

만성 카드뮴 중독 흰쥐에서 카드뮴 축적과 배설에 미치는 Vitamin E의 영향*

김미지 · 홍정희 · 이순재[§]

대구가톨릭대학교 식품영양학과

Effect of Vitamin E on Cadmium Accumulation and Excretion in Chronic Cadmium Poisoned Rats*

Kim, Mi-Ji · Hong, Jung-Hee · Rhee, Soon-Jae[§]

Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyung-san, Kyungbuk 712-702, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effect of vitamin E on the cadmium accumulation in body, cadmium excretion and detoxification functions in chronic cadmium poisoned rats. Sprague-Dawley male rats weighing 100 ± 10 g were randomly assigned to one normal group and three cadmium poisoned groups. Cadmium poisoned groups were classified to vitamin E free diet (Cd-0E group), vitamin E 40 mg/kg diet (Cd-40E group) and 400 mg/kg diet (Cd-400E group) according to the levels of vitamin E supplement. Animals were maintained on 0, 40 mg and 400 mg vitamin E/kg diets for 20 weeks and simultaneously administered 50 ppm Cd²⁺ dissolved in the drinking water. Body weight, food intakes and food efficiency ratio were significantly decreased in all cadmium groups, compared with those of normal group. The accumulation of cadmium in rat liver, kidney and blood was reduced by sufficient vitamin E supplementation. The metallothionein (MT) content in liver and kidney were increased in all cadmium groups compared with that of normal group. The ratio of cadmium absorption and retention were significantly decreased in vitamin E supplementation groups. Accordingly, vitamin E supplementation resulted in an excretion of cadmium in urine and feces and a lowered accumulation of cadmium in liver and kidney. It can be suggested that increased MT synthesis lead to the significant decrease in cadmium absorption and retention ratios. (*Korean J Nutrition* 36(7): 691~698, 2003)

KEY WORDS : chronic cadmium poisoning, vitamin E, cadmium accumulation and excretion, metallothionein.

서 론

카드뮴은 오염된 식품을 통하여 경구적으로 흡수될 뿐만 아니라 흡연 또는 오염된 대기의 호흡을 통하여도 체내에 이행된다. 흡수된 카드뮴은 비록 미량일지라도 생물학적 반감기가 길기 때문에 체내 축적성이 있으며 출생시에는 인체 내에 존재하지 않으나 연령이 증가함에 따라 점차적으로 축적되어 60년을 사는 동안 20~30 mg이 축적되고 체내 카드뮴 총 축적량의 50~80%가 간장과 신장에 존재한다.^{1,2)}

카드뮴의 인체중독현상으로는 간, 위장, 중추신경의 장

애 등의 급성중독 현상과 신장기능의 장애, 칼슘흡수장애와 골다공증 등의 골장해를 일으키는 이따이이따이 질환과 같은 만성중독증이 잘 알려져 있다.³⁻⁵⁾

한편 카드뮴과 같은 중금속 독성에 대한 해독과 영양물 질과의 관련 연구에서 식이중에 칼슘수준을 높였을 때,⁶⁾ 고단백 식이군,⁷⁾ 칼슘과 비타민 수준을 높였을 때,⁸⁾ 알긴산을 공급했을 때⁹⁾ 각각 카드뮴 중독이 완화되거나 체내 카드뮴 축적량을 낮출 수 있는 것으로 보고되었다. 또한 최 등¹⁰⁾은 만성적으로 카드뮴 중독시 catechin을 공급함으로써 간이나 신장 등의 카드뮴 축적을 억제하고 뇨 및 변 중으로의 배설을 촉진시켜 체내 흡수율 및 보유율을 감소시키는 한편 중금속 해독기구인 metallothionein (MT) 합성을 증가시키는 것으로 보고하였다.

한편 카드뮴과 vitamin E와의 관련 연구로 Kim 등은¹¹⁾ 흰쥐의 혈청과 간조직의 지질성분에 미치는 vitamin E와 단백질과의 관계를 보고함으로써 여러 가지 영양소가 카드

접수일 : 2003년 6월 2일

채택일 : 2003년 7월 4일

*This work was supported by grant No. R04-2002-000-00011-0 from Korea Science & Engineering Foundation.

[§]To whom correspondence should be addressed.

뮴 독성 완화에 기여함을 증명하였는데 특히 적정량의 Vitamin E 공급은 뇨중으로의 카드뮴과 같은 중금속 배설을 증가시키고 chelating element의 상승효과로 인하여 직, 간접적으로 소장에서의 중금속 흡수를 저하시킨다고 보고하였다. Rana와 Verma는¹²⁾ 카드뮴과 glutathione (GSH), α -tocopherol, selenium (Se) 같은 항산화 물질을 같이 공급할 때 간이나 신장의 카드뮴 축적 및 체내 흡수를 제한한다고 보고하였다. 또 Tandon 등¹³⁾의 연구에서 vitamin E를 공급한 경우 혈액, 간, 신장 등의 카드뮴 축적이 유의적으로 감소함을 보고하면서 vitamin E의 항산화력이 카드뮴 독성으로부터 생체를 보호한다고 보고하였다. 또한 Kim 등¹⁴⁾의 연구에서도 급성으로 cadmium 중독시켰을 때 vitamin E를 공급시 뇨와 변중으로의 카드뮴 배설을 촉진시켜 체내 흡수율을 저하시킴을 보고하였다.

이상의 연구보고들을 종합해볼 때 카드뮴 만성 중독시 vitamin E와 같은 항산화 영양소의 충분한 보강은 카드뮴의 체내축적 억제효과를 기대할 수 있겠다. 따라서 본 연구에서는 흰쥐에 만성적으로 카드뮴을 중독시키면서 vitamin E 공급수준에 따른 체내 카드뮴의 축적, 배설 및 해독기구에 미치는 영향을 10주 및 20주에 걸쳐 기간별로 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물의 사육

실험 동물은 체중 100 g 정도되는 Sprague-Dawley 종 수컷을 구입하여 실험시작하기 전 7일간 일정한 환경에서 적응시킨 후 Table 1과 같이 증류수를 식수로 공급한 정상군 (Normal group)과 카드뮴 식수를 공급한 군으로 나누고 카드뮴 투여군은 다시 식이내 vitamin E 공급수준에 따라 vitamin E를 넣지 않은 Cd-0E군 (Cd-0E

Table 1. Classification of experimental groups

Group	Vitamin E	Cadmium*
	(mg/kg diet)	(50 ppm Cd drinking water)
Normal ¹⁾	40	-
Cd-0E ²⁾	0	+
Cd-40E ³⁾	40	+
Cd-400E ⁴⁾	400	+

*: Experimental and normal groups fed with or without 50 ppm Cd (CdCl₂ · 1/2 H₂O) in drinking water, respectively

1) Normal: Cd no treatment

2) Cd-0E: Cd treatment, vitamin E free diet

3) Cd-40E: Cd treatment, vitamin E supplementation (vitamin E 40 mg/kg diet)

4) Cd-400E: Cd treatment, vitamin E supplementation (vitamin E 400 mg/kg diet)

group), vitamin E를 40 mg/kg diet 공급한 Cd-40E군 (Cd-40E group) 및 400 mg/kg diet 공급한 Cd-400E군 (Cd-400E group)으로 나누었다. 실험동물은 각 군별로 10마리씩 총 50마리를 사용하였다.

카드뮴은 일상생활에서 식수와 식품을 통해서 오염될 가능성이 높기 때문에¹⁵⁾ 만성적으로 중독시키기 위해 저농도인 50 ppm의 카드뮴을 함유한 식수로 공급 하였다. 카드뮴 식수 및 식이의 기본 구성은 Table 1과 같다, 식수와 식이는 자유로이 섭취케 하며 20주간 사육하였다. 그리고 체내 카드뮴 흡수율 및 보유율을 관찰하기 위해 5주에 한번 씩 metabolic cage에 넣고 체중에 따라 700 ppm의 카드뮴을 1 ml 씩 경구 투여하였고 (50 ppm 카드뮴 함유 식수를 하루동안의 섭취한 양에 해당) 3일간은 뇨와 변을 채취하였다.

2. 사료섭취량, 체중증가량 및 식이효율

Applegate 등¹⁶⁾의 방법에 따라 사료와 식수 섭취량 및 체중은 전 실험기간을 통하여 매일 일정한 시간에 측정하였다. 식이효율은 전체중증가량을 같은 기간동안의 식이 섭취량으로 나누어줌으로써 계산하였다.

3. 시료채취

1) 혈액 및 장기채취

실험종료후 실험동물을 가벼운 ether 마취하에서 1 ml의 3.8% sodium citrate를 미리 넣어둔 22 guage의 주사기로 복부 대동맥으로부터 혈액을 얻었다. 간장과 신장 등을 적출하여 생리식염수로 씻어내고 무게를 측정 한 후 80℃에 보관하였다. 무기질 분석을 위한 시료로 이용될 간, 신장은 무게를 칭량 한 후 110℃의 drying oven에서 말린 후 desicator에 보관하였다.

2) 뇨와 변의 채취

뇨와 변은 12시간을 절식시킨 날을 제외한 실험 종료전 3일간 metabolic cage에서 채취하였으며 뇨는 총량을 측정 한 다음 1500 × g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 냉동 보관하였고 변은 무게를 측정한 다음 110℃의 drying oven에서 말린후 desicator에 보관하였다.

4. 카드뮴 함량 측정

1) 간장, 신장조직 및 변중 카드뮴 함량 측정

간장, 신장 및 변의 카드뮴 함량은 시료의 일정량을 취하여 550℃의 muffle furnace에서 24시간 동안 건조분해시켜 농질산으로 녹인 후 1N HCl로 희석하여 파장 228.8 nm에서 atomic absorption spectrophotometer (AAs,

Cambridge, UK)로 측정하였다.¹⁷⁾

2) 혈액 및 뇨의 카드뮴 함량 측정

혈액 및 뇨의 카드뮴 함량은 시료의 일정량을 kjeldahl flaske에 넣고 농질산을 10 ml 정도 가하여 무색투명할 때까지 가열 분해하여 습식분해시킨 후 증류수로 희석하여 파장 228.8 nm에서 AAS로 측정하였다.¹⁸⁾

5. 간장 및 신장의 Metallothionein 함량 측정

간장 및 신장조직의 일정량을 취하여 potter-elvejhem homogenizer를 사용하여 10 mM tris/HCl (pH 8.2), 0.25 M sucrose, 2 mM 2-mercaptoethanol, 10 mM sodium azide, 0.1 mM phenylmethyl sulfonyl fluoride (PMSF)의 505 용액으로써 마쇄하여 105,000 × g에서 60분간 초원심분리하여 얻은 상층액 (cytosol)을 total MT 분석용으로 사용하였다. 위에서 얻은 cytosol에서 Hidalgo 등¹⁹⁾의 방법에 의하여 AAS (Solar 929, UK)로 228.8 nm에서 측정하였다.

6. 체내 카드뮴 흡수율 및 보유율

카드뮴의 체내 흡수율 및 보유율은 다음과 같이 계산하였다.

1) 카드뮴 흡수율 (%)

$$\frac{1일동안의 카드뮴 경구투여량 (ug) - 1일동안의 변 배설량 (ug)}{1일동안의 카드뮴 경구투여량 (ug)} \times 100$$

2) 카드뮴 보유율

$$\frac{1일동안의 카드뮴 경구투여량 (ug) - [1일동안의 변배설량 (ug) + 1일동안의 뇨배설량 (ug)]}{1일동안의 카드뮴 경구 투여량 (ug)} \times 100$$

7. 통계처리

실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 평균차이가 있는가를 검증하기 위하여 분산분석 (ANOVA)을 수행하였으며 분산분석의 결과 유의성이 있는 경우 군간의 유도는 Tukey's -HSD test에 의해 분석하였다.

결 과

1. 식이 섭취량, 체중 증가량, 식이 효율 및 카드뮴 섭취량

흰쥐를 20주간 만성적으로 카드뮴을 중독시키면서 실험 기간동안의 체중증가량을 관찰한 결과는 Table 2와 같다. 정상군은 실험기간동안 지속적인 증가를 보인 반면 vitamin E를 공급하지 않은 카드뮴 공급군 (Cd-0E군)은 카드뮴 식수 공급 후부터 실험기간동안 정상군에 비해 계속적으로 낮은 체중증가량을 나타내었으며 vitamin E 다량 공급군 (Cd-400E군)은 Cd-0E군과 Cd-40E군에 비해 높은 체중증가량을 나타내었다.

식이 섭취량, 식이효율 및 카드뮴 섭취량을 관찰한 결과 식이 섭취량은 정상군에 비해 vitamin E를 공급하지 않으면서 카드뮴을 만성적으로 중독시킨 Cd-0E군과 vitamin E를 40 mg/kg diet 공급한 Cd-40E군은 유의적으로 감소하였으나 vitamin E를 다량 공급한 Cd-400E군은 정상군 수준이었다. 식이효율은 정상군에 비해 카드뮴 투여군 모두가 감소되었으나 vitamin E 다량 공급군인 Cd-400E군은 Cd-0E군에 비해 유의적으로 증가되었다. 한편 식수 섭취량에 따른 카드뮴 섭취량은 카드뮴 처리군간의 유의적인 차이는 없었다.

2. 간장 및 신장의 무게

중금속의 중독 및 해독과정에서 가장 중요한 기관이라 할 수 있는 간장과 신장의 무게를 실험 10주, 20주에서 관

Table 2. Effect of vitamin E on body weight gains, food intake, food efficiency ratio (FER) and cadmium intakes in cadmium poisoned rats

Group	Body weight gain (g/weeks)	Food intake (g/day)	FER	Water intake (ml/day)	Cd intake (ppm/day)
10 weeks					
Normal	15.95 ± 0.48 ^a	14.10 ± 0.12 ^a	0.16 ± 0.01 ^a	30.30 ± 1.45 ^a	-
Cd-0E	11.48 ± 0.82 ^b	11.45 ± 0.23 ^b	0.12 ± 0.01 ^b	20.45 ± 2.49 ^b	1.20 ± 0.11 ^{NS}
Cd-40E	12.03 ± 0.95 ^b	12.45 ± 0.25 ^b	0.13 ± 0.01 ^{bc}	23.56 ± 2.75 ^b	1.28 ± 0.15
Cd-400E	14.35 ± 0.65 ^c	13.74 ± 0.41 ^a	0.15 ± 0.01 ^{oc}	28.25 ± 2.50 ^b	1.39 ± 0.16
20 weeks					
Normal	16.75 ± 1.52 ^a	15.10 ± 0.13 ^a	0.17 ± 0.01 ^a	32.30 ± 1.58 ^a	-
Cd-0E	11.92 ± 0.92 ^b	12.85 ± 0.43 ^b	0.12 ± 0.01 ^b	20.85 ± 2.53 ^b	1.24 ± 0.10 ^{NS}
Cd-40E	12.52 ± 1.03 ^b	13.55 ± 0.25 ^b	0.14 ± 0.01 ^{bc}	24.82 ± 2.44 ^b	1.38 ± 0.14
Cd-400E	14.02 ± 0.85 ^c	14.94 ± 0.41 ^a	0.15 ± 0.01 ^{oc}	29.17 ± 1.50 ^b	1.46 ± 0.13

All values are mean ± SE (n = 10), Column means with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test NS: Not Significant

Table 3. Effect of vitamin E on tissue weight and tissue weight relative to body weight in chronic cadmium poisoned rats

Group	Liver		Kidney	
	10 weeks	20 weeks	10 weeks	20 weeks
	(g)			
Normal	8.57 ± 0.40 ^o	9.03 ± 0.38 ^o	2.83 ± 0.3 ^o	2.94 ± 0.05 ^o
Cd-0E	6.38 ± 0.62 ^b	7.07 ± 0.64 ^o	2.45 ± 0.30 ^b	2.40 ± 0.07 ^b
Cd-40E	7.10 ± 0.65 ^b	7.31 ± 0.38 ^o	2.60 ± 0.02 ^b	2.61 ± 0.22 ^b
Cd-400E	7.25 ± 0.44 ^b	7.78 ± 0.35 ^o	2.62 ± 0.20 ^b	2.65 ± 0.20 ^b
	Liver index		Kidney index	
	(g/100 g bw)			
Normal	2.43 ± 0.11 ^{NS}	2.57 ± 0.18 ^b	0.64 ± 0.03 ^{NS}	0.62 ± 0.01 ^b
Cd-0E	2.70 ± 0.12	2.90 ± 0.24 ^a	0.66 ± 0.02	0.72 ± 0.01 ^o
Cd-40E	2.61 ± 0.14	2.75 ± 0.20 ^o	0.67 ± 0.02	0.69 ± 0.02 ^o
Cd-400E	2.55 ± 0.20	2.59 ± 0.25 ^b	0.65 ± 0.03	0.66 ± 0.01 ^b

All values are mean ± SE (n = 10). Column means with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test
NS: Not Significant

Table 4. Effect of vitamin E on liver and kidney cadmium concentration in chronic cadmium poisoned rats

Group	Liver		Kidney	
	10 weeks	20 weeks	10 weeks	20 weeks
	(ug/g wet wt)			
Normal	0.25 ± 0.01 ^c	0.40 ± 0.01 ^d	1.50 ± 0.01 ^c	2.50 ± 0.01 ^c
Cd-0E	22.23 ± 2.59 ^a	37.95 ± 4.79 ^a	9.75 ± 0.21 ^a	41.25 ± 3.25 ^a
Cd-40E	19.52 ± 1.49 ^a	27.545 ± 2.9 ^b	8.65 ± 0.30 ^b	35.79 ± 2.03 ^b
Cd-400E	15.89 ± 0.69 ^b	20.925 ± 1.66 ^c	7.75 ± 0.50 ^b	30.54 ± 3.50 ^b

All values are mean ± SE (n = 10). Column means with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test
NS: Not Significant

찰한 결과는 Table 3과 같다. 간장의 무게는 10주, 20주 모두 정상군에 비하여 카드뮴 중독군에서 유의적으로 감소하였으며 Cd-40E군 및 Cd-400E군에서는 Cd-0E군에 비해 다소 증가하였으나 유의적인 차이는 없었다. 신장 무게는 실험 10주, 20주 모두 정상군에 비하여 카드뮴 중독군에서 유의적으로 감소하였으며 20주째에는 vitamin E 비공급군인 Cd-0E군에 비해 vitamin E를 공급한 Cd-40E군 및 Cd-400E군에서 다소 증가하였으나 유의적인 차이는 없었다.

간장 무게를 체중으로 나눈 단위 체중당 간장 중량은 10주에는 실험군간의 유의적인 차이가 없었으나 20주는 정상군에 비해 Cd-0E군과 Cd-40E군은 각각 113% 및 107% 증가되었으며 Cd-400E군은 정상군 수준이었다. 단위체중당 신장중량은 10주에는 실험군간의 유의적인 차이가 없었으며 20주째에는 정상군에 비해 카드뮴 투여군은 유의적으로 증가되었으며 Cd-400E군은 정상군 수준이었다.

3. 카드뮴의 체내축적 및 해독상태

1) 간장 및 신장조직의 카드뮴 함량

실험 10주와 20주의 간장 및 신장조직에서의 카드뮴 축

적변화는 Table 4와 같다. 간장중의 카드뮴 함량은 정상군에서는 거의 존재하지 않으나 카드뮴을 만성적으로 투여한 10주에서는 정상군에 비해 Cd-0E군은 88배, Cd-40E군은 78배, Cd-400E군에서는 63배 증가되었으며 vitamin E를 다량 공급한 Cd-400E군이 Cd-0E군에 비해 29% 감소되었다. 또한 20주에서 간조직의 Cd 함량은 10주째 보다 높았으나 실험군간의 차이는 비슷한 경향이였다.

신장조직에서의 카드뮴 함량의 변화는 10주와 20주 모두 vitamin E 비공급군인 Cd-0E군에 비해 Cd-40E군과 Cd-400E군에서는 유의적으로 감소되었다. 특히 Cd-400E군은 Cd-0E군에 비해 10주, 20주에서 각각 20.52% 25.96% 씩 감소되었다. 한편 10주에서의 신장조직의 카드뮴 함량은 간조직의 약 1/2 수준이었으나 20주간 중독시킨 후에는 신장조직의 카드뮴 함량이 간조직과 비슷한 수준이었다. 또한 10주에 비하여 20주후의 신장의 카드뮴 함량은 약 3~4배 증가하였다.

2) 혈액중 카드뮴함량

간 및 기타 조직으로부터 유래된 것으로 구성된 혈액에서의 카드뮴 함량변화는 Fig. 1과 같다. 10주에서 혈액중

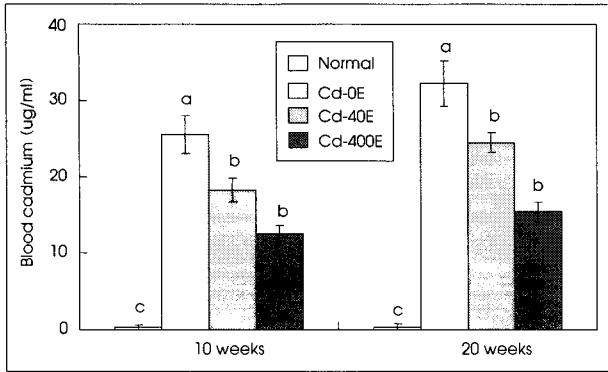


Fig. 1. Effects of vitamin E on blood cadmium concentration in chronic cadmium poisoned rats. All values are mean \pm SE (n = 10). Those with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

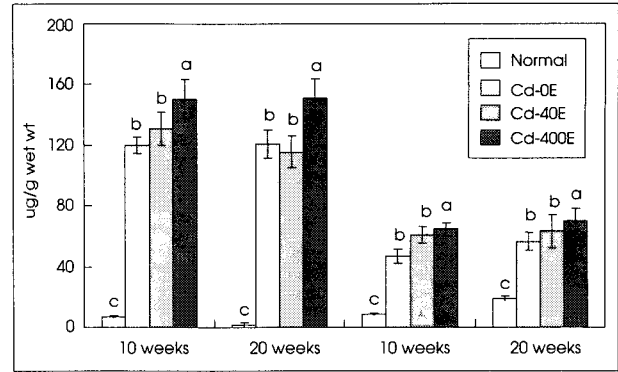


Fig. 2. Effect of vitamin E on liver and kidney metallothionein level in chronic cadmium poisoned rats. All values are mean \pm SE (n = 10). Those with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

Table 5. Effect of vitamin E on urinary and fecal cadmium excretion in chronic cadmium poisoned rats

Group	Urine		Feces	
	10 weeks	20 weeks	10 weeks	20 weeks
	(ug/ml)		(ug/g wet wt)	
Normal	0.25 \pm 0.05 ^c	0.46 \pm 0.01 ^d	2.5 \pm 0.24 ^c	2.7 \pm 0.25 ^d
Cd-0E	8.54 \pm 0.70 ^b	11.23 \pm 2.10 ^c	95.25 \pm 10.21 ^b	119.66 \pm 10.98 ^c
Cd-40E	10.54 \pm 0.95 ^b	15.88 \pm 2.18 ^b	105.38 \pm 9.43 ^b	154.34 \pm 15.30 ^b
Cd-400E	15.35 \pm 0.25 ^a	22.65 \pm 1.23 ^a	210.45 \pm 15.45 ^a	265.33 \pm 21.67 ^a

All values are mean \pm SE (n = 10). Column means with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test
NS: Not Significant

의 카드뮴 함량은 vitamin E 비공급군인 Cd-0E군에 비해서 Cd-40E군과 Cd-400E군에서 각각 28.4%, 50.68% 씩 감소되었다. 20주에는 Cd-0군에 비해 Cd-40E군과 Cd-400E군은 유의적으로 감소되었으며 이는 10주와 유사한 경향이었다.

3) 뇨 및 변으로의 카드뮴 배설량

뇨와 변중으로의 카드뮴 배설량을 관찰한 결과는 Table 5와 같다. 10주에는 정상군에서 뇨중 카드뮴 배설량이 극히 미량이나 vitamin E를 공급하지 않은 카드뮴 투여군 (Cd-0E)군에서는 8.54 μ g/day이었으며 vitamin E를 공급한 Cd-40E군과 Cd-400E군은 각각 10.54 μ g/day 및 15.35 μ g/day로 vitamin E에 의한 뇨중으로의 배설이 다소 촉진됨을 알 수 있다. 20주에서도 10주에서의 뇨중 배설량과 유사한 경향이었다.

중금속의 주된 배설경로인 대변중으로의 카드뮴 배설을 보면 10주에서는 vitamin E 투여군인 Cd-40E군과 Cd-400E군에서 비투여군인 Cd-0E군에 비해 1.11배, 2.21배 현저하게 증가되었다. 20주에서도 10주와 마찬가지로 vitamin E 비공급군에 비하여 vitamin E 공급군에서 현저히 증가하였으며 vitamin E 함량에 따라서 대변중 배설량

이 차이가 나는 것을 볼 수 있다.

4) 간장 및 신장조직의 metallothionein 합성량

Vitamin E의 카드뮴 해독양상을 관찰하기 위해 카드뮴의 해독기구인 MT 합성량을 간장 및 신장 조직에서 측정된 결과는 Fig. 2와 같다.

10주에서의 간조직중의 Cd-MT 함량은 정상군에 비해 카드뮴 공급군에서 유의적으로 증가되었으며 Cd-0E군에 비해 vitamin E 다량 공급군인 Cd-400E군에서는 1.46배씩 증가되었으며 20주에서도 10주와 유사한 경향이었다. 이러한 결과로부터 vitamin E가 MT 합성을 촉진시켜 카드뮴의 체내축적을 억제시키는 해독기능을 가졌다고 볼 수 있다. 신장 조직의 MT 합성량은 10주와 20주 모두 정상군에 비해 카드뮴 공급군에서 유의적으로 증가하였는데 10주에는 Cd-0E군에 비해 vitamin E 다량공급군인 Cd-400E군에서 1.38배씩 증가되었다. 20주에는 10주에 비하여 Cd-MT 함량이 다소 증가되었으나 경향은 10주째와 비슷하였다.

5) 카드뮴 체내 흡수율 및 보유율

카드뮴의 체내흡수율을 구한 결과 (Table 6) vitamin E 비공급군에 비해 vitamin E 공급군에서 현저하게 감소되

Table 6. Effect of vitamin E on cadmium absorption and retention ratio in chronic cadmium poisoned rats

Group	Absorption ratio		Retention ratio	
	10 weeks	20 weeks	10 weeks	20 weeks
	(%)			
Normal	-	-	-	-
Cd-0E	86.39 ± 3.23 ^a	82.90 ± 2.67 ^a	85.17 ± 3.45 ^a	81.30 ± 12.98 ^a
Cd-40E	84.95 ± 3.35 ^a	75.95 ± 2.21 ^b	83.44 ± 2.35 ^a	73.68 ± 2.78 ^b
Cd-400E	69.93 ± 3.21 ^b	62.09 ± 4.22 ^c	67.74 ± 3.21 ^b	58.86 ± 3.25 ^c

All values are mean ± SE (n = 10). Column means with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test
NS: Not Significant

었다. 10주에는 Cd-0E군에 Cd-400E군에서 19.53% 감소되었고 20주에는 Cd-0E군에 비해 Cd-40E 및 Cd-400E군에서 각각 8.38%, 25.10% 씩 감소되었다. 카드뮴의 체내 보유율은 vitamin E 비공급군에 비해 vitamin E 공급군에서 현저하게 감소되었으며 10주에는 Cd-0E군에 비하여 vitamin E 다량 공급군인 Cd-400E군이 20.46% 감소되었다. 20주에는 Cd-0E군에 비해 Cd-40E 및 Cd-400E군에서 각각 9.37%, 27.60% 씩 감소되었다.

고 찰

본 연구는 식이내 vitamin E의 충분한 보장이 만성적으로 카드뮴에 중독시킨 흰쥐 체내 각 조직의 카드뮴의 축적상태와 배설상태 및 해독기구에 미치는 효과를 관찰코져하였다.

본 연구에서 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율은 정상군에 비해 카드뮴 공급군에서 유의적으로 낮았다. 이러한 경향은 카드뮴 공급으로 인한 연구^{20,21)}에서 공통적으로 나타나는데 특히 카드뮴 공급군에서의 체중 증가량의 감소는 Samuel 등²²⁾의 연구에서 카드뮴에 중독된 흰쥐에서 사료섭취의 감소로 체중이 감소되었다는 보고와 같은 결과를 나타내었다. 또한 식이효율의 감소는 카드뮴 투여로 식이 섭취량의 감소와 흡수장애 및 대사저하에 의한 것으로 사료된다. 그러나 vitamin E 다량 공급군에서는 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율 등이 비공급군에 비해 높았는데 이러한 결과는 항산화력이 뛰어난 vitamin E를 다량으로 공급하여 세포내 독성을 완화시켜줌으로써 체내 대사를 안정화시켰기 때문으로 생각된다.

동물체내에서 카드뮴 축적량의 50~80%가 간장과 신장 조직에 분포되어 카드뮴 중독에 가장 큰 영향을 받는 기관 이면서 동시에 주된 해독기관이다. 본 연구에서 간장과 신장의 무게는 카드뮴 중독군에서 유의적으로 감소하였는데 이는 카드뮴에 의해 조직이 손상되었거나 카드뮴 공급군의

체중이 감소함에 따라 기관의 무게 역시 감소하였기 때문이다. 장기 무게를 체중으로 나눈 간장 및 신장의 index는 10주에는 실험군간의 유의적 차이가 없었으나 20주째에는 vitamin E 다량 공급군인 Cd-400E군은 Cd-0E군에 비해 간장과 신장의 index가 유의적으로 감소하였다.

카드뮴의 노출경로에 관계없이 몸에서 카드뮴이 제일 먼저 축적되는 주된 기관인 간장에서의 카드뮴함량은 10주, 20주 모두 Cd-0E군에 비하여 vitamin E 다량 공급군에서 유의적으로 감소되는 경향이였다. 이러한 결과는 Pace의 보고²³⁾에서 나타난 바와 같이 항산화력이 뛰어난 vitamin E를 공급함으로써 소장에서의 카드뮴 흡수를 직간접적으로 저해하여 카드뮴의 축적을 저해하는 것으로 생각된다. 또한 본 연구결과는 Tandon 등의 연구¹³⁾에서 vitamin E를 공급한 경우 간, 신장 등의 카드뮴 축적이 유의적으로 감소된 경우와 일치하였다. 신장에서의 카드뮴 함량 또한 간장에서의 카드뮴 함량과 유사한 경향을 띄었으며 특히 체내 20주의 신장 카드뮴 함량은 10주에 비하여 3~4배 정도 증가함을 볼 수 있다. 이는 소장에서 혈액순환계로 흡수된 카드뮴은 일차적으로 간장으로 운반되어 축적되기 때문에 간장의 카드뮴 함량이 증가되나 장기간 투여하는 시간이 흐름에 따라 카드뮴은 신장으로 운반되어 축적되어진다. 따라서 카드뮴 중독초기에는 간장조직에서의 카드뮴 함량이 신장 카드뮴의 함량의 비율보다 높다가 점점 감소하게되고 장기간 카드뮴을 공급하게 되면 신장에 더 많이 축적되게 된다.²⁴⁾

혈액중에 존재하는 카드뮴은 소장에서 흡수된 것과 간장 및 기타조직으로부터 유래된 것으로 구성된다. 카드뮴 투여직후 혈액을 채취하여 카드뮴의 분포를 살펴보면 60% 정도의 카드뮴이 MT에 결합되어 있는 것으로 나타난다.^{25,26)} 그러나 어느 정도 대사가 진행된 후 채취한 혈액에서는 주로 albumin에 의해 결합되어있는 것으로 나타나고 있는데 이것은 cadmium-albumin은 사구체를 통과하지 못하므로 혈액에 남게되는 반면 Cd-MT는 사구체막을 쉽게 통과하

여 소변으로 배설되기 때문이다.²⁷⁾ 본 연구에서 혈액중 카드뮴 함량이 vitamin E 공급군에서 유의적으로 감소한 결과 vitamin E 다량 공급으로 인해 혈액중의 카드뮴이 간장과 신장으로 이행되는 함량이 감소된 것으로 생각된다.

대변 중의 카드뮴 배설량은 카드뮴으로 인해 소화되지 못한 단백질 분해물질이 카드뮴과 결합된 채로 체외로 배설되거나 장세포에서 합성된 MT가 카드뮴과 결합하고 있다가 장세포 교체시 함께 배설됨으로써 카드뮴 배설을 억제시켜준다고 보고되었다.²⁸⁾ 본 연구에서 카드뮴의 주된 배설경로인 대변중으로의 카드뮴 배설을 보면 10주 및 20주에서 vitamin E 공급군에서 유의적으로 증가하였는데 이는 Pace 등²⁹⁾의 연구에서 나타난 바와 같이 vitamin E가 체내 chelating 요소를 자극하므로써 변중으로의 배설을 증가시킨 것으로 사료된다.

카드뮴 중독의 중요한 판정지표는 뇨중 카드뮴양의 측정으로 과량의 카드뮴에 노출되었을 때 MT가 포화되어 뇨중 카드뮴 배설이 증가하나 카드뮴에 노출되지 않았을 때는 뇨중 카드뮴 배설이 소량 (1~2 ug)으로 일정하다고 한다. 본 연구에서 뇨중 카드뮴 배설량을 관찰한 결과 vitamin E 공급군이 vitamin E 비공급군에 비해 유의적으로 높았는데 이는 vitamin E가 일부 체내에 흡수된 카드뮴을 무독상태인 MT로의 합성을 촉진시켜줌으로써 뇨중 카드뮴 배설이 증가된 것으로 사료된다. 생체는 중금속 침입시 그 독성을 해독하기 위한 반응으로써 MT를 합성하여 무독화시킨다. MT는 분자량이 작은 금속결합단백질로써 61개의 아미노산으로 구성되어있고 분자내에 시스테인이 풍부하여 방향족 아미노산이나 소수성 잔기가 적은 저분자성 단백질이다. MT는 카드뮴과 같은 중금속에 의해 체내에서 합성이 유도되는데 중금속이 체내에 합성될 경우 주로 간장 및 신장조직에서 MT 합성이 크게 증가됨으로써 유독성의 유리 카드뮴을 무독성으로 만들어 그 독성을 완화시키며 간장조직에서 신장조직으로 중금속을 운반하여 중금속의 체외로의 배설을 돕는다. Morselt 등²⁹⁾은 카드뮴의 독성은 세포가 카드뮴을 얼마나 많이 격리시킬 수 있느냐 즉 MT를 얼마나 많이 합성시킬 수 있는느냐에 따라 달려있다고 보고하였다. 본 연구에서 카드뮴의 해독기구인 Cd-MT 합성을 간조직에서 측정할 결과 카드뮴 투여군에서 비투여군에 비해 현저히 증가하였으며 vitamin E 공급에 의해서도 증가하였다. 신장의 MT 함량은 간장의 경우와 비슷한 경향이였으며 20주에 MT 합성량이 증가되었다.

또한 카드뮴 배설량을 기준으로 계산한 흡수율과 보유율도 카드뮴 공급군에서 증가하였으나 Cd-0E군에 비해 vitamin E 다량 공급군에서는 유의적으로 감소하였다.

따라서 vitamin E는 체내로 카드뮴 흡수를 소화기관에서 억제시키고 대변으로 배설을 촉진시키는 기능과 일부 체내에 흡수된 카드뮴을 무독상태인 Cd-MT으로 합성을 촉진시키므로써 카드뮴 독성을 완화시키는 것으로 생각된다.

요약 및 결론

본 연구는 만성 카드뮴 중독 흰쥐에서의 카드뮴 축적, 배설 및 해독기구에 미치는 vitamin E의 영향을 관찰하고자 하였다. 실험동물은 100 g 내외의 Sprague-Dawley 중 흰쥐를 대상으로 카드뮴을 투여하지 않은 정상군과 카드뮴 투여군으로 나누었다. 카드뮴 투여군은 다시 식이내 vitamin E 공급수준에 따라 Cd-0E군 (Vitamin E 비공급군), Cd-40E군 (vitamin E 40 mg/kg diet), Cd-400E군 (vitamin E 400 mg/kg diet)으로 나누어 10주, 20주간씩 자유섭식시켰다. 카드뮴은 50 ppm Cd²⁺ 농도의 식수로 자유로이 공급하였다.

식이섭취량, 체중 증가량 및 식이효율은 정상군에 비해 카드뮴 공급군에서 유의적으로 낮았으며 vitamin E 다량 공급군에서는 비공급군에 비해 유의적으로 증가하였다. 간장과 신장의 무게는 카드뮴 중독군에서 유의적으로 감소하였으며 장기 무게를 체중으로 나눈 간장 및 신장의 index는 20주째에는 Cd-400E군은 Cd-0E군에 비해 유의적으로 감소하였다. 간장과 신장조직에서의 카드뮴 함량은 10주, 20주 모두 Cd-0E군에 비하여 vitamin E 다량 공급군에서 유의적으로 감소되었다. 기간별로 비교했을 때 체내 20주의 신장 카드뮴 함량은 10주에 비하여 3~4배 정도 증가되었다. 혈액중의 카드뮴 함량은 vitamin E 다량 공급군에서 유의적으로 감소되었다. 뇨 및 대변중의 카드뮴 함량은 10주 및 20주에서 vitamin E 다량 공급군에서 유의적으로 증가되었다. 간장 및 신장조직의 MT 함량은 카드뮴 투여군에서 비투여군에 비해 현저히 증가하였으며 vitamin E 공급에 의해서도 증가되었다.

따라서 vitamin E의 공급은 뇨와 변중으로의 카드뮴 배설량을 증가시키고 카드뮴 해독기구인 간장과 신장조직에서의 MT 합성을 촉진시켜 체내 각 조직의 카드뮴 축적량을 감소시켰다. 따라서 카드뮴 체내 흡수율과 보유율은 vitamin E의 다량 공급으로 현저하게 감소되었다. 결론적으로 vitamin E의 충분한 보장은 만성 카드뮴 중독흰쥐에서 카드뮴의 체내 흡수를 저해하고 배설을 촉진시키고 동시에 카드뮴 해독기구를 강화시킴으로써 카드뮴의 체내 축적을 억제시킴을 알 수 있었다.

Literature cited

- 1) Page AL, Chang AC. Cadmium. Spring-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, pp.33-75, 1986
- 2) Perry HM Jr, Yunice A. Acute pressor of Intra-Arterial Cadmium and Mercuric Ions in Anestherized Rats. *Proc Soc Exp Bio Med* 120 (3) : 805-808, 1965
- 3) Kazantzis G. Renal Tubular dysfunction and abnormalities of calcium metabolism in cadmium workers. *Environ Health Perspect* 28: 155-159, 1979
- 4) Morita S. Defense mechanisms against cadmium toxicity III. Effect of pretreatment with small oral dose of cadmium on metallothionein synthesis after a large oral dose of cadmium in mice. *Japan J Pharmacol* 35 (2) : 153-161, 1984
- 5) Schroeder HA, Nason AP, Prior RE, Reed JB, Haessler WT. Influence of cadmium in renal ischemic hypertension in rats. *Am J Physiol* 214 (3) : 469-474, 1968
- 6) Kim MK, Baek SM. Effects of dietary calcium level on cadmium and lead toxicity in rats. *Korean J Nutr* 29: 958-970, 1996
- 7) Lee HY, Kim MK. Effects of dietary cadmium and protein levels on the body protein metabolism and cadmium toxicity in growing rats. *Korean J Nutr* 21: 410-420, 1988
- 8) Cho SY, Huh SY, Lee SH. Effects of calcium and vitamin D on the cadmium intoxicification of rats. *J of Korean Soc Food Nutr* 13: 27-32, 1984
- 9) Yang JS, Hahn SH, Lee SR. A suppressive effect of alginate on intestinal absorption of cadmium in vitro. *Korean J Nutr* 11: 9-12, 1978
- 10) Choi JH, Rhee SJ. Effects of green tea catechin on cadmium accumulation in chronic cadmium poisoned rats. *Korean Journal of Nutrition* 34 (4) : 384-392, 2001
- 11) Kim HJ, Cho SY, Park JM. Effects of dietary vitamin E and protein on cadmium toxicity in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 19: 27-34, 1990
- 12) Rana SV, Verma S. Protective effects of GSH, vitamin E and selenium on lipid peroxidation in cadmium -fed rats. *Biol Trace Elem Res* 51 (2) : 161-168, 1996
- 13) Tadon SK, Singh S, Dhawan M. Preventive effect of vitamin E in cadmium intoxicification. *Biomed Environ Sci* 5(1): 39-45, 1992
- 14) Kim KR. Effects of vitamin E on Arachidonic acid cascade of platelet and aorta in cadmium poisoned rats. Catholic university of Daegu
- 15) Piscator M. Dietary exposure to cadmium and health effect: impact of environmental exchanges. *Environ Health Perspect* 63: 127-132, 1985
- 16) Applegate EA, Stern JS. Exercise and detrains. Effect on food intake, adiposity and lipogenesis in Osborne-mendel rats made obese by a high fat diet. *J Nutr* 114: 447-459, 1984
- 17) Zinterhofer LJ, Jatlow PI, Fappiano A. Atomic absorption determination of lead in blood and urine in the presence of EDTA. *J Lab Clin Med* 78: 664-674, 1971
- 18) Yeager DW, Cholak J, Henderson EW. Determination of lead in biological and related material by atomic absorption spectrophotometry. *Environ Sci Technol* 5: 1020-1022, 1971
- 19) Hidalgo J, Amario A, Flos R, Garvey JS. Restraintstress-induced changes in rat liver and serum metallothionein and in zinc metabolism. *Experientia Basel* 42: 1006-1010, 1986
- 20) Juhlsahm K, Utone F, Brackkan OR. Internations of cadmium with copper, zinc and iron in different organs and tissue of the rat. *Acta Pharmacol Toxicol* 41: 515-524, 1977
- 21) Kim HJ, Bae KH, Lee HJ, Eun JB, Kim MK. Effect of hesperidine extracted from tangerine peel on Cd and lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutrition* 32 (2) : 137-149, 1999
- 22) Samuel AG, Thelma CG, Anderson WAD. Selective of organ response to cadmium injury and various protective measures. *J PATH BACT* 96: 89-96, 1968
- 23) Place V, Lannucci E. The importance of vitamins in relation to the presence of heavy metals in food. *Panmimerva Med* 36(2) : 80-82, 1994
- 24) Nechay BR, Saunders JP. Inhibition of renal adenosine triphosphatase by cadmium. *J Pharmacol Exp Ther* 200 (3) : 623-629, 1977
- 25) Cherian MG, Goyer RA. Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals. *Life Science* 23: 1-10, 1978
- 26) Nordberg GF, Piscator M, Nordberg M. On the distribution of cadmium in blood. *Acta Pharmacol Toxicol* 30 (3) : 289-295, 1971
- 27) Suzuki Y. Cadmium copper and zinc distribution in blood of rats after long-term cadmium administration. *J Toxicol Environ Health* 7 (2) : 251-262, 1981
- 28) Nordberg GF, Piscator M. Influence of long term Cd exposure on urinary excretion of protein and Cd in mice. *Environ Physiol Biochem* 2: 37, 1972
- 29) Morselt AF, Suzuki KT, Roelofsen AM, Hazelhoff Reelfzen W, Copius Peereboom-Stegeman JH. Increase of cadmium-thiolate clusters as a measure of morphological non-toxic cadmium accumulation in the liver. *Toxicology* 41 (1) : 33-41, 1986