

연속적인 Pb투여가 Rat의 정소중량, 정자수와 활력, 장기 중량 및 조직변화에 미치는 영향

김 상 근 · 이 명 현¹
충남대학교 수의과대학

Effects of Consecutive Lead-Administration on Testis Weights, Number and Motility of Sperm, Organ Weights and Histological Changes in Rats

Kim S. K. and M. H. Lee¹

College of Veterinary Medicine, Chungnam National University

ABSTRACT

This study was performed to elucidate the effects of lead poisoning on the reproductive organ of rats. After consecutive oral administrations of lead acetate, the weights of testis, the numbers and motilities of sperms and histological changes of organs were compared between control and experimental groups.

1. Testis weights of 1,000, 2,000 or 4,000 ppm/kg of lead acetate-administrated rats decreased compared with control group in dose-dependent manner.
2. The sperm numbers of 1,000, 2,000 or 4,000 ppm/kg of lead acetate-administrated rats were lowered significantly in dose dependent manners than those of control groups.
3. The sperm motilities of 1,000, 2,000 or 4,000 ppm/kg of lead acetate-administrated rats decreased in dose-dependent manners compared with those of control groups.
4. The weights of livers and kidneys of 1,000, 2,000 or 4,000 ppm/kg of lead acetate-administrated rats decreased or increased. The weights of livers increased and the kidney weights decreased and changes were dose-independent manner.
5. Necrosis of hepatocytes around the central veins, infiltrations of neutrophils, accumulations of bile and infiltrations of fine granules-harboring macrophages in psychymal and interstitial tissues were found out in the livers of copper sulfate-administrated rats. The Bowman's capsule, tubular epithelium and includes in nucleus of kidneys were filled with hyaline materials and hematophilic centers appeared in several lymph nodes.

I. 서 론

산업구조의 선진화로 인한 중화학공업, 반도체

산업의 발달은 비소, 납, 카드뮴 등의 중금속 이온에 인축이 노출될 가능성을 한층 더 고조시키고 있다.

일반적으로 중금속 밀도가 5이상으로 생체내에

[†] Corresponding author : College of Vet. Med., Chungnam National University Tel: (042)821-6754, E-mail: kskkim@cuvic.cnu.ac.kr

¹ 국립수의과학검역원(Nation Veterinary Research and Quarantine Service)

서 매우 안정된 형태의 유기복합체를 형성하여 생체활성 유지에 필수적인 각종 배위자들(SH, COOH, NH 등)과 비가역적으로 결합함으로써 당, 단백질 및 각종 에너지 대사계를 차단하여 독성을 유발하는 것으로 알려져 있다. 중금속 해독제로는 중금속과 착화합물을 형성하여 배출을 촉진시키는 EDTA, BAL 등의 착화합물 형성, 해독제가 널리 사용되고 있으나 사료의 풍미나 기호성을 경감시킬 우려가 있을 뿐만 아니라 비특이적인 착화합물 형성에 따른 체내 유용 미량무기물의 결핍증을 유발할 수 있다(Bahri와 Romdane, 1991; Batik와 Piska, 1981; Bryan 등, 1993; Ernest와 Patricia, 1993; Garner와 Papworth, 1967).

Wadi와 Ahmad(1999)는 마우스에 음수를 통한 0.25%와 0.5%의 Pb를 6주간 투여했을 때 저수준은 부고환내의 정자수를 유의하게 감소시키며, 고수준은 정자수와 활력을 감소시키고 기형정자수를 증가시킨다고 하였으며, 아울러 증체량에 비해 정소상체와 정낭선의 중량을 감소시켰다고 하였다. Hsu 등(1998)은 체중 kg당 20 및 50mg/Pb acetate를 6주간 투여했을 때 testosterone 수준은 감소하였고, ROS(reactive oxygen species) 초기에 침체반응이 일어나며, 정자의 투명대접착 난자내 침입율(zona-intact oocyte-penetrating rate)이 감소케 하며, 비타민 E와 C는 Pb-관련 ROS 세대를 억제시키며 활력 및 난자침입능의 손상을 방어한다고 하였다. Watson 등(1997)은 모체 Pb 수준은 골격내 비축에 의해 임신 및 비유기에 증가하였고, 혈장내 수준에 비해 모유중 Pb 수준은 높은 농도를 나타낸다고 하였으며, Pb를 처리한 양유 중의 Pb수준은 혈액의 그것에 비해 10배 높고 유선에 집중된다고 하였다. McMurry 등(1995) 및 Pinon-Lataillade 등(1993)은 cotton rat에 100, 1,000ppm의 Pb를 음수에 희석하여 7~13주간 투여했을 때 7주부터 Pb독성이 나타나 신장 원위세뇨관 상피와 핵내 함입물, 정자수와 발달난포의 감소를 가져왔으며 병변은 Pb의 고농도와 장기간 노출에 현저하다고 하였다.

이에, 본 연구는 Pb중독이 rat의 생리현상에 미치는 영향을 구명하고자 연속적인 Pb acetate 투여가 고환의 중량, 정자수, 활력 및 조직학적 변화를

조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물

본 시험에 사용된 동물은 Sprague-Dawley rat 200수를 대한실험동물센터로부터 구입 공시하여 2주간 예비사육 기간을 거쳐 본 시험에 이용하였다. 시험동물의 사육은 실험동물사료(제일사료)와 tap water를 자유급식케 하고 12시간의 명암주기를 교대로 유지하였다.

2. Pb의 투여

1,000~4,000 ppm의 Pb를 투여하였을 때 4주부터 Pb중독증을 나타냈다는 Dey 등(1995)의 보고에 준하여 수용성인 lead acetate(Sigma, USA)를 증류수에 1,000, 2,000, 4,000 ppm/kg으로 용해하여 음수를 통해 8주간 투여하였다.

3. 시료의 채취 및 분석

1) 정소중량의 측정

정소를 적출하여 지방조직을 잘라내고 혈액을 여과지로 닦아낸 후 전자저울(Shimadzu, Japan)을 이용하여 중량을 측정한 후 10% formalin용액에 침지하여 조직검사에 이용하였다.

2) 정자수, 정자활력의 검사

좌우 정소상체를 적출하여 안과가위로 세절한 다음 M₂ 배양액 drop에 mineral oil이 피복되어 있는 petri dish에 옮긴 후 CO₂ 배양기에서 1시간 배양 후 swim-up된 정자를 sperm quality analyzer(SQA-IIIB, Israel)를 이용하여 정자수, 활력 등의 정자수를 측정하였다.

3) 각 장기중량 측정

간, 비장, 양측 신장 및 정소를 적출하여 지방조직을 잘라내고 혈액을 여과지로 닦아낸 후 전자저울(Shimadzu, Japan)을 이용하여 중량을 측정한 후 10% formalin용액에 침지하여 조직검사에 이용하

었다.

4) 병리조직학적 검사

각 장기조직을 ethanol로 탈수하고 통상의 방법에 따라 paraffin에 포매한 다음 포매된 조직은 microtome으로 4~5 μm 의 절편을 만들고 Hematoxylin-Eosin 염색을 한 후 광학현미경(Nikon, Japan)으로 관찰하였다.

4. 통계처리

시험결과에 대한 각 군간의 통계학적 유의성은 SAS package의 General Linears Model(GLM) procedures(SAS Institute, 1996)를 이용하여 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 구리의 연속투여가 생체에 미치는 영향

1) 정소중량

Pb의 연속투여가 생체에 미치는 영향을 구명하기 위하여 rat에 Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 각각 투여했을 때 정소중량은 Fig. 1과 같다.

Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 정소중량은 정상대조군에 비해 점차 감소하는 경향을 나타냈고 용량이 증가할수록 정소중량은 큰 감소경향을 나타냈다.

1,000 및 2,000 ppm의 Pb를 4~8주간 투여하였을 때 정소중량은 정상대조군에 비해 증감을 나타

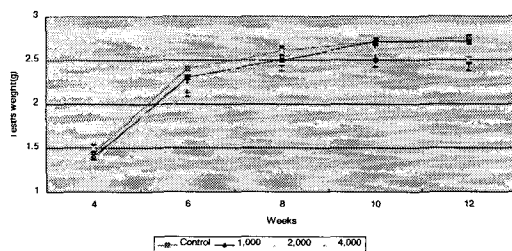


Fig. 1. Effect of consecutive lead acetate-administration on testis weights in rats.

내다 8주 이후부터 정상대조군에 비해 감소된 처를 나타냈다. 이러한 결과는 Dey 등(1995)가 마우스에 음수를 통한 0.25%와 0.5%의 Pb를 6주간 투여했을 때 고수준(2,000~4,000 ppm)의 Pb은 증체량에 비해 정소, 정소상체 및 정낭선의 중량을 감소시킨다는 보고와 2,000 ppm의 Pb를 6~8주간 투여했을 때 정소중량이 감소했다는 Wadi와 Ahmad (1999)의 보고와 일치하였다.

2) 정자수

Pb의 연속투여가 생체에 미치는 영향을 구명하기 위하여 rat에 Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 각각 투여했을 때 정자수의 변동은 Fig. 2와 같다.

Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 정자수의 변동은 정상대조군에 비해 점차 감소하는 경향을 나타냈고 용량이 증가할수록 정자수는 유의한 감소경향을 나타냈다.

Pb 투여군은 정상대조군에 비해 정자수는 약간 감소하였고 투여량이 증가할수록 현저하게 감소하였다. 이러한 결과는 마우스에 음수를 통한 0.25%와 0.5%의 Pb를 6주간 투여했을 때 부고환내의 정자수를 유의하게 감소시키고 기형정자수를 증가시킨다고 한 Wadi와 Ahmad(1999)의 보고와 일치하였다. 한편, Hsu 등(1998)은 Pb acetate 20~50mg를 6주간 투여했을 때 증체량에 비해 정소중량의

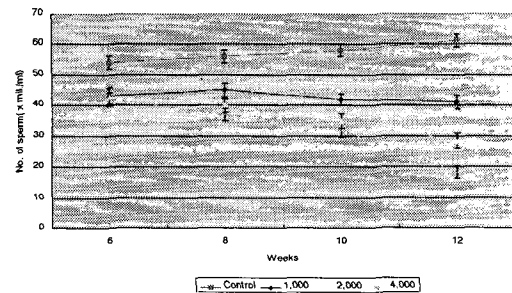


Fig. 2. Effect of consecutive lead acetate-administration on no. of sperm in rats($p < 0.05$) * Values with different superscripts within column were significantly different between control and 2,000, 4,000 ppm/kg group($p < 0.05$),

감소와 정자수의 감소를 나타냈으며, 또한 testosterone수준의 감소와 정자의 난자내 침입율도 감소한다고 하였다.

3) 정자활력

Pb의 연속투여가 생체에 미치는 영향을 구명하기 위하여 rat에 Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 각각 투여했을 때 정자활력의 변동은 Fig. 3과 같다.

Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 정자의 활력은 정상대조군에 비해 점차 감소하는 경향을 나타냈고 용량이 증가할수록 활력은 큰 감소경향을 나타냈다.

이러한 결과는 마우스에 음수를 통한 0.25%와 0.5%의 Pb를 6주간 투여했을 때 정자수와 활력치를 유의하게 감소시킨다고 한 Wadi와 Ahmad(19-99)의 보고와 일치하였으나 Dey 등(1995)은 마우스에 음수를 통한 0.25%와 0.5%의 Pb를 6주간 투여했을 때 정자활력의 현저한 감소를 나타냈다는 결과와는 다소 차이가 인정되었다.

4) 장기중량

Pb의 연속투여가 생체에 미치는 영향을 구명하기 위하여 rat에 Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 각각 투여했을 때 간 및 신장중량의 변

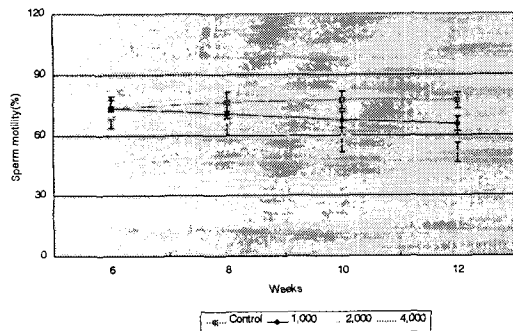


Fig. 3. Effect of consecutive lead acetate-administration on sperm motility in rats. * Values with different superscripts within column were significantly different between control and 2,000, 4,000 ppm/kg group($p < 0.05$).

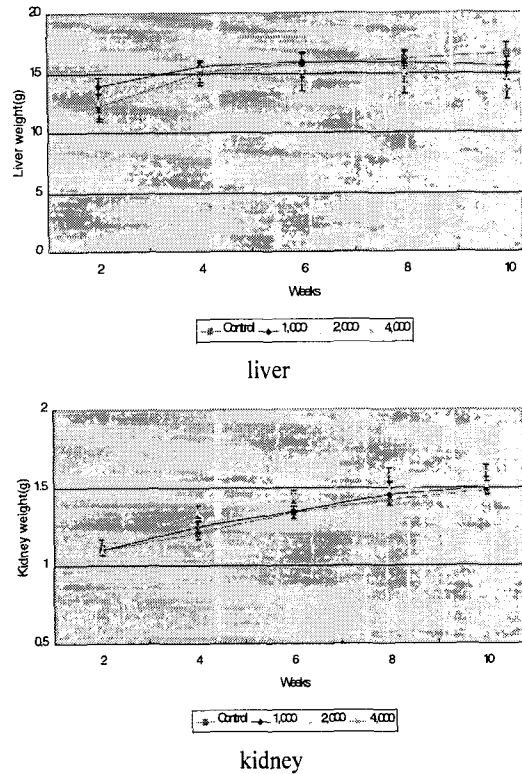


Fig. 4. Effect of consecutive lead acetate-administration on changes of liver and kidney weights in rats.

동은 Fig. 4와 같다.

Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 간 및 신장중량의 변동에 있어서 간 중량은 정상대조군에 비해 약간 감소하는 경향을 나타냈고 신장중량은 정상대조군에 비해 증감하는 경향을 나타냈다.

Cotton rat에 Pb acetate 100, 1,000 ppm을 음수에 7~13주간 투여했을 때 7주부터 간 및 신장의 중량이 감소하였다는 McMurry 등(1995) 및 Pinon-Lataillade 등(1993)의 보고와 일치하였으나, 500~1,000 ppm의 Pb을 음수에 6~10주간 투여했을 때 간의 중량은 감소하였으나 신장의 중량은 대조군에 비해 변화가 없었다는 Pinon-Lataillade 등(19-93)의 보고와는 차이가 있었다.

2. 조직상의 변화

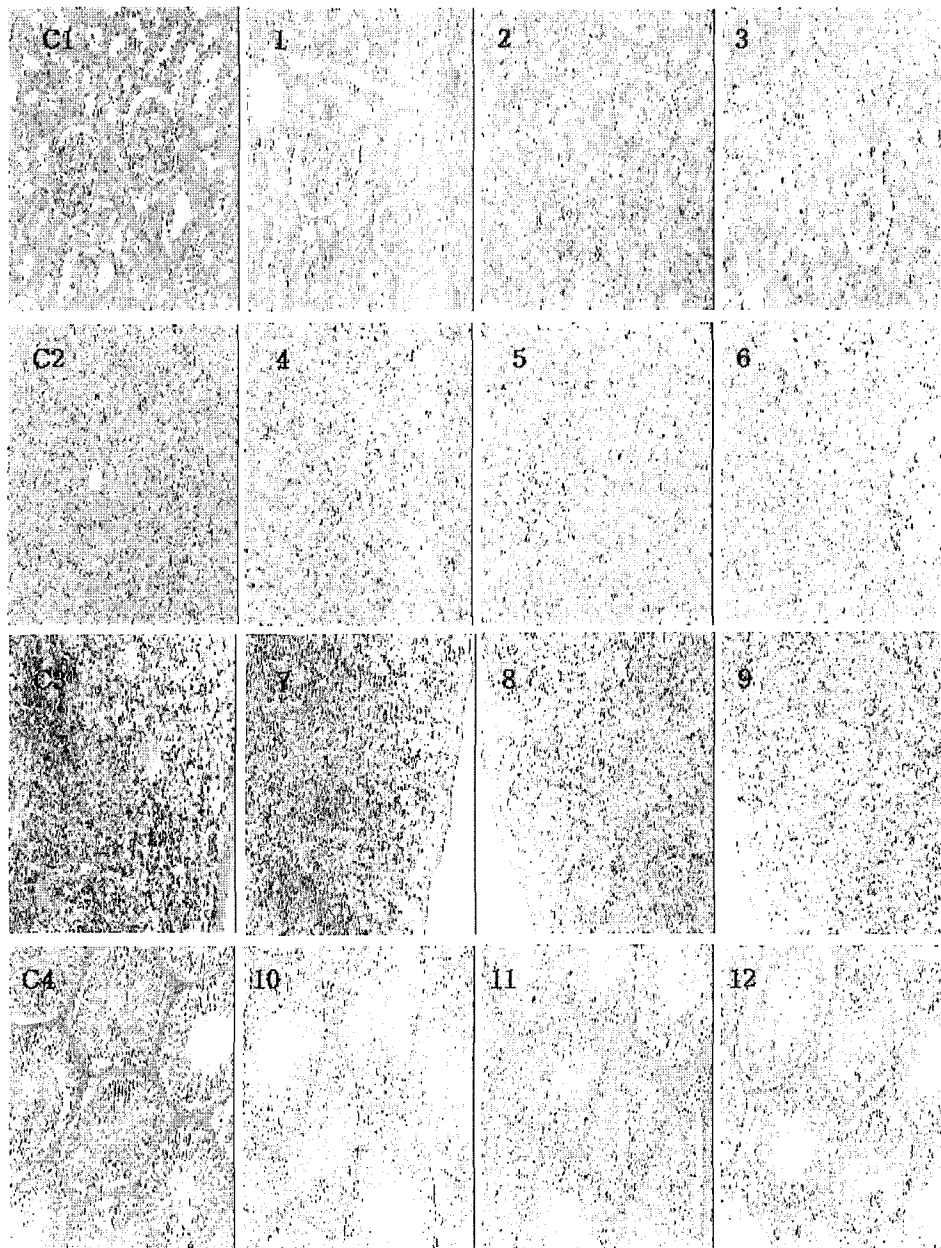


Fig. C1. Kidney of control rat(×400)
Fig. 1,2,3. Kidney of 1,000, 2,000 and 4,000 ppm/kg dose of lead acetate-administered rat.
Fig. C2. Liver of control rat(×400)
Fig. 4,5,6. Liver of 1,000, 2,000 and 4,000ppm /kg dose of lead acetate-administered rat.
Fig. C3. Spleen of control rat(×400)
Fig. 7, 8, 9. Spleen of 1,000, 2,000 and 4,000 ppm/kg dose of lead acetate-administered rat.
Fig. C4. Testis of control rat(×200)
Fig. 10, 11, 12. Testis of 1,000, 2,000 and 4,000ppm/kg dose of lead acetate-administered rat

Pb의 연속투여가 생체에 미치는 영향을 구명하기 위하여 rat에 Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 각각 투여했을 때 조직학적 변화는 Fig. 5와 같다.

조직학적 관찰소견은 간세포의 중심정맥 주위성 괴사, 호중구의 침윤, 담즙정체 및 간문맥관과 간질에 대식세포의 침윤이 관찰되었고, 신장에서는 원위세뇨관 상피와 핵내 함입물과 사구체낭 및 세뇨관내 균질한 초자물질이 충만되어 있었고 림프절에서는 골수의 조혈현상이 관찰되었다.

이러한 결과는 cotton rat에 Pb 100, 1,000ppm을 음수에 7~13주간 투여했을 때 7주부터 Pb독성은 신장 원위세뇨관 상피와 핵내 함입물, 정자수와 발달난포의 감소를 가져왔으며 대체로 병변은 Pb의 고농도와 장기간 노출에서 현저하다고 한 McMurry 등(1995) 및 Pinon-Lataillade 등(1993)의 조직소견과 유사하였다.

IV. 요약

본 연구는 Pb중독이 rat의 생리현상에 미치는 영향을 구명하고자 연속적인 Pb acetate 투여가 정소의 중량, 정자수, 활력, 장기중량 및 조직학적 변화를 조사하였다.

1. Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 정소중량은 정상대조군에 비해 감소하는 경향을 나타냈고 용량이 증가할수록 정소중량은 큰 감소경향을 나타냈다.
2. Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 정자수는 정상대조군에 비해 감소하는 경향을 나타냈고 용량이 증가할수록 정자수는 유의한 감소경향을 나타냈다.
3. Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 정자의 활력은 정상대조군에 비해 점차 감소하는 경향을 나타냈고 용량이 증가할수록 정자활력은 큰 감소경향을 나타냈다.
4. Pb acetate 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 간 및 신장의 중량은 정상대조군에 비해 점차 증감의 경향을 나타냈으며, 투

여용량별 간 및 신장의 중량은 유의한 변화를 나타내지 않았다.

5. Pb acetate를 연속적으로 투여했을 때 간의 조직학적 관찰소견은 간세포 중심정맥의 주위성 괴사, 호중구의 침윤, 담즙정체 및 간문맥관과 간질 대식세포의 침윤이 관찰되었고, 신장에서는 원위세뇨관 상피의 핵내 함입물과 사구체낭 및 세뇨관내 균질한 초자물질이 충만되어 있었고 림프절에서는 골수의 조혈현상이 관찰되었다.

V. 인용문헌

1. Bahri, L. E. and Romdane, S. B. 1991. Arsenic poisoning in livestock. *Vet. Hum. Toxicol.*, 33(3):259-263.
2. Batik, M. and Piska, A. 1981. *Veterinary toxicology*. Oxford, Elsevier Scientific Publishing Co., pp. 1090-1098.
3. Bryan, B., Timoty, M. and Paul, T. 1993. *General applied toxicology*. New York, Mcmillian Press Ltd., pp. 476-478.
4. Dey, S., Swarup, D., Kalicharan and Singh, B. 1995. Treatment of lead toxicity in calves. *Vet. Hum. Toxicol.*, 37(3):230-232.
5. Ernest, H. and Patricia, E. L. 1993. *Introduction to biochemical toxicology*. 2nd ed., London, Appleton and Lange, pp. 476-478.
6. Garner, R. J. and Papworth, D. S. 1967. *Veterinary toxicology*, 3rd ed., London, Bailliere Tindall, pp. 44-45.
7. Hsu, P. C., Hsu, C. C., Liu, M. Y., Chen, L. Y. and Guo, Y. L. 1998. Lead-induced changes in spermatozoa function and metabolism. *J. Toxicol. Environ. Health*, 55(1):45-64.
8. McMurry, S. T., Lochmiller, R. L. Chandra, S. A. and Qualls, C. W. Jr. 1995. Sensitivity of selected immunological, hematological, and reproductive parameters in the cotton rat (*Sigmodon hispidus*) to subchronic lead exposure.

- J. Wildl. Dis., 31(2):193-204.
9. Pinon-Lataillade, G., Thoruex-Manley, A., Coffigny, H., Monchaux, G., Masse, R. and Soufir, J. C. 1993. Effect of ingestion and inhalation of lead on the reproductive system and fertility of adult male rats and their progeny. Hum. Exp. Toxicol., 12(2):165-172.
10. Wadi, S. A. and Ahmad, G. 1999. Effects of lead on the reproductive system in mice. J. Toxicol. Environ. Health, 56(7):513-521.
11. Watson, G. E., Davis, B. A., Raubertas, R. F., Pearson, S. K. and Bowen, W. H. 1997. Influence of maternal lead ingestion on caries in rat pups. Nat. Med., (9):1024-1025.
- (접수일자: 2001. 4. 10. / 채택일자: 2001. 4. 30.)