Pb acetate on relative organ weights

| Organs | Concentration of Pb acetate (%) | | | |
|--------|---------------------------------|---------------|----------------|-----------------|
| | 0 | 0.04 | 0.20 | 0.80 |
| Kidney | 0.3174±0.031 | 0.3592±0.03* | 0.3553±0.0299* | 0.4546±0.0751** |
| Liver | 2.5937±0.1735 | 2.5483±0.1907 | 2.793±0.1784* | 2.9576±0.152** |
| Testis | 0.3629±0.0547 | 0.3769±0.0245 | 0.3542±0.0269 | 0.4361±0.0251** |
| Spleen | 0.1761±0.0382 | 0.1646±0.0282 | 0.1796±0.0402 | 0.2321±0.0471** |

Note. Rats at 1 month of age were exposed to 0, 0.04, 0.2, and 0.8% Pb acetate for 13 weeks.

Values are means±SD for eight rats.

*, **: Significantly different from control value at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

유의성있게 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) 감소하였다.

6. 뇨중 δ -Aminolevulinic acid(δ -ALA) 농도에 미치는 영향

Pb acetate 투여에 의한 뇨 증으로 δ -ALA 방출에 미치는 영향을 Table 4에 나타내었다. 대조군과 비교하여 0.1과 0.2%에서는 유의성을 관찰할 수 없었으나 최고용량군인 0.8% 농도에서 유의성있게 ($p < 0.01$) 방출이 증가하였다.

7. 장기중량 및 조직병리학적 소견에 미치는 영향

Pb acetate 투여에 의한 장기중량의 변화를 Table 5에 나타내었다. 정소와 비장은 대조군과 비교하여 0.8% 투여군, 간은 0.2와 0.8% 투여군에서 유의성있게 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) 증가하였으며, 특히 신장은 모든 처리군에서 용량의 존적으로 유의성있게 증가하였다. 그러나 다른 장기(뇌와 부신)의 중량에 영향을 주지 않았다. 그리고 조직병리학적 소견을 관찰한 결과 0.2% 처리군에서 신장 근위곡세뇨관의 일부세포가 특징적인 핵내 봉입체와 세포변성되었음을 관찰하였다(Fig. 4). 그리고 비장에서는 Multinucleate giant cell과 헤모시데린 침착을 관찰하였다. 그외에 뇌의 신경조직의 변성, 간의 지방변성과 담관의 증식이 관찰되었지만 이것은 Pb acetate의 처리와 관련이 없는 것 같

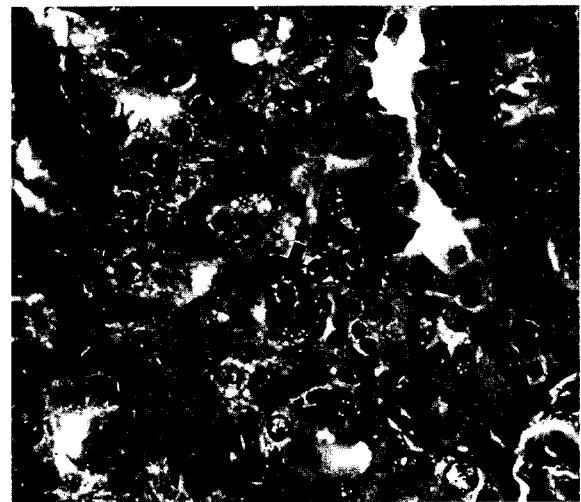


Fig. 4. Histopathological changes of kidney in rats administered with Pb acetate for 13 weeks. Arrowheads denote intranuclear inclusion body in kidney proximal tubular epithelium. H&E stain, $\times 400$.

았다.

8. 정소세포의 DNA 함량에 미치는 영향

Pb acetate의 투여가 정소세포의 DNA 함량변화에 미치는 영향을 Table 6에 나타내었다. 실험결과 미성숙과 성숙 haploid의 비율은 유의성있게 감소하였고 대신 diploid와 tetraploid의 비율이 유의성있게 증가하였다. 그러나 투여

Table 6. Alteration of testicular cell populations in rats administered with Pb acetate

| Cell type | Concentration of Pb acetate (%) | | | |
|------------------|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| | 0 | 0.04 | 0.2 | 0.8 |
| Mature haploid | 42.6±10.27 | 39.5±4.77* | 39.3±4.10* | 37.0±2.05* |
| Immature haploid | 34.2±8.70 | 31.3±4.73** | 30.6±5.85** | 32.8±2.51** |
| Diploid | 15.8±1.67 | 18.9±2.92* | 18.8±0.92* | 19.5±0.88* |
| S-Phase | 1.53±0.19 | 1.68±0.25 | 1.93±0.20 | 1.27±0.23 |
| Tetraploid | 2.84±0.71 | 4.50±0.53** | 4.76±0.64** | 5.43±0.80** |

Note. Rats at 1 month of age were exposed to 0, 0.04, 0.2, and 0.8% of Pb acetate for 13 weeks.

*, **: Significantly different from corresponding control values at $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

Values are means±SD for eight rats.

군에서 고농도에 따른 차이는 관찰되지 않았다.

IV. 고 찰

납의 사람에서 독성은 비교적 잘 알려져 있으며(Goyer와 Mahaffey, 1972) 낮은 농도에 노출되더라도 형태학적 변화에서 미세한 생화학적 변화까지 다양한 독성을 발현한다. 납은 유아에서 성장 및 인지발달에 유해한 영향을 주는 흔한 환경오염물질로(Baghurst, 1992) 이제까지의 대부분의 연구는 주요 표적장기인 중추신경계에 미치는 영향에 관한 것이다. 그리하여 이번 연구에서는 납의 13주 반복투여가 다른 표적장기인 조혈기능, 정소 및 신장에 미치는 영향을 알아보았다. 작업장에서 근무하는 근로자의 혈중농도인 376 $\mu\text{g/l}$ 을 유발할 수 있는 납의 투여용량이 0.1%(Vyskocil 등, 1995)라는 실험결과를 감안하여 노출된 납의 농도(음수 중 0, 0.04, 0.2와 0.8%)를 설정하였다. 실험결과 납의 혈중농도는 약간 높은 농도, 즉 0.04% 노출시 426 $\mu\text{g/l}$ 로 유지되었다(Table 2). 혈구의 혈색소(Hemoglobin) 생합성에서 필수효소인 δ -ALAD는 두분자의 δ -aminol-evulinic acid를 결합시켜 porphobilino- gen을 형성시킨다(Beri와 Chandra, 1993). 그런데 납에 노출되면 δ -ALAD 활성이 감소되어 혈색소 합성에서 이상을 유발하므로(Moore, 1986) 이 경로는 적은 혈중 납 농도에서도 중요한 표적이 되고 있어 노출지표로 많이 이용하고 있다. 물론 혈색소 합성은 본 실험에서 사용한 중금속인 납외에도 수 많은 수식인자에 의하여 영향을 받는 복잡한 과정이다(Silbergeld, 1987). 즉 환경 중 담배연기, 영양, 알콜 및 운동도 혈색소 합성에 대한 납의 영향에 변화를 줄 수 있다. 본 실험 결과 δ -ALAD 활성은 일반적으로 간에서 가장 높았다. 납의 투여에 의해서 간 이외에도 혈액, 비장, 정소 및 혈액에서 δ -ALAD 활성이 용량의존적으로 유의성있게 감소하였지만, 이를 반영하는 뇨 중 δ -ALA 방출이 0.8% 투여군에서만 유의성있게 증가하였다. 이것은 납 노출의 지표로 뇨 중 δ -ALA 방출정도를 측정하는 것은 민감한 지표가 아님을 알 수 있어 혈장의 ALA가 납의 노출 및 독성의 유용한 지표가 될 수 있다는 보고(Sithisarankul, 1999)와 대조적이었다. 또한 헤모글로빈 합성효소의 억제에 의하여 헤모글로빈, 헤마토크리트(HCT), 평균적혈구용적(MCV) 및 평균적혈구헤모글로빈(MCH)은 처리군에서 용량의존적으로 유의성있게($p < 0.05$, < 0.01) 감소하였다. 그리고 혈중 철분은 농도에 따라 유의성있게 감소하여 헤모글로빈 농도감소를 반영해주고 있으며 반면에 비장의 경우 0.8% 처리군에서 철분이 유의성있게 증가하였다. 그러므로 납에 의한 노출지표로 혈중 철분농도도 다른 인자와 함께 유용하게 사용할 수 있음을 말해주고 있다. Pb acetate 투여군에서 혈당이 유의성있게 증가하였고, 일부지표의 경우 유

의성은 관찰되었지만 생리적 범위내였다. 물론 납 중독에 의한 간세포 소기관에서 대사, 구조 및 기능적 변화에 대한 적응과정으로 간의 ALP가 증가되지만(Jarrar와 Mahmoud, 2000), 이 실험에서 ALP의 증가는 용량의존성을 보이지 않았으며 생리적 범위내로 Pb acetate에 의한 영향감지는 않았다. 또한 혈당의 증가는 에너지대사 및 호기성 해당작용을 억제하기 때문인 것 같았다(Grabowska와 Guminska, 1996; Ahrens, 1993).

납은 강력한 정소독성물질로(Singh, 1993), 임상 및 동물실험 결과 작업장에서 허용되는 혈중 납의 농도(40 $\mu\text{g/dl}$ 이하)를 유발하는 농도로 노출되면 정자형성 등 정소기능에 영향을 주지만 정확한 기전은 알려져 있지 않다(Sokol 등, 1985). 본 실험결과 혈중 테스토스테론의 농도는 개체간 변이(측정값간 편차)가 심하여 유의성은 관찰할 수 없었지만 혈중 납의 농도가 증가하면 테스토스테론 농도가 감소하는 경향을 보였다. 그러나 정소의 상대중량은 최고용량군에서만 유의성있게 증가하였다. Pb acetate가 정소기능에 미치는 영향을 알기위하여 본 실험에서는 FCM을 이용하여 정소세포의 DNA 함량변화를 측정하였다. 실험결과 미성숙과 성숙 haploid의 비율은 유의성있게 감소하면서 diploid와 tetraploid의 비율이 유의성있게 증가하였는데 이것은 납의 표적세포가 성숙한 세포이고, 성숙한 세포의 변형 또는 사멸로 인하여 증식속도가 매우 빠른 것으로 알려진 초기세포들이 출현하는 것으로 보인다. 이것은 납의 투여가 부고환내의 정자수를 감소시켰으나, 정소의 무게에는 별 영향을 미치지 않았다는 결과(Wadi와 Ahmad, 1999)를 설명해주는 실험결과이다.

납의 독성에 영향을 주는 중요한 특성은 납이 체내 조직에 축적을 하며 배설속도가 매우 느리다는 점(혈중 반감기 60일 이상, 일부조직은 수년)이다(Goyer, 1996; ATSDR, 1997). 실험결과 음수 중으로 노출된 납은 신장다음으로 비장에 많이 축적하는 것을 관찰하였다. 그리고 조직병리학적 소견에서도 비장에서 multinuclear giant cell과 헤모시테린 축적이 관찰되어 비장은 납에 의하여 영향을 받을 수 있으며, 이에따라 납이 면역조절기능에 영향을 주는지 여부는 더 연구를 실시해야 할 것이다. 일반적으로 신장의 근위곡세뇨관에서 관찰되는 핵내봉입체는 오래 전부터 납에 의한 신장독성의 표식자로 알려져 왔으며(Khalil-Manesh, 1992) 이것은 납과 결합하는 단백질의 복합물로 납을 무독화하는데 관여하며(Moore와 Goyer, 1974), 주로 병변진행 과정 중 초기에 뚜렷이 보이는 것으로 알려지고 있다(Cramer 등, 1974). 이번 실험에서도 신장의 상대장기중량의 유의성있는 증가와 근위곡세뇨관의 일부세포에서 핵내 봉입체와 변성을 관찰하였다(Fig. 4). 그러나 봉입체의 발생빈도와 크기는 용량에 따라 변화가 없었지만 신장이 주요한 납의 표적장기임을 확인할 수 있었다. 그외에

뇌 신경조직의 변성이 고용량군 일부 동물에서 관찰되었다. 그리고 드물게 간의 지방변성과 담관의 증식이 관찰되었지만 이것들은 납의 처리와 관련이 없는 것 같았다.

결론적으로, Pb acetate를 13주 반복투여하면 조혈기능, 정소기능 및 신장에 영향을 주며, 납에 의한 노출지표로 혈중 헤모글로빈, 헤마토크리트, 평균적혈구용적, 평균적혈구헤모글로빈, δ -ALAD의 감소외에도 혈중 철분농도의 증가를 평가하는 것이 도움이 된다. 그러나 노 중 δ -ALA 방출은 납 노출지표로 민감도가 낮음을 알 수 있었다. 그리고 Pb acetate는 0.04% 이상의 농도에서 정소의 미성숙 세포가 아닌 성숙세포에 영향을 주며, 신장의 병변은 음수 중 0.2% 이상의 농도에서 핵내봉입체와 세포변성을 관찰할 수 있었다.

참고문헌

- Goyer, R.A. and Mahaffey, K.R. (1972): Susceptibility to lead toxicity. *Environ. Health Perspect*, **2**, 73-75.
- Koller, L.D. (1990): The immunotoxic effects of lead in lead-exposed laboratory animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **587**, 160-167.
- Vyskocil, A. semecky, Z. Fiala, Cizkova, M. and Viau, C. (1995): Renal alterations in female rats following subchronic lead exposure. *J. Appl. Toxicol.*, **15(4)**, 257-262.
- Cory-Slechta, D.A., Weiss, B. and Cox, C. (1989): Tissue distribution of Pb in adult vs. old rats: a pilot study. *Toxicology*, **59**, 139-150.
- Sassa, S. (1982): Delta-aminolevulinic acid dehydratase assay. *Enzyme*, **28**, 133-145.
- Berlin, A. and Schaller, K.H. (1974): European standardized method for the determination of δ -aminolevulinic acid dehydratase activity in blood. *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.*, **12**, 389-390.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- Sithisarankul, P. Cadorette, M., Davoli, C.T., Serwint, J.R., Chisolm, J.J. and Strickland, P.T. (1999): Plasma 5-aminolevulinic acid concentration and lead exposure in children. *Environ. Res.*, **80(1)**, 41-49.
- Darzynkiewicz, Z. and Crissman, H.A. (1990): Method in cell biology, In: Vindelov L, Christensen IJB, eds. An integrated set of methods for routine flow cytometric DNA analysis. pp. 127-37, San Diego, California: Academic Press, Inc.
- Sokol, R.Z., Madding, C.E. and Swerdloff, R.S. (1985): Lead toxicity and the hypothalamic-pituitary-testicular axis. *Biol. Reprod.*, **33(3)**, 722-728.
- Vyskocil, A. Semecky, Z., Cizkov, M. and Viau, C. (1995): Renal alteration in female rats following subchronic lead exposure. *J. Appl. Toxicol.*, **15(4)**, 257-262.
- Baghurst, P.A., McMichael, A.J., Wigg, N.R., Vimpani, G.V., Robertson, E.F., Roberts, R.J. and Tong, S.L. (1992): Environmental exposure to lead and children's intelligence at the age of seven years. *N. Engl. J. Med.*, **327**, 1279-1284.
- Beri, R. and Chandra, R. (1993): Chemistry and biology of heme. *Drug Metab. Rev.*, **25**, 49-152.
- Moore, M.R. (1986): Lead poisoning. *Semin. Dermatol.*, **5**, 169-177.
- Silbergeld, E.K. (1987) Porphyrins as indicators of chemical injury and exposure. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **514**, 170-171.
- Jarrar, B.M. and Mahmoud, Z.N. (2000): Histochemical demonstration of changes in the activity of hepatic phosphatases induced by experimental lead poisoning in male white rats (*Rattus norvegicus*). *Toxicol. Ind. Health*, **16(1)**, 7-15.
- Grabowska, M. and Guminska, M. (1996): The effect of lead on lactate formation, ATP level and membrane ATPase activities in human erythrocytes *in vitro*. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*, **9(3)**, 265-274.
- Ahrens, F.A. (1993): Effects of lead on glucose metabolism, ion flux, and collagen synthesis in cerebral capillaries of calves. *Am. J. Vet. Res.*, **54(5)**, 808-812.
- Singh, A., Cullen, C. Dykeman, A, Rice, D. and Foster, W. (1993) Chronic lead exposure induces ultrastructural alterations in the monkey testis. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, **25(4)**, 479-486.
- Wadi, S.A. and Ahmad, G.J.J. (1999): Effects of lead on the male reproductive system in mice. *Toxicol. Environ. Health*, **A 56(7)**, 513-521.
- Goyer, R.A.: Toxic effects of metals. In Casarett & Doull's Toxicology (1996) The Basic Science of Poisons (C. D. Klaassen, Ed.), pp. 643-690, Mcgraw-Hill, New York.
- Agency for Toxic substances and disease registry (ATSDR 1997) (1998) Toxicological profile for lead. Draft for public comment.
- Khalil-Manesh, F., Gonick, H.C., Cohen, A.H., Alinovi, R., Mergamaschi, E., Mutti, A. and Rosen, V.J. (1992): Experimental model of lead nephropathy. I. Continuous high-dose lead administration. *Kidney International*, **41**, 1192-1203.
- Moore, J.F. and Goyer, R.A. (1974): Lead-induced inclusion bodies: Composition and probable role in lead metabolism. *Environ. Health Perspectives*, **7**, 121-127.
- Cramer, K., Goyer, R.A., Jogenburg, R. and Wilson, M. (1974): Renal ultrastructure, renal function, and parameters of lead toxicity in workers with different periods of lead exposure. *Brit. J. Ind. Med.*, **31**, 113-127.