

## 랫드에서 수은이 혈장 DNA와 혈액화학치에 미치는 영향

조준형 · 정상희\* · 강환구 · 윤효인<sup>1</sup>

국립수의과학검역원  
<sup>1</sup>충남대학교 수의과대학  
(게재승인: 2003년 11월 25일)

### Effects of HgCl<sub>2</sub> on plasma DNA content and blood biochemical values in rats

Joon-Hyoung Cho, Sang-Hee Jeong\*, Hwan-Goo Kang, and Hyo-In Yun<sup>1</sup>

National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-016, Korea

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

(Accepted: November 25, 2003)

**Abstract :** Changes of plasma DNA contents and serum biochemical values were measured in rats administered with HgCl<sub>2</sub> to investigate the in vivo cytotoxic effects of mercury and examine the usefulness of these changes as indicators of mercury exposure and diagnosis of mercury poisoning. Rats were given once intraperitoneally HgCl<sub>2</sub>(0.13, 0.32, 0.8 and 2 mg/kg b.w) and the changes of plasma DNA contents and serum biochemical values were measured at the time of 2, 4, 8, 24, 48 and 72 hours after the administration of HgCl<sub>2</sub>. Plasma DNA contents began to increase from 2 hours after the administration of HgCl<sub>2</sub> in all the treatment groups significantly compared to control with dose-dependent pattern. The levels of plasma DNA reached to peak at 48 hours as 2.77, 7.60, 15.46 and 16.51 times higher than control in each treatment group of 0.13, 0.32, 0.8 and 2 mg/kg.b.w, respectively and remained to be higher until 72 hours after the administration. The values of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, lactate dehydrogenase, blood urea nitrogen and glucose of serum were increased, however the values of alkaline phosphatase, total protein and triglyceride were decreased. These changes of increase and decrease showed dose-dependent pattern but the starting time, maintenance and magnitude of change were various and characteristic according to serum biochemical indices. Among the changes of serum biochemical values, those of aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase and blood urea nitrogen were apparently and significantly increased compared to control from 2 to 72 hours by the administration of 2 mg/kg HgCl<sub>2</sub>. This study demonstrates that plasma DNA and serum biochemical values such as aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, blood urea nitrogen and etc. are valuable as biomarkers for mercury exposure assessment and diagnosis of mercury poisoning.

**Key words :** HgCl<sub>2</sub>, plasma DNA, cytotoxicity, blood biochemical values, SD rats

## 서 론

최근 일본과 미국에서 자국민들이 섭취하는 어개류 및 그 통조림에서의 수은 함량을 조사한 결과를 토대로 어개류 등의 섭취에 관한 주의사항을 발표한 바 있다.

수은화합물은 금속수은 및 그의 무기염류와 유기수은

화합물로 구분되며 금속수은은 사하제, 기생충박멸제 및 반대자극제 연고 등의 성분으로 사용되어 왔으며 유기수은화합물은 소독제와 이노제 및 항진균제로 사용되어 왔다. 이들 수은화합물들은 모두 가축과 사람에서 미나 마타 병 등 중독을 일으킬 수 있으며 또한 심각한 환경오염물질로서 생체내에서 신장, 간장 및 신경계 등 선택기관에 대해 독작용이 높다. 유기 및 원소 수은은 지용

\*Corresponding author: Sang-Hee Jeong  
Toxicology Division, National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-016, Korea  
[Tel: 82-31-467-1836, Fax: 82-31-467-1845, E-mail: Jeongsh@nvrqs.go.kr]

성으로 중추신경계에 분포하고 신경장애를 유발하며, 무기수은은 주로 콩팥에 상해를 준다. 또한 수은은 변이원성, 신장독성 및 면역독성 물질 [20]로서 배양세포에 독성을 나타내어 생존율 및 증식억제, DNA 합성저하, lactate dehydrogenase(LDH) 누출 증가 등을 일으킨다고 보고되어 있다 [7].

세포의 사망은 병리적 상태에서 그 정도가 다양하게 일어나며, 지금까지는 대체적으로 형 태학적 관찰에 의해 조직 또는 세포 수준에서 연구되어 왔다.

순환하는 세포의 체액중의 DNA는 세포사망의 단서가 되며, 혈장 DNA 측정은 생체내에서 세포사망현상을 정량적으로 관찰할 수 있는 가능성이 제시되었다 [2]. 즉, 생체내에서 세포사 망현상을 관찰하는 새로운 방법으로 예민하고 특이성이 있는 세포의 DNA 정량법이 이용 가능하게 되었다. 그리고 화학물질의 세포독성 가능성을 평가하는데 alanine aminotransferase(ALT) [15, 19], aspartate aminotransferase(AST) [15, 11], alkaline phosphatase (ALP) [15, 10], creatine kinase(CK) [18], LDH [20, 7, 15, 19, 11, 1, 14] 등의 효소활성도와 blood urea nitrogen(BUN) [3, 16], glucose [16], triglyceride (TG) [12] 등의 혈액화학치를 측정하는 것이 세포독성을 정량하는 방법으로 제공될 수 있음이 보고되어 있다.

그러나 수은의 세포독성을 생체내에서 평가하기 위한 지표로서 수은이 세포에서의 DNA에 대한 영향과 효소 활성도 및 혈액화학치 등에 미치는 영향에 관한 정보는 비교적 적다.

본 연구에서는 랫드에 수은을 투여하여 경시별로 혈중의 DNA 함량과 혈액화학치를 조사하여 수은이 생체내에서 세포독성에 미치는 영향과 이들의 변화가 수은에의 노출지표 및 중독증 지표로서의 활용성을 구명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 공시동물 및 수은 투여

수의과학연구소 SPF 실험동물 사육실에서 분양받은 건강한 SD 수컷랫드를 동물실험실(온도 23°C, 습도 40~60%, 광주기 12시간, 정압 5.0~7.0)내에서 2주간 순화시킨 후 체중 200±40 g의 랫드를 각 군당 5마리씩 실험에 사용하였다. 수은(HgCl<sub>2</sub>, Sigma)은 0.15 M NaCl에 녹여 체중 kg 당 0, 0.13, 0.32, 0.8 및 2 mg을 복강내로 1회 투여하였다.

### 혈액 채취, 혈장 및 혈청 분리

랫드에 수은을 투여한 후 경시별(2, 4, 8, 24, 48 및 72 시간)로 경정맥으로부터 채혈하여 혈장 및 혈청을 분리

하여 혈장은 DNA 함량 측정에 사용하였고, 혈청은 혈액화학치 측정에 사용하였다.

### 혈장 DNA 함량 및 혈액화학치 측정

혈장 중 DNA는 Fournie *et al.* [8]이 보고한 Nick Translation법을 개량하여 Fig. 1의 방법으로 측정하였으며, 혈장중 DNA 함량은 Fig. 2와 같이 2차 polynomial fitting 정량곡선(결정계수( $r^2$ ): 0.98,  $p < 0.0001$ )을 이용하여 정량하였다. 혈청 중 creatine kinase(CK), aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), lactate dehydrogenase(LDH), alkaline phosphatase(ALP), albumin, total protein, blood urea nitrogen(BUN), glucose 및 triglyceride(TG) 등의 혈액화학치 측정은 자동생화학분석기(Express550, Ciba Corning, Albertville, MN)로 측정하였다.

### 통계처리

각 실험군마다 측정치를 평균±표준오차로 표시하였고 Statistica(version 5.5) 통계프로그램을 이용하여 one-way ANOVA를 실시하였고 유의한 차이가 인정되는 경우 대조군과 각 용량의 투여군 사이의 유의수준에 대하여  $p < 0.05$  및  $p < 0.01$ 의 수준으로 Duncan's post-hoc 검정을 실시하였다.

## 결 과

### 수은 투여 후 경시별 혈장 중 DNA 함량 변화

랫드에 수은을 체중 kg 당 0, 0.13, 0.32, 0.8 및 2 mg 씩 복강내로 1회 투여한 후 경시별(2, 4, 8, 24, 48 및 72 시간)로 혈장 중 DNA 함량을 측정된 결과 투여 후 2시간째부터 모든 투여군에서 대조군에 비하여 용량의존적으로 증가하기 시작하여 투여 후 4시간째에 최고 수준(대조군의 2.77, 7.60, 15.46 및 16.51배)에 달한 후 48시간째까지 대조군에 비하여 높았다. 특히 0.32 mg 투여군에서는 투여 후 4시간째까지, 0.8 mg 투여군에서는 투여 후 24시간째까지 그리고 2 mg 투여군에서는 투여 후 48시간째까지 대조군에 비하여 현저히 높았다( $p < 0.01$ ). 투여 후 72시간째에는 투여군과 대조군 간에 유의한 차이가 없었다(Fig. 3, 4).

### 수은 투여 후 경시별 혈액화학치 변화

랫드에 수은을 체중 kg 당 0, 0.13, 0.32, 0.8 및 2 mg 씩 복강내로 1회 투여한 후 경시별(2, 4, 8, 24, 48 및 72 시간)로 혈청 중 creatine kinase(CK), aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), lactate dehydrogenase(LDH), alkaline phosphatase(ALP), albumin,

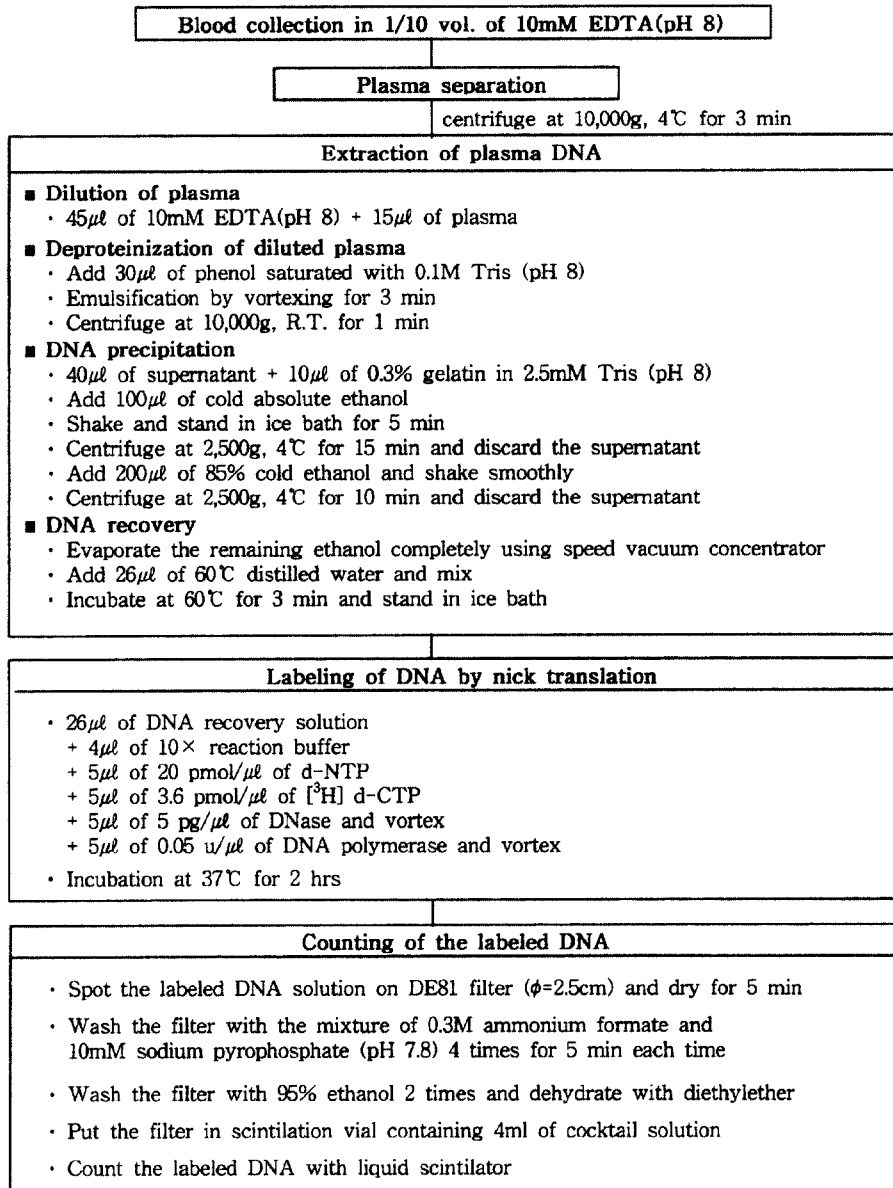
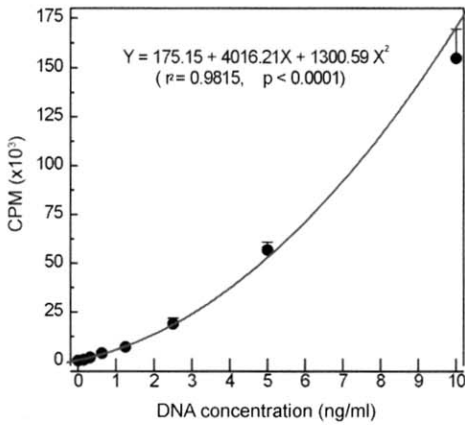


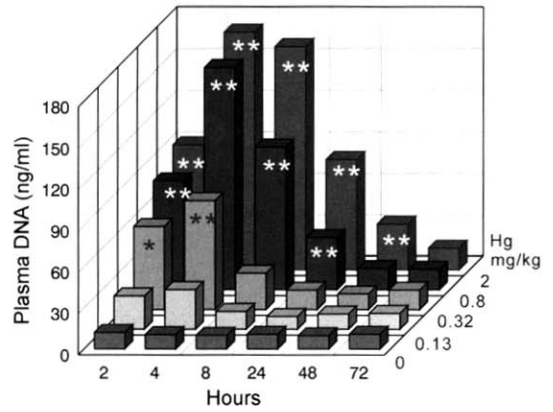
Fig. 1. Analysis of plasma DNA by nick translation method.

total protein, blood urea nitrogen(BUN), glucose 및 triglyceride (TG) 등의 혈액화학치를 측정한 결과, 수은 투여에 의하여 혈청 중의 CK, AST, ALT, LDH, BUN 및 glucose 함량은 증가하였으나 ALP, total protein 및 TG 함량은 감소하였다. 이러한 증감 변화는 대체적으로 용량의존적이었으나 경시별 변화 및 증감의 크기는 혈액화학치별로 차이가 있었다. 혈액화학치 변화 중 AST, LDH 및 BUN의 함량변화가 특히 현저하여 이들 화학치는 모두 2mg 투

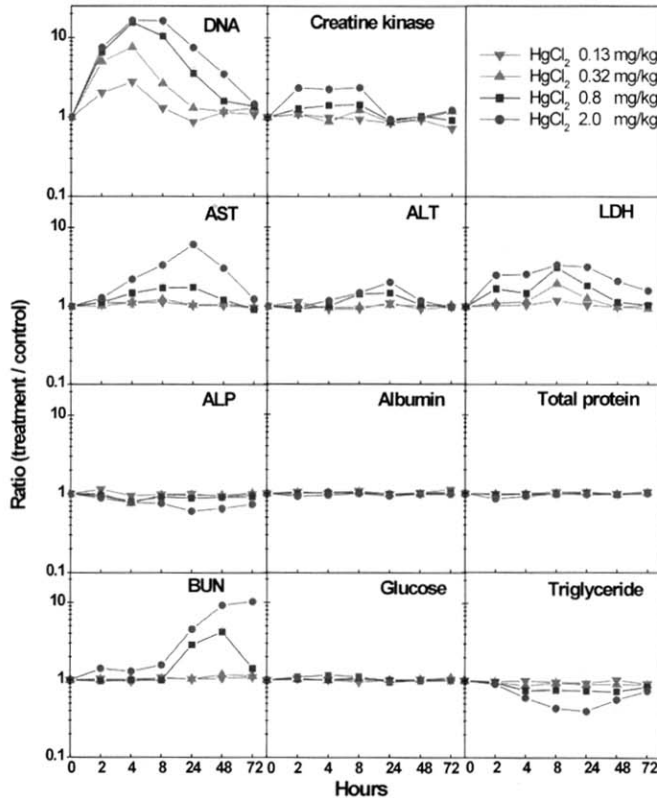
여군의 경우 투여 후 2시간째부터 대조군에 비하여 증가하기 시작하여 투여 후 72시간째까지 현저히 높았다( $p < 0.05, 0.01$ ). 최고용량(2 mg/kg) 투여군에서의 혈액화학치 별 최고(저) 수준(투여 후 시간)은 대조군에 비하여 CK 2.36배(8시간), AST 6.13배(24시간), ALT 2.00배(24시간), LDH 3.38배(8시간), BUN 10.32배(72시간), glucose 1.16배(4시간), ALP 0.61배(24시간), total protein 0.85배(2시간) 및 TG 0.40배(24시간)이었다(Table 1, 2, Fig. 4).



**Fig. 2.** Standard calibration curve for quantitation of plasma DNA. DNA( $\lambda$  phage) was labeled with [ $^3$ H]-deoxycytidine triphosphate by nick translation and counted in cpm with liquid scintillation counter. Nick translation was carried out for 2 hrs at 37°C in the presence of 0.06% gelatin. Each point represents the mean $\pm$ SD of 5 replica.



**Fig. 3.** Changes of plasma DNA levels in male SD rats by the administration of mercuric chloride (Hg). Plasma DNA levels were measured at each time point after the single intraperitoneal injection with each dose of Hg. The results are expressed as mean of 5 separate determinations. \*, \*\*; Significantly different from control (0.15 M NaCl) at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.



**Fig. 4.** Comparison of the change ratio of plasma DNA level and serum biochemical values after single intraperitoneal administration with each dose of mercuric chloride ( $HgCl_2$ ). AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase; BUN, blood urea nitrogen. Values are mean $\pm$ SE at each time point ( $n = 5$ ).

**Table 1.** Changes of serum biochemical values after the administration of mercuric chloride in male SD rats

Item (unit)	Dose (mg/kg)	Times after the administration (hours)					
		2	4	8	24	48	72
CK (U/l)	0	267 ± 12	288 ± 28	301 ± 3	260 ± 100	205 ± 22	187 ± 32
	0.13	294 ± 32	287 ± 20	282 ± 15	219 ± 27	191 ± 7	134 ± 7
	0.32	291 ± 26	255 ± 45	371 ± 13	221 ± 8	197 ± 33	223 ± 12
	0.8	343 ± 31	408 ± 91	432 ± 59*	232 ± 13	212 ± 34	171 ± 13
	2	622 ± 138**	650 ± 75**	709 ± 29**	246 ± 7	208 ± 35	228 ± 12
AST (U/l)	0	88.3 ± 7.0	86.6 ± 4.7	76.9 ± 2.4	75.8 ± 0.7	73.3 ± 4.3	75.6 ± 3.5
	0.13	99.8 ± 5.7	95.5 ± 4.4	87.4 ± 11.3	78.0 ± 3.0	75.1 ± 2.7	73.8 ± 3.7
	0.32	90.2 ± 5.0	96.9 ± 12.6	94.7 ± 2.2	79.9 ± 1.9	78.6 ± 3.1	74.7 ± 2.9
	0.8	99.6 ± 8.9	128.2 ± 16.0	131.5 ± 20.0*	132.5 ± 14.7*	89.2 ± 5.8	69.7 ± 1.9
	2	113.9 ± 6.0*	192.3 ± 25.8**	259.4 ± 19.9**	464.4 ± 46.1**	225.8 ± 13.5**	94.3 ± 5.4**
ALT (U/l)	0	39.9 ± 1.8	40.4 ± 2.0	38.3 ± 0.6	39.7 ± 3.3	38.4 ± 1.8	39.3 ± 1.0
	0.13	45.1 ± 1.4	37.1 ± 1.2	35.5 ± 1.4	43.4 ± 2.3	35.0 ± 1.6	38.4 ± 0.1
	0.32	40.3 ± 1.7	38.4 ± 0.5	37.6 ± 1.0	41.2 ± 3.4	38.6 ± 2.9	40.3 ± 0.9
	0.8	36.8 ± 2.7	40.5 ± 2.2	54.6 ± 1.8**	58.3 ± 7.0*	40.4 ± 4.6	38.3 ± 0.8
	2	38.7 ± 1.0	47.6 ± 4.2	56.3 ± 5.9**	79.3 ± 8.6**	45.1 ± 0.7	38.0 ± 2.7
LDH (U/l)	0	191 ± 20	197 ± 7	195 ± 9	197 ± 7	200 ± 11	194 ± 58
	0.13	197 ± 17	207 ± 25	233 ± 5	205 ± 49	198 ± 33	199 ± 22
	0.32	211 ± 71	228 ± 25	380 ± 62	251 ± 9	198 ± 46	183 ± 5
	0.8	321 ± 38	290 ± 35	608 ± 60**	362 ± 38**	229 ± 68	204 ± 36
	2	479 ± 145	507 ± 66**	660 ± 70**	626 ± 94**	421 ± 84*	308 ± 3*
ALP (U/l)	0	602 ± 44	558 ± 12	575 ± 41	589 ± 28	582 ± 15	566 ± 36
	0.13	694 ± 42	530 ± 10	569 ± 37	595 ± 45	544 ± 2	564 ± 36
	0.32	608 ± 53	427 ± 16**	558 ± 52	566 ± 107	562 ± 87	578 ± 99
	0.8	576 ± 78	448 ± 17**	526 ± 43	521 ± 19	529 ± 43	527 ± 70
	2	537 ± 37	432 ± 32**	438 ± 20*	357 ± 14**	383 ± 45*	418 ± 24

**고찰**

산업이나 환경으로부터 유래하는 화학물질에 의한 질병의 예방은 그 화학물질에 의한 독성효과가 아직 회복될 수 있는 단계 또는 적어도 대상기관의 기능을 해지기 전에 그 독성 효과를 검출할 수 있는 능력에 크게 의존한다 [6].

모든 임상 및 실험적 상황에서 혈장 DNA의 증가는 세포 사망현상과 관계가 있으며 혈장 DNA 수준은 세포병변 정도와 관계가 있다 [2]. 많은 물질들이 DNA에 손상을 주어 급성세포독성을 일으키며 [5] 세포독성 물질 투여 후 혈장 DNA와 투여량간에 상호관련성이 있

다고 알려져 있다. 따라서 혈장 DNA 정량은 생체내에서의 세포사망현상과 발생을 관찰하는데 새로운 방법으로 제시되고 있으며 이 방법의 민감도는 LD<sub>0</sub> 이하의 낮은 용량에 대하여도 검출할 수 있다 [2].

세포가 LDH와 같은 cytosolic enzymes을 보유할 능력이 없다는 것은 비가역적인 plasma membrane의 손상을 반영하고 일반적으로 세포사망의 지표로서 받아들여진다 [13]. 따라서 화학물질의 세포독성을 검색하기 위하여 각종 세포내 효소(ALT [15, 19], AST [15, 11], ALP [15, 10], CK [18], LDH [1, 7, 11, 14, 15, 19, 20 등]들의 누출의 민감성과 장기 특이성에 대해 연구되어왔다. 이 외에 세포내 주요 구성성분인 BUN [3, 16], glucose

Table 2.

Item (unit)	Dose (mg/kg)	Times after the administration (hours)					
		2	4	8	24	48	72
Albumin (g/dl)	0	3.7 ± 0.1	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.1	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1
	0.13	3.9 ± 0.0	4.0 ± 0.1	4.2 ± 0.0	3.9 ± 0.1	4.1 ± 0.1	4.5 ± 0.0**
	0.32	3.8 ± 0.1	4.1 ± 0.1	4.1 ± 0.1	3.9 ± 0.1	3.9 ± 0.1	4.1 ± 0.1
	0.8	3.7 ± 0.1	4.1 ± 0.1	4.0 ± 0.1	3.9 ± 0.0	4.0 ± 0.1	4.1 ± 0.1
	2	3.4 ± 0.0*	3.8 ± 0.0	3.9 ± 0.1	3.7 ± 0.0	3.9 ± 0.0	3.9 ± 0.1
Total protein (g/dl)	0	6.2 ± 0.2	6.3 ± 0.1	6.2 ± 0.1	6.2 ± 0.2	6.7 ± 0.2	6.6 ± 0.2
	0.13	6.1 ± 0.2	6.3 ± 0.1	6.5 ± 0.1	6.5 ± 0.1	6.7 ± 0.1	7.0 ± 0.0
	0.32	6.1 ± 0.2	6.2 ± 0.2	6.2 ± 0.2	6.3 ± 0.1	6.6 ± 0.1	6.8 ± 0.3
	0.8	6.0 ± 0.1	6.2 ± 0.2	6.1 ± 0.3	6.3 ± 0.0	6.5 ± 0.2	6.7 ± 0.1
	2	5.3 ± 0.1**	5.8 ± 0.1**	6.2 ± 0.3	6.0 ± 0.2	6.6 ± 0.1	6.6 ± 0.1
BUN (mg/dl)	0	14.5 ± 0.7	13.3 ± 0.8	10.9 ± 0.7	16.1 ± 0.8	15.6 ± 1.0	16.4 ± 0.1
	0.13	15.1 ± 0.4	12.7 ± 0.2	11.8 ± 0.5	16.5 ± 0.2	16.5 ± 0.7	17.9 ± 0.5
	0.32	14.7 ± 0.3	13.8 ± 0.9	11.4 ± 0.8	16.6 ± 1.2	18.4 ± 0.6	18.6 ± 0.5
	0.8	14.1 ± 0.5	13.3 ± 0.7	10.9 ± 0.8	46.1 ± 2.2**	65.6 ± 10.6**	23.2 ± 2.4
	2	20.4 ± 0.3**	17.2 ± 0.6**	17.1 ± 1.1**	73.0 ± 10.3**	144.3 ± 12.2**	169.2 ± 4.1**
Glucose (mg/dl)	0	146 ± 2	145 ± 4	147 ± 7	141 ± 3	149 ± 5	154 ± 1
	0.13	153 ± 4	146 ± 1	139 ± 3	141 ± 3	153 ± 3	157 ± 2
	0.32	150 ± 5	145 ± 0	150 ± 4	142 ± 2	152 ± 4	165 ± 2
	0.8	150 ± 4	146 ± 2	158 ± 4	140 ± 2	146 ± 4	152 ± 6
	2	161 ± 7*	168 ± 4**	163 ± 6	131 ± 1*	150 ± 3	152 ± 14
TG (mg/dl)	0	94 ± 13	108 ± 5	100 ± 4	92 ± 4	95 ± 32	88 ± 30
	0.13	92 ± 7	108 ± 7	96 ± 4	86 ± 13	98 ± 9	81 ± 3
	0.32	90 ± 11	93 ± 14	94 ± 22	82 ± 30	86 ± 16	78 ± 11
	0.8	89 ± 5	81 ± 2*	76 ± 6	68 ± 20	69 ± 26	74 ± 1
	2	85 ± 1	65 ± 3**	44 ± 6**	37 ± 4*	54 ± 15	65 ± 5

Rats were administered once intraperitoneally with each dose of mercuric chloride. Values are mean ± SE of 5 replica.

\* \*\*, Significantly different from control (0.15 M NaCl) at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively. CK, creatine kinase; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase; BUN, blood urea nitrogen; TG, triglyceride

[16], TG [12] 등의 혈액화합치를 측정하여 세포독성을 평가하여 왔다.

무기 및 유기 수은화합물들은 심각한 환경오염물질로서 모두 가축과 사람에서 미나마타 병 등 중독을 일으킬 수 있으며 또한 생체내에서 선택기관에 대해 독작용이 높다 [4]. 유기 및 원소 수은은 지용성으로 중추신경계에 분포하고 신경장애를 유발하며, 무기수은은 주로 신장에 상해를 준다. 또한 수은은 변이원성, 신장독성 및 면역독성 물질로 알려져 있다 [20]. 염화제2수은( $HgCl_2$ )

은 가장 잘 알려진 수은의 무기염으로서 pars recta kidney의 상피세포 괴사를 일으키고 [9], 세포의 분화회, 원형질막 및 세포내 소기관 파괴, 공포형성, 망상내피세포 및 세포막 파괴 등의 세포변화를 일으킨다 [17]. 수은은 세포내에서 DNA 손상을 일으키는 가장 강력한 물질로서 [5] 수은화합물은 DNA수복과정을 억제하여 DNA 항상성을 방해하고 이는 비가역적인 손상을 일으켜 세포사망을 일으킨다 [21]. 그리고 수은은 각종 배양세포에 독성을 나타내어 생존율 및 증식억제 [21], DNA 합성저하

[7], LDH 누출 증가 [20] 등을 일으킨다는 몇몇의 보고는 있으나 수은의 세포독성을 생체내에서 평가하기 위한 지표로서 수은이 세포에서의 DNA에 대한 영향, 효소활성도 및 혈액화학치 등에 미치는 영향에 관한 정보는 거의 없다.

본 연구에서는 랫드에 수은을 투여하여 경시별로 혈중의 DNA 함량과 혈액화학치를 조사하여 수은이 생체내에서 세포독성에 미치는 영향과 이들의 변화가 수은에의 노출지표로서 그리고 수은중독증에 대한 간이진단 지표로서의 활용성을 구명하고자 하였다.

랫드에 수은을 체중 kg 당 0, 0.13, 0.32, 0.8 및 2 mg 씩 복강내로 1회 투여한 후 경시별(2, 4, 8, 24, 48 및 72 시간)로 혈장 중 DNA 함량 및 혈청 중 creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), lactate dehydrogenase(LDH), alkaline phosphatase(ALP), albumin, total protein, blood urea nitrogen(BUN), glucose 및 triglyceride(TG) 등의 혈액화학치를 측정된 결과 혈장 중 DNA 함량은 투여 후 2시간째부터 모든 투여군에서 대조군에 비하여 용량의존적으로 증가하기 시작하여 투여 후 4시간째에 최고 수준(대조군의 2.77, 7.60, 15.46 및 16.51배)에 달한 후 48시간째까지 대조군에 비하여 높았는데 이 결과는 수은(HgCl<sub>2</sub>)을 마우스에 체중 kg당 0.2~12.8 mg을 투여하였을 때 혈장 중 DNA 함량은 투여 후 2시간째부터 증가하여 4시간째에 최고수준에 달한 후 24시간까지 지속되었으며 이는 혈장 DNA 함량과 독성물질의 투여량간에 상호관련성이 있었다는 Bret *et al.* [2]의 보고와 거의 일치한다. 그리고 혈청 중의 CK, AST, ALT, LDH, BUN 및 glucose 함량은 증가하였으나 ALP, total protein 및 TG 함량은 감소하였다. 이러한 증감 변화는 대체적으로 용량의존적이었으나 경시별 변화 및 증감의 크기는 혈액화학치별로 차이가 있었다. 혈액화학치 변화 중 AST, LDH 및 BUN의 함량변화가 특히 현저하여 이들 화학치는 모두 2 mg 투여군의 경우 투여 후 2시간째부터 대조군에 비하여 증가하기 시작하여 투여 후 72시간째까지 현저히 높았다( $p < 0.05, 0.01$ ). 이 결과는 수은이나 세포독성을 일으키는 여러 가지 화학물질들이 생체내에서 혈액화학치에 미치는 영향에 관한 보고가 거의 없어 직접적인 비교 고찰은 할 수 없으나 이들 화학물질들이 각종 배양세포에서 세포독성을 나타내며 CK [18], AST [11, 15, 19], ALT [15, 19], LDH [1, 7, 11, 14, 15, 19, 20], BUN [3, 16] 및 glucose [16] 함량을 증가시키고, ALP [15] 활성을 저하시켰다는 보고들에 비추어 볼 때 수은은 생체내에서 각종 장기에 세포독성을 일으키는데 그 양상은 세포내 DNA의 항상성 방해 및 손상, 단백질의 합성저하, 세포막을 통한 세포내 구성성분 및 효소의 누

출을 유발하여 세포사를 유발하는 것으로 사료된다. 아울러 본 연구를 통하여 여러 가지 세포독성 지표중 혈장 DNA는 수은에 의한 세포독성을 가장 조기에 그리고 민감하게 감지할 수 있는 지표임을 알 수 있었고 수은에 단회 노출시 72시간 정도 후면 회복되는 것으로 보아 생체의 DNA 항상성 유지기능은 매우 강력하게 이루어지고 있으며 이에 따라 혈장중 DNA는 세포독성에 대한 가역적 지표로 간주될 수 있음을 알 수 있었다. 아울러 혈청중 BUN은 24시간이후 민감하게 증가하여 2 mg/kg의 고용량의 수은에 노출될 경우에는 회복되지 않는 것으로 보아 BUN은 비가역적인 세포독성을 감지하기에 적합한 지표임을 알 수 있었다.

이상의 본 연구에서의 결과와 여러 가지 보고들을 종합하여 볼 때 수은(HgCl<sub>2</sub>)은 세포내에서 DNA의 항상성을 방해하여 세포독성 또는 세포사망을 일으키고 혈장중 DNA 함량 및 혈액화학치를 변화시키며 이러한 변화들은 생체내에서 수은에의 노출지표 및 수은중독 진단지표로서 활용성이 매우 높을 것으로 사료된다.

## 결 론

랫드에 수은을 체중 kg 당 0, 0.13, 0.32, 0.8 및 2 mg 씩 복강내로 1회 투여한 후 경시별(2, 4, 8, 24, 48 및 72 시간)로 혈장 중 DNA 함량 및 혈액화학치를 측정된 결과 혈장 중 DNA 함량은 투여 후 2시간째부터 모든 투여군에서 대조군에 비하여 용량의존적으로 증가하기 시작하여 투여 후 4시간째에 최고 수준(대조군의 2.77, 7.60, 15.46 및 16.51배)에 달한 후 48시간째까지 대조군에 비하여 높았으며, 혈청 중의 creatine kinase(CK), aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), lactate dehydrogenase(LDH), blood urea nitrogen(BUN) 및 glucose 함량은 증가하였으나 alkaline phosphatase(ALP), total protein 및 triglyceride(TG) 함량은 감소하였다. 이러한 증감 변화는 대체적으로 용량의존적이었으나 경시별 변화 및 증감의 크기는 혈액화학치별로 차이가 있었다. 혈액화학치 변화 중 AST, LDH 및 BUN의 함량변화가 특히 현저하여 이들 화학치는 모두 2 mg 투여군의 경우 투여 후 2시간째부터 대조군에 비하여 증가하기 시작하여 투여 후 72시간째까지 현저히 높았다. 이러한 변화들은 생체내에서 수은에의 노출지표 및 수은중독 진단지표로서 활용성이 매우 높을 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Adhikari, N., Sinha, N. and Saxena, D. K. Effect of lead on Sertoli-germ cell coculture of rat. Toxicology

- Letters. 2000, **116**, 45-49.
2. **Bret, L., Lulé, J., Alary, C. Appolinaire-Pilipenko, S., Pourrat, J. P. and Fournie, G. J.** Quantitation of blood plasma DNA as an index of *in vivo* cytotoxicity. *Toxicology*. 1990, **61**, 283-292.
  3. **Brown, A. P., Morrissey, R. L., Faircloth, G. T. and Levine, B. S.** Preclinical toxicity studies of kahalalide F, a new anticancer agent: single and multiple dosing regimens in the rat. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2002, **50**, 333-340.
  4. **Cantoni, O. and Costa, M.** Correlation DNA strand brakes and their repair with cell survival following acute exposure to mercury(II) and X-rays. *Molecular pharmacology*. 1983, **24**, 84-89.
  5. **Cantoni, O., Christie, N. T., Swann, A. Drath, D. B. and Costa, M.** Mechanism of HgCl<sub>2</sub> cytotoxicity in mammalian cells. *Molecular Pharmacology*. 1984, **26**, 360-368.
  6. **Cárdenas, A., Roels, H., Bernard, A. M. Barbon, R., Buchet, J. P., Rosello, J., Ramis, I., Mutti, A. and Franchini, I.** Markers of early renal changes induced by industrial pollutants. I Application to workers exposed to mercury vapour. *British Journal of Industrial Medicine*. 1993, **50**, 17-27.
  7. **Fischer, A. B. and Skreb, Y.** Cytotoxicity of manganese for mammalian cells *in vitro*-comparisons with lead, mercury and cadmium. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg[B]*. 1980, **171**, 525-537.
  8. **Fournie, G. J., Gayral-Taminh, M., Bouché, J. P.** Recovery of nanogram quantities of DNA from plasma and quantitative measurement using labeling by nick translation. *Analytical Biochemistry*. 1986, **158**, 250-256.
  9. **Gritzka, T. L. and Trump, B. F.** Renal tubular lesions caused by mercuric chloride. *Am. J. Pathol*. 1968, **52**, 1255-1277.
  10. **Kasatori, N., Urayama, T., Mori, T. and Ishikawa, F.** Cytotoxicity test based on luminescent assay of alkaline phosphatase released from target cells. *Rhinsho Byori*. 1994, **42**, 1050-1054.
  11. **McQueen, C. A. and Williams, G. M.** Cytotoxicity of genobiotics in adult rat hepatocytes in primary culture. *Fundam. Appl. Toxicol*. 1982, **2**, 139-144.
  12. **Natori, Y., Igawa, Y. and Nakao, N.** Cytotoxicity of sera from rats with puromycin aminonucleoside nephrosis. *Nephron*. 1996, **73**, 258-263.
  13. **Nieminen, A. L., Gores, G. J., Bond, J. M. Imberti, R., Herman, B. and Lemasters, J. J.** A novel cytotoxicity screening assay using a multiwell fluorescence scanner. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1992, **115**, 147-155.
  14. **Obatomi, D. K. and Bach, P. H.** Atractyloside nephrotoxicity: *in vivo* studies with suspensions of rat renal fragments and precision-cut cortical slices, *In Vitro Mol Toxicol*. 2000, **13**, 25-36.
  15. **Pearson, A. W.** Biochemical changes produced by Fusarium T-2 toxin in the chicken. *Res. Vet. Sci*. 1978, **24**, 92-97.
  16. **Peters, M. M., Jones, T. W., Monks, T. J. and Lau, S. S.** Cytotoxicity and cell-proliferation induced by the nephrocarcinogen hydroquinone and its nephrotoxic metabolite 2,3,5-(tris-glutathion-S-yl)hydroquinone. *Carcinogenesis*. 1997, **18**, 2393-2401.
  17. **Roles, H., Gennart, J. P., Lauwerys, R. Buchet, J. P., Malchaire, J. and Bernard, A.** Surveillance of workers exposed to mercury vapor: validation of a previously proposed biological threshold limit value for mercury concentration in urine. *Am. J. Ind. Med*. 1985, **7**, 45-71.
  18. **Svensen, O., Hojelse, F. and Bagdon, R. E.** Tests for local toxicity of intramuscular drug preparations: comparison of *in vivo* and *in vitro* methods. *Acta Pharmacol. Toxicol*. 1985, **56**, 183-190.
  19. **Takeuchi, T., Sugimoto, T., Nishida, N. and Kobayashi, Y.** Evaluation of cytotoxicity of sodium valproate on primary cultured rat hepatocytes. *Neuropediatrics*. 1988, **19**, 158-161.
  20. **Traoré, A., Bonini, M., Dano, S. D. and Creppy, E. E.** Synergistic effects of some metals contaminating mussels on the cytotoxicity of the marine toxin okadaic acid. *Arch. Toxicol*. 1999, **73**, 289-295.
  21. **Williams, M. V., Winters, T. and Waddell, K. S.** *In vivo* effects of mercury(II) on deoxyuridine triphosphate nucleotidohydrolase, DNA polymerase( $\alpha$ ,  $\beta$ ) and uracil-DNA glycosylase activities in cultured human cells: relationship to DNA damage, DNA repair and cytotoxicity. *Molecular pharmacology*. 1987, **31**, 200-207.