한국전자현미경학회지 제14권 제 2 호 1984
Korean J. Electron Microscopy, Vol. 14, No. 2, 1984

Diazinon이 Mouse의 간세포내 미세구조에 미치는 영향

김영호 · 정호삼 · 이규식

Effect of Diazinon on the Cytoplasmic Organelles of Hepatocytes in Albino Mice

Kim, Y.H., H.S. Chung and K.S. Lee

(Received Oct. 17, 1984)

Abstract

The organic phosphorus compounds have been widely used as an insecticide, since toxicity of these compounds is especially drastic to the insects than to men and other mammals. The organic phosphates are rapidly hydrolized and hence have little cumulative and ecologic effects. However, due to their acute toxic effects organophosphate have recorded rather high fatalities in men and domestic animals.

The organic phosphorus compounds are powerful inhibitors to the carboxylic esterase enzymes such as acetylcholinesterase and pseudocholinesterase. As a result of firm binding characteristics of phosphate radicals to the active sites of enzyme, the activities of these enzymes are inhibited by the organophosphates.

The organophosphates such as diazinon is easily observed from skin, gastrointestinal tract, conjunctivas and respiratory tract, and it is converted to more toxic form during metabolism in the liver.

The present study was carried out in order to investigate the hepatotoxicity of diazinon by observing the changes in the ultrastructure of cytoplasmic organelles of hepatic cells in albino mice.

The animals were killed at 6, 12 and 24 hours after administration of 25mg/kg diazinon. The piece of hepatic tissue obtained from each animal was ultrathinly sectioned.

The specimens stained by uranyl acetate and lead citrate double contrast methods were observed with JEM model 100B electron microscope.

The results obtained were as follows:

한양대학교 의과대학 해부학교실
Department of Anatomy, Medical School, Hanyang University

1) A prominent dilatation and sacculation of the cisternae of rough endoplasmic reticulum associated with detachment of membrane bound-ribosomes, and disaggregation of the free ribosomes were recognized.

2) The hypertrophy of the smooth endoplasmic reticulum associated with depletion of the glycogen particles was observed.

3) The atrophy of cisternae of Golgi complex was observed.

4) A large number of secondary lysosomes (autophagic vacuoles and residual bodies) were formed.

Consequently it is suggested that diazinon would induce disorganization of the cytoplasmic organelles of hepatocytes in albino mice.

I. 서 론

유기인화합물은 농작물의 병충해를 일으키는 곤충에 대한 살충제로 널리 사용되고 있으며 생체내에서 용이하게 가수분해되고 축적작용도 적으므로 유기인 농약으로 호평을 받고 있다. 그러나 근래에 이르러 농촌에서 농작물에 대한 병충해 방지를 위한 유기인 살충제의 사용빈도가 급증함에 따라 그 취급과 부주의로 인하여 인체에 대한 중독이 빈번하게 발생되어 사회문제로 대두되고 있다.

Hamblin과 Marchand(1951), Hayes(1965), Taylor들(1965)과 Crowley와 Johns(1966)는 유기화합물이 체내에서 흡수되어 중독을 일으키면 혈액과 조직의 cholinesterase의 활성이 억제되는 반면 acetylcholine의 축적으로 부교감신경계의 과잉자극과 같은 증상이 나타나 호흡근의 약화나 호흡중추의 마비로 사망한다고 보고하였다.

Petry(1951)는 dyflos(diisopropyl fluorophosphate, DFP), isopestox, EPN(ethoxy-p-nitrophenoxyphenyl phosphine sulfide) 및 TOCP(triorthocresyl phosphate)와 같은 유기인 화합물을 병아리에 투여한 바 근마비를 일으킨다고 하였고 Namba들(1970, 1971)에 의하면 유기인 화합물에 노출된 후 주로 12시간 전후에서 중독증상이 나타나며 호흡근의 약화와 호흡중추의 마비로 인하여 사망하게 된다고 보고하였다.

Davison(1953)과 Fenwick들(1957)은 유기인화합물인 diethyl p-nitrophenyl phosphate(E 600)과 bis-dimethylamino fluorophosphine oxide (dimefox)를 백서에 투여하여 시험관 및 생체내 실험에서 cholinesterase의 활성은 모두 1일 정도에서 다시 재생된다고 보고하였으며 그외의 많은 학자들에 의하여 cholinestrase와 acetylcholinesterase에 대하여 연구 보고되었다(March들, 1956; O'Brien, 1957; Murphy와 Du Bois, 1957; Gaines, 1960).

한편 Namba들(1956)과 Goldman과 Teitel (1958)은 유기인화합물로 인한 사망원인은 주로 호흡마비이고 심장과 순환기계는 사망직전까지도 비교적 장애가 적으며 심한 저혈압증은 호흡근의 약화와 기도폐쇄 때문에 일어나는 저산소증이 나타나기 직전까지는 일어나지 않는다고 언급했으며 유기인제화합물에 노출된 동물에서 심전도의 변화는 관찰할 수 없으므로 순환기계에는 영향이 없음을 뒷받침하고 있다. 그러나 Gardocki와 Hazleton (1951)은 유기인화합물의 대사과정을 추구하면서 Henle's계제부의 하행각 상피세포내에서 다수의 지방구를 관찰하였다고 보고하였다.

또한 Du Bois들(1949)은 유기인제화합물에 중독된 동물의 부검에서 장관과 방광의 심한 수축, 폐의 충혈 및 기관이나 세기관지에서 전형적으로 볼 수 있는 소량의 기포성 액체 이외에 다른 특이점은 발견하지 못하였다고 하였고, Grob들 (1949)도 부검에서 맥관계통에 산재성 울혈과 폐장, 간장, 비장, 신장 및 뇌를 포함한 모든 기관의 모세혈관 확장, 부종 및 충혈을 관찰하였으며 뇌는 부종을 일으키고 뇌실과 지주막하강의 뇌척수액은 증가되고 기관과 세기관지에 있는 점액의 양은 증가되었다고 보고하였다. 그밖에 Barnes와 Denz (1953), Bidstrup들(1953)과 Durham들(1956)은

mipafox와 triorthocresyl phosphate와 같은 유기화합물은 근육이 퇴화되고 신경에서 수초탈락현상(demyelination)을 일으킬 수 있다고 실험적으로 연구 보고하였다.

Koelle들(1946)은 유기인화합물인 diisopropyl fluorophosphate를 개에게 반복 투여하면 혈장내 cholinestrase의 재생 뿐만 아니라 간실질세포의 위축, 폐포에서 다형핵백혈구의 출현 및 체중감소가 일어났다고 하였고, Ogi(1965)는 유기인화합물을 음독한 임부에서 태아는 사산되었으며 경하게 중독된 예에서는 태아에서 사지의 기형도 일으켰다고 하였고, Tanimura들(1967)은 임신한 백서에 methyl parathion(O, O-dimethyl O-p-nitrophenyl phosphorothioate)을 투여하면 태자에서 기형발생, 성장억압 및 골화의 지연이 일어나므로 유기인살충제가 모체 뿐만 아니라 태자에 미치는 영향도 크다고 보고하였다.

유기인화합물을 실험동물에 투여하면 신경독성으로 작용할 뿐 아니라 간장에도 독성으로 작용한다고 보고되어있다. 윤들(1982), 박과 이 (1982), 변들 (1984) 및 양들 (1983)은 EPN 혹은 parathion을 투여한 실험동물에서 간장의 손상이 나타난다고 보고 하였으며 특히 엄들 (1983)과 이들 (1983)은 EPN 혹은 parathion을 실험동물에 투여하여 간세포에서 조면내형질세망의 소조가 확장, 낭상화 혹은 단절되고 막부착 ribosome이 탈락되며 유리 *ribosome*도 감소되었고 활면내형질세망은 증식되며 당원입자는 감소되었고 용해소체가 다수 출현되며 자식공포와 다소포체가 형성되었고 지방소적도 다수 형성되었다고 보고하였다.

이상과 같이 여러학자들의 연구보고를 종합한 바 diazinon을 실험동물에 투여하면 실험동물의 간장에서 간실질세포의 조면내형질세망에 손상을 야기시켜 막부착 ribosome의 탈락과 이차용해소체의 형성 그리고 지방소적의 형성도 증가되리라고 사료되어 mouse에 diazinon을 투여하여 간세포내 미세구조에 미치는 영향을 전자현미경으로 추구하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

체중 20gm 내외의 건강한 ICR계 웅성 mouse를 실험동물로 사용하였으며 사료는 실험동물용 pellet 사료(제일사료주식회사)로 사육하였고 실험기간 중에 사료와 음료수는 자유롭게 먹게 하였다.

Diazinon(서울농약)은 mouse의 체중 kg당 25mg되게 olive유(Shinyo Pure Chemical Co.)에 희석하여 0.2ml를 tuberculin 주사기로 복강내에 주사하였고 대조군의 mouse에는 동량의 olive유만을 복강내 주사하였다. 실험동물은 diazinon 혹은 olive유를 투여하고 시간경과에 따라 6시간, 12시간, 24시간 및 36시간 경과 후에 경동맥 사혈로 희생시키고 개복한 다음 간장의 좌측전엽을 적출하였다.

적출한 간조직은 신속하게 1mm³의 크기로 세절하여 2% glutaraldehyde-2.5% paraformaldehyde phosphate 완충액(pH 7.2)에서 4°C로 2 내지 4시간 고정한 다음 다시 이를 Milloring액에 2시간 담그고, alcohol-acetone 농도차에 따라 탈수한 후 Epon 812(Luft, 1961)에 포매한 후에 LKSⅢ ultramicrotome을 사용하여 60~80 nm 두께의 초박절편을 만들어 uranyl acetate(Watson, 1958)와 lead citrate(Venable과 Coggeshall, 1965)로 이중 염색하여 JEM 100B 전자현미경으로 관찰하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 대조군

대조군의 mouse 간세포에서는 한계막으로 싸인 소조를 이루고 그 막표면에는 직경이 약 20 nm의 고밀도 입자인 ribosome이 다수 밀착되어 있는 조면내형질세망과 이것이 분포된 세포기질에는 유리 ribosome이 산재되었고, 직경이 약 50 nm 크기의 소포상 혹은 관상으로 한계막에 싸인 활면내형질세망과 그 주변의 일부 국한된 세포기질에는 전자밀도가 높은 약 30 nm 크기의 입자가 수개씩 뭉친 약 90 nm 크기의 α형 당원입자(α-type glycogen particle)가 비교적 다수 산재되어 있는 것이 관찰되었다. 이중의 단위막으로 싸이고 그 내부에는 사립체릉(mitochondrial crista)이 뚜렷한 원형 혹은 타원형의 0.5~1.0 μm의 사립체(mitochondria)

가 다수 산재되었고 일부의 사립체는 부분적으로 조면내형질세망으로 싸여져 있었으며, 또한 단일 한계막으로 싸인 전자밀도가 높은 물질이 충만되어 있는 구형의 0.25~0.5 μm의 일차 용해소체 (primary lysosome)도 관찰되었다.

이중의 한계막으로 싸여진 핵주위소조(perinuclear cisterna)와 핵공(nuclear pore)이 관찰되었고 이질염색질(heterochromatin)과 진정염색질(euchromatin)로 구성된 핵질(karyoplasm)에는 핵소체(nucleolus)도 관찰되었다.

간세포의 자유면에는 다수의 미세융모(microvilli)가 강내로 돌출되어있는 담소관(bile canaliculus)와 자유면에 가까운 인접세포와의 세포접촉면에서는 세포결합체(junctional complex)도 관찰되었다.

2. Diazinon 투여군

Diazinon을 투여한 후 6시간이 경과한 mouse의 간세포에서는 활면내형질세망이 비대해지고 그 주변의 기질에서는 당원입자가 약간 감소된 변화를 일으킨 소견 외에 조면내형질세망과 사립체는 변화된 소견을 관찰할 수 없었으며 핵막, 핵질 및 핵소체의 변화도 관찰할 수 없었다(Fig. 1, 2). Diazinon을 투여한 후 12시간이 경과한 mouse의 간세포에서는 핵막, 핵질 및 핵소체는 변화된 소견을 관찰할 수 없었으며 조면내형질세망의 소조는 심하게 확장되거나 낭상화되었고 그 일부는 단절(fragmentation)을 일으켜 그 소조의 막표면에 부착한 막부착 ribosome이 탈락되었으며 그 주변의 세포형질기질에 산재하는 유리 ribosome의 수도 현저히 감소 혹은 소실 되었고(Fig. 3, 4), 활면내형질세망의 소조는 심하게 확장 비대되고 그 주변의 세포형질기질에 산재하는 당원입자도 현저히 감소 혹은 소실되었다(Fig. 3, 4). Golgi복합체의 소조는 약간 위축되고 그 소조의 양단에 형성되는 약 0.1 μm 크기의 소포가 수개 관찰되었고(Fig. 3), 더우기 약 0.2 μm 크기의 전자밀도가 높은 물질을 함유하고 있는 일차용해소체(Ly)와 대소부동한 약 0.5 μm 크기의 한계막으로 싸이고 세포형질의 소기관을 함유하고 있는 자식공포도 나타났으며(Fig. 3, 4), 0.5~1.0 μm 크기의 이중의 한계막으로 싸인 사립체에서는 사립체통이 명확히 관찰되었다(Fig. 3, 4).

Diazinon을 투여한 후 24시간이 경과한 mouse의 간세포에서도 핵막, 핵질 및 핵소체의 변화는 관찰할 수 없었으며(Fig. 5, 6), 조면내형질세망의 소조는 심하게 확장되어 낭상화되거나 그 소조 외막의 연결성이 단절되어 그 소조의 막표면에 부착된 막부착 ribosome이 탈락되었고 그 주변의 세포형질에 산재하는 유리 ribosome도 현저히 감소 혹은 소실되었다(Fig. 5). 또한 여러개의 0.25~0.5 μm 크기의 전자밀도가 높은 물질을 함유하고 한계막으로 싸인 잔여소체도 관찰되었다(Fig. 6).

Ⅳ. 고 찰

Diazinon은 2-isopropyl-4-methyl-piridyl과 O, O-diethyl thionophosphoryl chloride의 치환반응에 의하여 합성된 유기인화합물이며 alcohol, xylene, acetone 및 석유계 용매에 잘 용해되고 물에는 서서히 용해되며 농작물의 곤충 피해를 예방하기 위한 살충제로 널리 사용되고 있다.

Namba들(1971)도 여러가지의 유기인화합물은 acetylcholinesterase (true cholinesterase)와 pseudocholinesterase의 carboxylic esterase enzyme의 활성을 강력하게 억제하며, 인체에서는 신경조직과 적혈구내에 있는 대부분의 cholinestrase는 acetylcholinestrase이나, 간장과 혈장 (혹은 혈청) 내에 있는 cholinesterase는 주로 pseudocholinesterase이고 유기인화합물에 의하여 이들 cholinesterase 활성을 억제하는 것은 유기인화합물의 인산기(phosphate radical)가 이 효소의 active site에 견고하게 결합되어 인산화효소(phosphorylated enzyme)를 형성하기 때문이다. 유기인화합물의 약물학적 및 독물학 효과는 첫째 신경계에서 acetylcholinestrase의 활성을 억제하므로 synapse에서 acetylcholine이 축적되는 결과로써 필요이상으로 축적된 acetylcholine이 초기에는 cholinergic synapse에서 전달(transmission)을 촉진하나 그 후에는 마비를 일으키는 반면에 adrenergic synapse에는 전혀 영향을 주지 않는다. Cholinergic synapse는 중추신경계, 운동신경(somatic nerve),

자율신경계의 ganglionic synapse, 부교감신경계의 종말부 및 한선(sweat gland)과 같은 일부 교감신경 종말부에서 볼 수 있다고 하였으며 일반적으로 유기인화합물은 cholinesterase의 활성을 억제하는 작용기전을 갖고 있어 임상적으로 유연, 호흡곤란, 복통, 운동실조, 설사 및 경련과 같은 cholinergic sign을 일으킨다고 알려져 있다.

Diazinon의 중독은 피부, 호흡기 및 위장관을 통하여 체내에 흡수되어 일어나며 포유류에 대한 독성은 비교적 약하다고 하나 많은 양이 흡수될 때에는 중독증상이 일어난다. Hamblin과 Marchand (1951), Hayes(1966)와 Crowley와 Johns(1966)에 의하면 이에 대한 중독이 일어나면 생체내 여러 부위에 cholinesterase의 활성 억제로 인하여 acetylcholine이 축적되어 호흡곤란, 기도분비과다증, 폐수종, 오심, 구토, 복통, 하리, 유연, 서맥, 혈압조하증, 축동 및 빈뇨와 같은 muscarine 양 증상이 나타나며 이는 평활근, 심근 및 분비선에 분포하는 postganglionic cholinergic nerve ending에 acetylcholine의 축적으로 기인되며 근강직, 호흡근력 감퇴 및 근쇠약과 같은 nicotine 양 증상은 자율신경계의 신경전과 수의근의 종말부에 acetylcholine이 축적되어 일어나고 중추신경계의 증상은 뇌와 척추의 여러부위에 acetylcholine이 축적되기 때문에 일어난다고 하였다.

Namba들(1956)과 Goldman과 Teitel(1958)은 유기인화합물로 인한 사인은 주로 호흡마비로 일어나며 심장과 순환기계는 사망직전까지도 비교적 장애가 적으며 호흡근의 약화와 기도폐쇄로 일어나는 저산소증이 나타나기까지는 심한 저혈압증이 일어나지 않는다고 하였으며 유기인화합물에 노출된 실험동물에서 심전도의 변화는 관찰할 수 없었으며 이는 순환기계에 영향이 없음을 뒷받침하고 있다.

한편 Koelle들(1946)은 유기인화합물인 diisopropyl fluorophosphate(DFP)를 개에 반복 투여하여 간실질세포의 위축과 폐포에 다형핵 백혈구의 출현에 대하여 보고 하였으며 윤들(1981)은 ethoxy-p-nitrophenoxyphenyl phosphine sulfide (EPN)를 실험동물에 투여하면 간장에서 간소엽 중심대와 중간대의 간실질세포에 종창을 일으키고 공포가 형성될 뿐만 아니라 지방침착도 야기된다고 보고 하였다. 특히 김(1981)은 Diazinon을 실험동물에 투여하여 12시간 경과후에는 간장에서 간소엽 중심대와 중간대의 간실질세포에 소포가 나타났고 pyronin 호성과립은 감소되었으며 경도의 지방침착이 관찰되었으며 24시간 경과후에는 간소엽 중심대의 간실질세포에 대다수의 공포를 나타냈고 간소엽전역의 간실질세포에서 pyronin 호성과립이 집괴를 형성하고 간소엽 중심대와 중간대의 간실질세포에서는 pyronin 호성과립이 소실되었으나 36시간 경과후에는 회복되는 소견을 관찰하였다고 연구 보고하였다.

한편 간독작용을 일으키는 화합물을 실험동물에 투여하면 간실질세포내 소기관에 손상을 일으킨다는 사실도 잘 알려져 있다. 이들(1983)과 엄(1984)은 유기화합물인 parathion과 ethoxy-p-nitrophenoxyphenyl phosphine sulfide를 실험동물에 각각 투여한 바 1) 조면내형질세망의 소조가 확장 및 낭상화 되었고 그 일부는 단절되었으며 이와같이 손상을 일으킨 소조의 막부착 ribosome이 탈락되고 유리 ribosome도 감소 혹은 소실되었으며 2) 활면내형질세망은 증식되고 그 주변의 기질에 산재하고 있는 당원입자는 감소 혹은 소실되었고 3) Golgi 복합체의 소조가 위축되었으며, 4) 일차용해소체가 다수 출현하였고 자식공포와 다소포체도 다수 형성되었으며, 5) 대소부동한 지방소적도 다수 형성되었다고 보고하였다.

실험동물에서 독성물질로 인하여 간손상을 받았을 때 간세포내 소기관 중에서도 조면내형질세망의 손상(disorganization)이 일어남은 공통된 반응으로 알려져 있는 사실이다. Smuckler들(1962), Reynolds(193), Wood(1965), Trump들(1965)과 Krishman과 Stenger(1966)는 조면내형질세망의 손상으로서는 조면내형질세망의 소조가 확장되고 일방적으로 확장된 소조의 막표면의 막부착 ribosome이 탈락되어 확장된 소조의 막표면에 있는 세포기질에 유리 ribosome으로 나타난다고 주장하였으며 이와같은 주장은 Reynolds와 Yee(1967) 및 Slater와 Sawger(1970)가 사염화탄소를 백서에

투여한 생체내 실험에서 간조직의 microsomal fraction으로 RNA의 손실을 생화학적으로 증명하였다. 특히 Bassi(1960), Reynolds(1963), Ashworth들 (1963)과 Krishman과 Stenger(1966)는 사염화탄소를 투여한 실험동물의 간세포에서 조면내형질세망의 현저한 변화로서는 조면내형질세망의 파괴(disruption)와 단절(fragmentation)과 같은 막의 분해(dissolution)가 일어난다고 하였다.

간세포내 조면내형질세망은 amino산의 결합과 단백질의 합성이 이루어지는 소기관으로 알려져 있다. Actinomycin D(Smuckler와 Benditt, 1965)와 puromycin(Conney와 Gilman, 1963)은 간세포의 조면내형질세망의 손상을 일으키는 원인이 된다고 하였고 특히 Smuckler들(1962)과 Smuckler와 Benditt(1963)는 사염화탄소를 실험동물에 투여하여 3시간 경과후에 간세포에서 조면내형질세망의 소조가 확장될 때에는 단백질의 형성이 억제되었고 더우기 실험동물의 간장에서 microsomal fraction을 한 바 amino 산의 결합이 감소되는 것을 관찰하여 사염화탄소로 인한 간독작용이 일어날 때의 단백질 합성의 부전은 간세포내 ribosome의 소실과 관계가 있다고 조면내형질세망의 변화와 단백질 합성의 장애와의 상호관계에 대하여 보고하였다. 본 실험에서도 diazinon을 투여한 후 12시간과 24시간 경과군의 mouse의 간세포에서 조면내형질세망의 소조가 확장 혹은 낭상화되었고 이와 같이 확장 혹은 낭상화된 막표면에 부착되어 있는 ribosome은 탈락되었다.

또한 여러가지 약제와 기타 독성물질을 실험동물에 투여한 바 간세포내 활면내형질세망이 이들 물질의 대사를 촉진하게 되므로 약물대사와 활면내형질세망과는 상호 밀접한 관계가 있다고 알려져 있다. 활면내형질세망은 약물 혹은 독성물질의 대사를 촉진하는 기능을 약물대사 효소계(Remmer와 Merker, 1963; Fouts와 Rogers, 1965)라고 하며 Conney들(1960)과 Conney (1967, 1969)는 생체내 실험에서 여러가지 약제와 기타 독성물질을 실험동물에 반복 투여하면 간세포의 활면내형질세망에 의하여 대사가 촉진되는 원인이 된다고 하였고 Fouts와 Rogers(1965)와 Burger와 Herdson(1966)은 phenobarbital을 투여한 백서의 간장에서 간세포내 활면내형질세망이 증식된다고 하였으며, Rubin들 (1968)은 ethanol을 투여하면 간세포내 활면내형질세망의 증식과 약물대사 효소활성이 촉진된다고 하였고, Krishman과 Stenger(1966)는 독성물질을 실험동물에 투여하면 간세포의 활면내형질세망의 소조가 확장된다고 보고하였다.

한편 당원대사와 활면내형질세망의 변화와의 관계에 관한 연구도 보고되어 있다. Rosen(1964)과 Rosen들(1966)은 간세포내 활면내형질세망의 증식이 일어나고 이와 같이 증식된 활면내형질세망에 싸인 세포기질에서는 당원입자의 감소를 수반하므로 활면내형질세망이 당원대사에도 관여한다고 보고하였다. Stenger(1970)는 간세포에서 당원입자의 감소는 활면내형질세망의 증식을 수반한다고 하였고, Blaia들 (1968)은 shock의 초기에 간세포에는 당원입자의 감소와 활면내형질세망의 증식이 현저하게 나타나는 것을 관찰하고 활면내형질세망의 막은 당원대사와 밀접한 관계가 있다고 인정하였으며, Jones와 Fawcett(1966)는 간세포의 활면내형질세망은 glycogenolysis에 관계한다고 하였고, Babcock과 Cardell(1974, 1975)도 절식 및 급식을 통하여 실험동물의 간세포에서 변동되는 당원의 침착과 소실되는 과정을 전자현미경으로 관찰하여 활면내형질세망과 당원입자와는 상호 밀접한 관계가 있다고 보고 하였다.

본 실험에서도 diazinon투여 6시간 경과후에는 간세포내 활면내형질세망의 소조가 약간 비대되고 당원입자는 대조군에 비하여 약간 감소된 소견을 관찰하였으나 diazinon투여 12시간 및 24시간 경과후에는 간세포내 활면내형질세망은 더욱 증식되었고 당원입자는 현저하게 감소되었다.

Golgi 복합체는 핵이 인접된 부위에 한계막으로 싸인 소조가 여러층으로 평행 배열되고 외면(forming face 혹은 immature face)은 약간 돌출되어 있고 내면(mature face)은 약간 함몰되어 있으며 소포와 공포를 포함한 분비에 관여하는 소기관으로서 조면내형질세망에서 생성된 단백질이 풍부한 물질을 Golgi 복합체로 운반하여 저장하고 당단백질(glycoprotein)이나 점액단백질(muco-

protein)을 분비과립으로 분비하는 기능을 가진 것으로 알려져 있다. 만곡을 이루고 돌출된 외면의 소조 양단은 약간 확장되어 있고 조면내형질세망에서 생성된 단백질이 풍부한 물질을 조면내형질세망의 소조에서 분리된 소포에서 볼 수 있어 forming face(immature face)라고 하고, 함몰된 내면의 양단에 Golgi 복합체의 소조에서 농축되어 저장된 물질이 대소부동한 소포 혹은 공포를 형성하여 분비과립으로 방출되므로 mature face라고 한다.

본 실험에서는 diazinon투여 12시간 및 24시간 경과 후에 Golgi 복합체의 소조가 약간 위축되었으나 소포의 형성은 수개가 관찰되었다.

사립체는 다소 전자밀도가 치밀한 기질을 갖고 있는 이중막으로 싸인 소기관으로서 내막은 사립체릉(mitochondrial crest)을 형성하는 기질 속으로 함입되어 있고 기질은 ferritin을 포함하는 과립으로 차있다. Trump들 (1965)은 사립체가 tricarboxylic acid cycle에 관여하는 효소를 갖고 있으며 당, 지방산 및 amino산 분해에 관여하고 adenosine diphosphate(ADP)와 adenosine triphosphate(ATP)를 함유하고 있어 세포의 energy 방출기전에 관여하며 소량의 DNA도 함유하고 있다고 보고하였다. 본 실험에서는 diazinon을 투여한 바 간세포내 사립체의 변화된 소견은 관찰할 수 없었으며 diazinon에 의한 사립체의 변화는 없는 것으로 사료된다.

용해소체는 세포형질내에서 용해효소를 함유하고 있는 한계막으로 싸인 소기관이며 de Duve와 Wattiaux(1966)는 용해소체를 다음과 같이 두 종류로 분류하였다. 첫째는 효소활성에 관여하지 않은 일차용해소체와 둘째는 효소화활동에 관여함으로써 손상을 받은 막성 혹은 과립성 물질을 함유하여 결과적으로 다소포체(multivesicular body), 자가소체(autosome), 잔여소체(residual body)와 지방갈색소과립(lipofuscin granule) 등으로 변화된 이차용해소체이다. 다소포체는 많은 소포와 소량의 전자밀도가 약간 불투명한 물질을 함유하는 용해소체로서 통상세포의 횡단면에서 2개 내지 3개를 관찰할 수 있으며 다소포체의 근처에서는 다소포체내에서 볼 수 있는 것과 근사한 소포와 전자밀도가 약간 불투명한 물질을 함유한 smooth tubular structure를 볼 수 있고 다소포체의 표면에서 rounded bud나 tail이 돌기되어 있는 것도 볼 수 있다. 자식공포(autophagic vacuole)는 사립체, 내형질세망, 소포, 당원입자 혹은 섬유소를 포함하는 용해소체로서 가장 흔한 것은 사립체를 포함한 것이고 때로는 지방갈색소과립(lipofuscin granule)에서 볼 수 있는 membranous myelin-like granule과 전자밀도가 치밀한 괴사물질(debris)도 함유한다. 잔여소체는 손상 받은 세포내 소기관이 용해소체에 의하여 함입되어 제거되는 과정중에 나타나는 것으로 사료되며 Pavel들 (1971)은 virus 성 간염을 앓고 있는 환자의 간세포에서 변형을 일으킨 사립체가 퇴화하여 제거되는 양상을 관찰한 결과 여러가지 제거과정 중에서 용해소체에 탐식(함입)되어 막상와권체(whorled membranous body)와 유사한 지문모양으로 나타난 것을 관찰 보고하였다. Ghadially(1975)는 쇠퇴되고 손상받은 사립체가 제거되는 과정은 사립체가 엽상의 막상와권체를 형성하고 myelin figure를 함유한 이차용해소체로 전환되거나 기존의 용해소체에 의해서 편입되거나 또는 사립체 자체가 sequestration을 일으킨다고 설명하고 원숭이의 신세포에서 사립체가 막성와권체를 형성한 것을 관찰 보고하였다. 지방갈색소과립(lipofuscin granule)은 단일 한계막으로 싸이고 기질에는 전자밀도가 매우 치밀한 물질을 함유하고 있으며 또한 다수의 비교적 전자밀도가 투명한 과립과 중등도로 전자밀도가 치밀한 기질을 갖고 있다. 본 실험에서도 diazinon을 투여한 후 12시간 경과 후에는 일차용해소체가 diazinon으로 변화를 일으킨 간세포내 소기관을 탐식하여 자식공포를 형성한 후 diazinon 투여후 24시간이 경과하면 소화를 일으켜 잔여소체가 되고 그 일부는 담소관으로 배출되는 것같다.

간독작용을 일으키는 화합물이나 항생제를 실험동물에 투여하면 간세포에 지질이 축적된다고 보고되어 있다. 사염화탄소(Recknagel과 Lombardi, 1961; Seakings와 Robinson, 1963; Aiyar들, 1964)

와 ethanol(Iseri들, 1966)과 ethionine(Baglio와 Farber, 1965)을 실험동물에 투여하면 간세포에서 적은 dense osmophilic bodies, 즉 liposome이 조면내형질세망의 확장된 소조에 나타난다고 하였고 더욱 시간이 경과되면 간세포에서 보다 큰 지방소적이 관찰되며 이것은 한계막이 없고 세포형질내에 유리되어 나타난다고 보고하였다. 또한 실험동물에 간독작용을 일으키는 화합물과 항생제를 투여하면 간세포에서 조면내형질세망의 손상과 단백질합성의 장애로 인하여 병적 지방간의 발생원인이 된다고 알려져 있다. Thioacetamide (Barker들, 1963), puromycin(Conney과 Gilman, 1963), tetracyclin(Hansen들, 1968)과 cycloheximide(김과 이, 1979)를 실험동물에 투여한 바 간세포에서 단백질의 합성이 억제되고 또한 지방의 축적도 나타나는 것을 관찰하였으며 특히 Recknagel과 Lombardi(1961)는 실험동물에 사염화탄소를 투여하여 2시간 경과 후에 간장에 triglyceride가 60% 증가한데 반하여 조면내형질세망에서 작용하는 효소로 알려진 glucose-6-phosphatase의 활성은 35% 감소되는 것을 관찰하고 간세포내 조면내형질 세망의 손상과 지방축적과는 상관 관계가 있다고 보고하였다.

본 실험에서도 diazinon 투여후에 수개의 지방소적을 관찰할 수 있었으나 심한 지방침착은 관찰할 수 없었다.

이상과 같은 소견을 종합한 바 diazinon을 mouse에 투여하면 조면내형질세망이 손상을 받고 따라서 막부착 ribosome도 탈락되고 유리 ribosome의 전환(turnover)도 촉진되며, 활면내형질세망은 증식되고 당원입자도 소실되며, 따라서 Golgi 복합체는 기능의 저하로 위축이 일어나고 lipoprotein의 형성도 억제되어 간세포내 소기관의 손상을 받으면 이차용해소체가 형성된다고 사료된다.

V. 결 론

Diazinon은 유기인화합물로서 체내에서 용이하게 가수분해되고 축적작용도 적으므로 농작물의 병충해 방지를 위한 유기인살충제로 널리 사용되나 여러 독성작용을 유발하는 것으로 알려져 있으므로 diazinon이 간세포의 형질내 소기관에 미치는 영향을 추구하기 위하여 체중 20gm 내외의 ICR계 웅성 mouse에 체중 kg당 25mg를 olive 유에 희석하여 복강내로 주사하고 6시간, 12시간 및 24시간 경과 후에 희생시켜 간세포의 형질 소기관의 변화를 전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 조면내형질세망의 소조가 확장 및 낭상화되었고 그 일부는 파괴되었으며 이와같이 손상을 일으킨 소조의 막부착 ribosome이 탈락되고 유리 ribosome도 감소되었다.

2. Golgi 복합체의 소조가 약간 위축되었다.

3. 활면내형질세망이 비대되고 그 주변의 기질에 있는 당원입자가 감소되었다.

4. 자식공포와 잔여소체가 다수 출현하였다.

이상 소견을 종합 검토한 바 diazinon은 mouse의 간세포에 세포독성으로 작용하여 간세포의 소기관에 손상을 야기시킨다고 사료된다.

References

Aiyar, A.S., P. Fatterpaker, and A. Screnivassan. 1964. Lipid metabolism in liver injury caused by carbon tetrachloride in the rats. Biochem. J. 90, 558~563.

Ashoworth, C.T., F.J. Luibel, E. Sanders and N. Arnold. 1963. Hepatic cell degeneration. Correlation of fine structural with chemical and histochemical changes in hepatic cell injury procuced by carbon tetrachloride in rats. Arch. Pathol. (Chicago) 75, 212~225.

Babcock, M.B. and R.R. Cardell, Jr. 1974. Hepatic glycogen patterns in fasted and fed rats. Am. J. Anat. 140, 299~338.

Babcock, M.B. and R.R. Cardell, Jr. 1975. Fine structure of hepatocytes from fasted and fed rats. Am. J. Anat. 143, 99~438.

Baglio, C.M. and E. Farber. 1965. Reversal by adenine of the ethioine induced lipid accumulation in the endoplasmic reticulum of the rat liver. A preliminary report. J. Cell Biol.

27, 591～601.

Barker, E.A., E.A. Smuckler and E.P. Benditt. 1963. Effects of thioacetamide and yellow phosphorous poisoning synthesis in vivo. Lab. Invest. 12, 955～960.

Barnes, J.M. and F.A. Denz. 1953. Experimental demyelination with organo-phosphorus compounds. J. Path. Bact. 65, 597～605.

Bassi, M. 1960. Electron microscopy of rat liver after carbon tetrachloride poisoning. Exp. Cell Res. 20, 213～223.

Bidstrup, P.L., J.A. Bonnel and A.G. Beckett. 1953. Paralysis following poisoning by new organic phosphorus insecticide (Mipafox), report on 2 cases. Brit. Med. J. 1, 1068～1072.

Blair, O.M., R.J. Stenger, R.W. Hopkins and F.A. Simeone. 1968. Hepatocellular ultrastructure in dogs with hypovolemic shock. Lab. Invest. 18, 173～178.

Burger, P.C. and P.B. Hendson. 1960. Phenobarbital induced fine structural changes in rat liver. Am. J. pathol. 48, 793～809.

변희섭, 정호삼, 이규식. 1984. Parathion이 mouse의 간장에 미치는 영향. 한양대학교 환경과학논문집, 제 5 권, 91～101.

Conney, A.H. 1967. Pharmacological implications of microsomal enzyme induction. Pharmacol. Res. 19, 317～366.

Conney, A.H. 1969. Drug metabolism and therapeutics. New Eng. J. Med. 280, 653～660.

Conney, A.H. and A.G. Gilman. 1963. Puromycin of enzyme induction by 3-methylcholanthrene and phenobarbital. J. Biol. Chem. 238, 3682～3685.

Conney, A.H., C. Davison, R. Gastel and J.J. Burns. 1960. Adaptive increases in drug metabolizing enzymes induced by phenobarbital and other drugs. J. Pharmacol. Exp. Therap. 130, 1～8.

Crowley, W.J. Jr. and T.R. Johns. 1966. Accidental malathion poisoning. Arch. Neurol. 14, 611～616.

Davison, A.N. 1953. Return of cholinesterase activity in the rat after inhibition by organophosphorous compounds. Diethyl p-nitrophenyl phosphate (E600, paraxon). Biochem. J. 54, 583～590.

de Duve, C. and R. Wattiaux. 1966. Functions of lysosomes. Am. J. Physiol. 28, 435～438.

Du Bois, K.R., J. Duoll P.R. Saleron and J.M. Coon. 1949. Studies on the toxicity and mechanism of action of p-nitrophenyl diethyl thiono-phosphate (parathion). J. Pharmacol. Exp. Therap. 95, 79～91.

Durham, W.F., T.B. Gaines and W.J. Hayes, Jr. 1956. Paralytic and related effects of certain organophosphate compounds. Arch. Indust. Health 13, 326～330.

Fenwick, M.L., J.R. Barron and W.A. Watson. 1957. The conversion of dimefox into an anticholinesterase by rat liver in vitro. Biochem. J. 65, 58～67.

Fouts, J.R. and L.A. Rogers. 1965. Morphological changes in the liver accompanying stimulation of microsomal drug metabolizing enzyme activity by phenobarbital chlordane, benzpyrene of methylcholanthrane in rats. J. Pharmacol. Exp. Therap. 147, 112～119.

Gaines, T.B. 1960. The acute toxicity of pesticides to rat. Toxic. Appl. Pharmacol. 2, 88～90.

Gardocki, J.F. and L.W. Hazleton. 1951. Urinary excretion of the metobolic products of parathion following its intravenous injection. J. Am. Pharmacol. Ass. (scient. ed.) 40, 491.

Ghadially, F.N. 1975. Ultrastructural pathology of cell. Mitochondrial involution and elimination. London & Boston, Butterworths, pp. 122

~125.

Goldman, H. and M. Teitel. 1958. Malathion poisoning in a 34-month old child following accidental ingestion. J. Pediat. 52, 76~81.

Grob, D., W.L., Garlick, G.G. Merrill and H.C. Freimuth. 1949. Death due to parathion an anticholinesterase insecticide. Ann. Intern. Med. 31, 899~904.

Hamblin, D.O. and J.F. Marchand. 1951. Parathion poisoning. Am. Practit. 2, 1~12.

Hasnen, C.H., L.H. Pearson, S. Schenker and B. Combes. 1968. Impaired secretion of triglycerides by the liver; a cause of tetracycline-induced fatty liver. Proc. Soc. Exp. Med. 128, 143~146.

Hayes, J. Jr. 1965. Parathion poisoning and its treatment. J.A.M.A. 192, 49~50.

Iseri, O.A., C.S. Lieber and L.S. Gottlieb. 1966. The ultrastructure of fatty liver induced by prolonged ethanol ingestion. Am. J. Pathol. 48, 435~455.

Jones, A.L. and D.W. Fawcett. 1966. Hypertrophy of the agranular endoplasmic reticulum in hamster liver induced by phenobarbital (with a review on the functions of this organelle in liver). J. Histochem. Cytochem. 14, 215~232.

김수연, 이규식. 1979. Cycloheximide가 mouse의 간세포에 미치는 영향에 관한 전자현미경적 연구, 한국전자현미경학회 잡지, 제 9 권, 제 2 호, 55~57.

Koelle, G.B., A. Gilman and B.D. Binzer. 1946. The chronic toxicity of di-isopropyl fluorophosphate (DFP) in dogs, monkeys and rats. J. Pharmac. Exper. Therapy 87, 435~448.

Krishman, N. and R.J. Stenger. 1966. Effects of starvation on the hepatoxicity of carbon tetrachloride. A light and electron microscopic study. Am. J. Pathol. 47, 230~255.

이동식, 김숙영, 이규식. 1983. Parathion이 mouse간세포의 미세구조에 미치는 영향, 대한해부학회지, 제16권, 145~161.

March, R.B., T.R. Fukuto, R.L. Metcalf and M.C. Moxon. 1956. Fate of P^{32} labeled malathion in the laying hen, white mouse and american cockroach. J. Econ. Ent. 49, 185~195

Murphy, S.D. and K.P. Du Bois. 1957. Quantitative measurement of inhibition of the enzymatic detoxification of malathion by EPN (ethyl p-nitrophenyl thionobenzenephosphate). Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96, 813~818.

Namba, T., M. Greenfield and D. Grob. 1970. Malathion poisoning. A fetal case with cardiac manifestation. Arch. Environ. Health 21, 533~541.

Namba, T., C.T. Nolte, J. Jackrel and D. Grob. 1971. Poisoning due to organophosphate insecticides. Acute and chronic manifestation. Am. J. Med. 50, 475~492.

O'Brien, R.D. 1957. Properties and metabolism in the cockroach and mouse of malathion and malaoxon. J. Econ. Ent. 50, 159~164.

Ogi, D. and A. Hamada. 1965. Case reports on fetal deaths and malformation of extremities probably related to the insecticide poisoning. J. Jap. Obstet. Gynecol. Soc. 17, 569.

박현영, 이규식. 1982. 유기인제농약(EPN)이 mouse의 간세포 pyronin호성 과립에 미치는 영향. 대한 해부학회지, 제15권 49~60.

Pavel, I., H. Bonaparte and A. Petrovici. 1971. Involution of liver mitochondria in viral hepatitis. Arch. Pathol. 91, 294~301.

Petry, H. 1951. Polyneuritis durch E 605. Zentralbl. Arbeitsmed. U. Arbeitsschutz. 1, 86. (Cited in Arch Industr. Hyg. 6, 461. 1952).

Recknagel, R.O. and B. Lombardi. 1961. Studies of biochemical changes in subcellular particles of rat. Liver and their relationship to a new hypothesis regarding the pathogenesis of carbon tetrachloride fat accumulation. J.

Biol. Chem. 236, 564~569.

Remmer, H. and H.J. Merker. Enzyminduktion und-Vermehrung von 1963. Engdoplasmatishem Reticulum in der Leverzelle Während der Behandlung mit Phenobarbital (Luminal). Klin. Washr. 41, 276~283.

Reynolds, E.S. 1963. Liver parenchymal cell injury. I. Initial alterations of the cell following poisoning with carbon tetrachloride. J. Cell Biol. 19, 139~157.

Reynolds, E.S. and A. G. Yee. 1967. Liver parenchymal cell injury. V. Relationships between patterns of chloromethane-C^{14} incorporation into constituents of liver in vivo and cellular injury. Lab. Invest. 16, 591~603.

Robinson, D.S. and A. Seakings. 1962. The development in the rat of fatty livers associated with reduced plasma-lipoprotein synthesis. Biochem. Biophys. Acta 62, 163~165.

Rosen, S. I. 1964. Tubular endoplasmic reticulum and glucoss-6-phosphatase activity in the neonatal liver (abstr.). J. Cell Biol. 23, 78~79.

Rosen, S.I., C.W. Kelly and V.B. Peters. 1966. Glucose-6-phosphatase in tubular endoplasmic reticulum of hepatocytes. Science 152, 352~354.

Rubin, E., F. Hutterer and C.S. Lieber. 1968. Ethanol increases hepatic smooth endoplasmic reticulum and drug metabolizing enzyme. Science 159, 1469~1470.

Seakings, A. and D.S. Robinson. 1963. The effects of the administration of carbon tetrachloride on the formation of plasma lipoprotein in the rat. Biochem. J. 89, 401~407.

Slater, T.F. and B.C. Sawyer. 1970. The hepatotoxic action of carbon tetrachloride. Stimulating affect of carbon tetrachloride on lipid peroxidation in microsomal suspensions. Fed. Eur. Biol. Soc. Lett. 11, 132~136.

Smuckler, E.A. and E.P. Benditt. 1965. Studies on carbon tetrachloride intoxication. III. Subcellular defect in protein synthesis. Biochem. 4, 671~679.

Smuckler, E.A. and E.P. Benditt. 1963. Carbon tetrachloride poisoning in rats; Alteration in ribosomes of the liver. Science 140, 398~310.

Smuckler, E.A., O.A. Iseri and E.P. Benditt. 1962. An intracellular defect in protein synthesis induced by carbon tetrachloride. J. Exp. Med. 116, 55~71.

Stenger, R.J. 1970. Organelle pathology of the liver. The endoplasmic reticulum. Progress in gastroenterology 58, 554~574.

Tanimura, T., T. Katsuya and H. Nishimura. 1967. Embryotoxicity of acute exposure to methyl paration in rats and mice. Arch. Environ. Health 15, 609~613.

Taylor, W.J., W. Kalow and E.A. Sellers. 1965. Poisoning with organophesphoru insecticides. Canad. Med. Ass. J. 93, 966~970.

Trump, B.F., P.J. Goldblatt and R.E. Stowell. 1965. Studies of necrosis in vitro of mouse hepatic parenchymal cells. Ultrastructural and cytochemical alterations of cytosomes, cytosegresomes, multivesicular bodies, and microbodies and their relation to the lysosme concept. Lab. Invest. 14, 1946~1968.

엄기일, 이규식. 1984. Ethoxy-P-nitrophenoxy-phenylphosphine sulfide가 mouse간세포의 미세구조에 미치는 영향. 한양의대학술지 제 4 권.

Venable, J.H. and R. Coggeshall. A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. J. Biol. 25, 407~417.

Watson, M.L. 1958. Staining of tissue section for electron microscopy with heavy metals. J. Biophys. Biochem. Cytol. 4, 475~478.

Wood, R.L. 1965. The fine structure of hepatic cells in chronic ethionine poisoning and during

recovery. Am. J. Pathol. 40, 307~330.

양윤모, 정호삼, 이규식. 1983. parathion이 mouse간세포내 pyronin호성과립에 미치는 영향. 대한해부학회지, 제16권 제 1 호, 23~29.

윤희병, 김수명, 이규식. 1982. 유기인농약(LPN)이 mouse의 간장에 미치는 영향. 한양대학교 환경과학논문집, 제 3 권, 48~57.

Figure Legends

Fig. 1. An electron micrograph of hepatocyte, 6 hours after diazinon treated group. Intact rough endoplasmic reticulum (RER), mitochondria (M) and nucleus (N) except hypertrophy of smooth endoplasmic reticulum (SER) associated with depletion of glycogen particles (Gly) are observed.

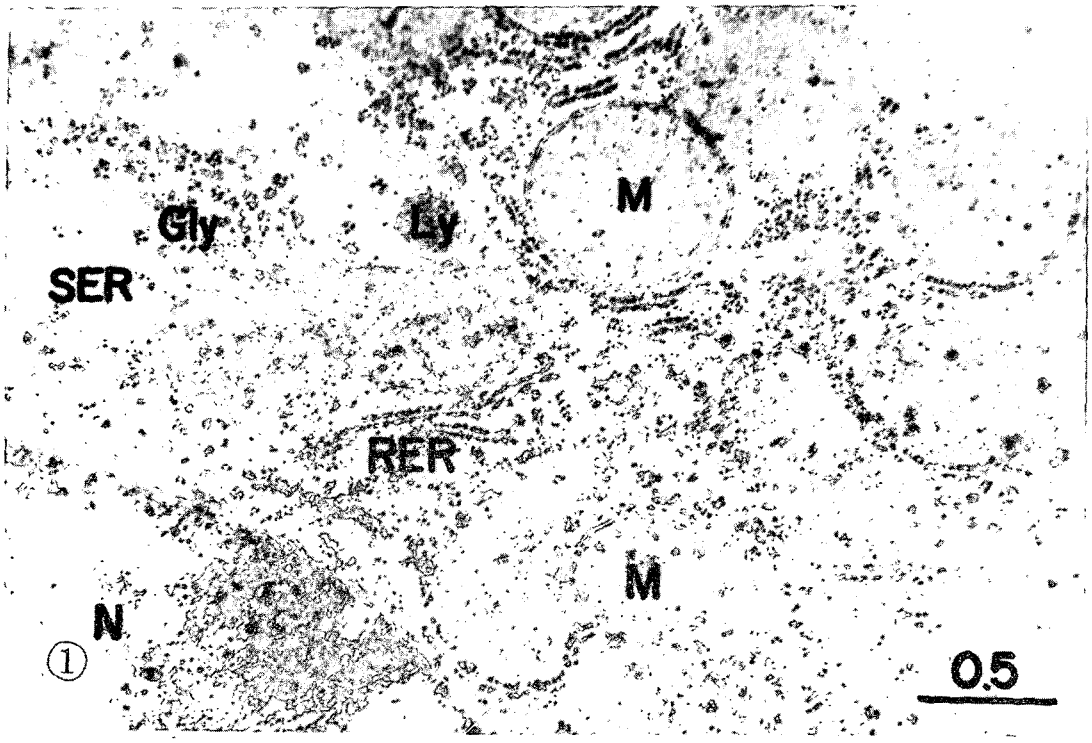
Fig. 2. An electron micrograph of mouse hepatocyte, 6 hours after diazinon treated group. Intact rough endoplasmic reticulum (RER), lysosomes (Ly), mitochondria (M) and nucleus (N) except multivesicular body (MVB) and lipid droplets (L) are observed.

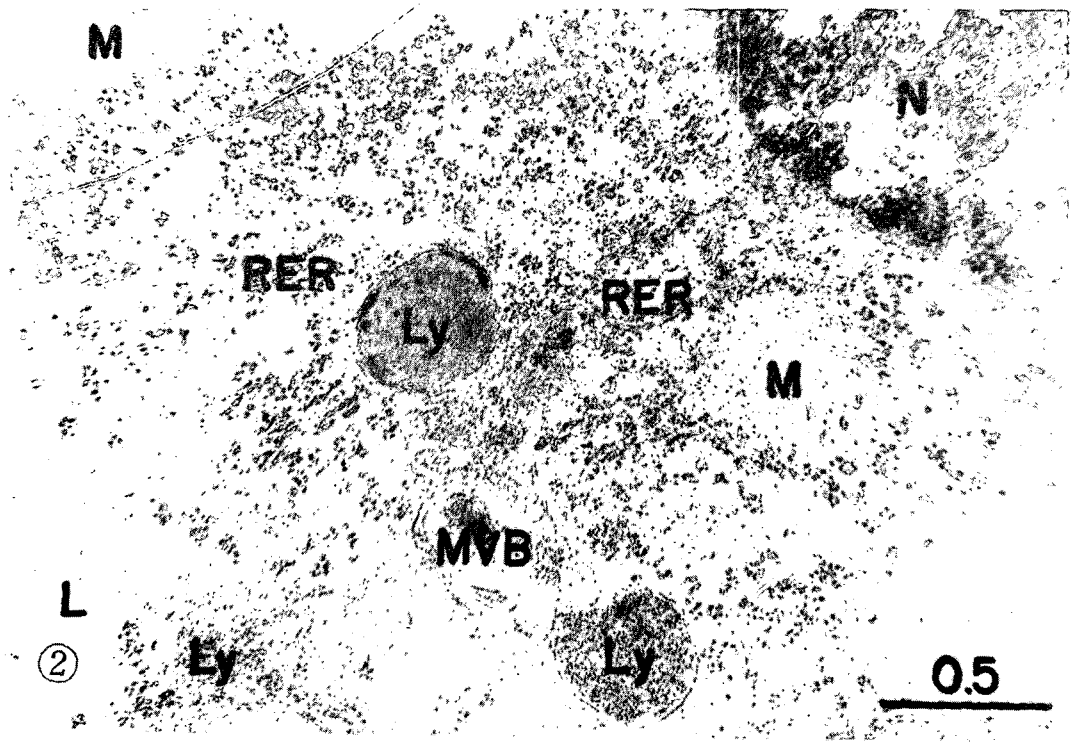
Fig. 3. An electron micrograph of mouse hepatocytes, 12 hours after diazinon treated group. Dilatation and sacculation of cisternae of rough endoplasmic reticulum (RER) associated with detachment of membrane bound ribosomes, hypertrophy of smooth endoplasmic reticulum (SER) in companied with depletion of glycogen particles (Gly), atrophy of Golgi complex (Go), autophagic vacuoles (APV), residual body (RB), bile canaliculus (BC) and junctional complex (JC) are noted.

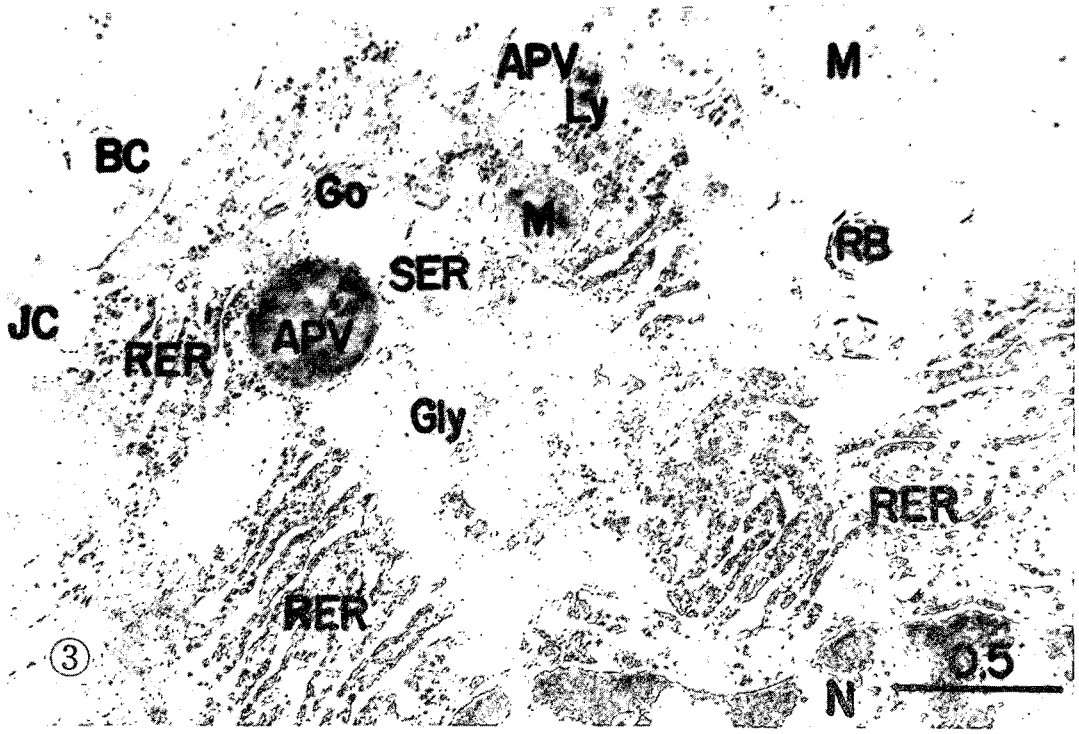
Fig. 4. An electron micrograph of mouse hepatocyte, 12 hours after diazinon treated group. autophagic vacuoles (APV), hypertrophied smooth endoplasmic reticulum (SER) associated with depletion of glycogen particles (Gly) and several lipid droplets (L) are recognized.

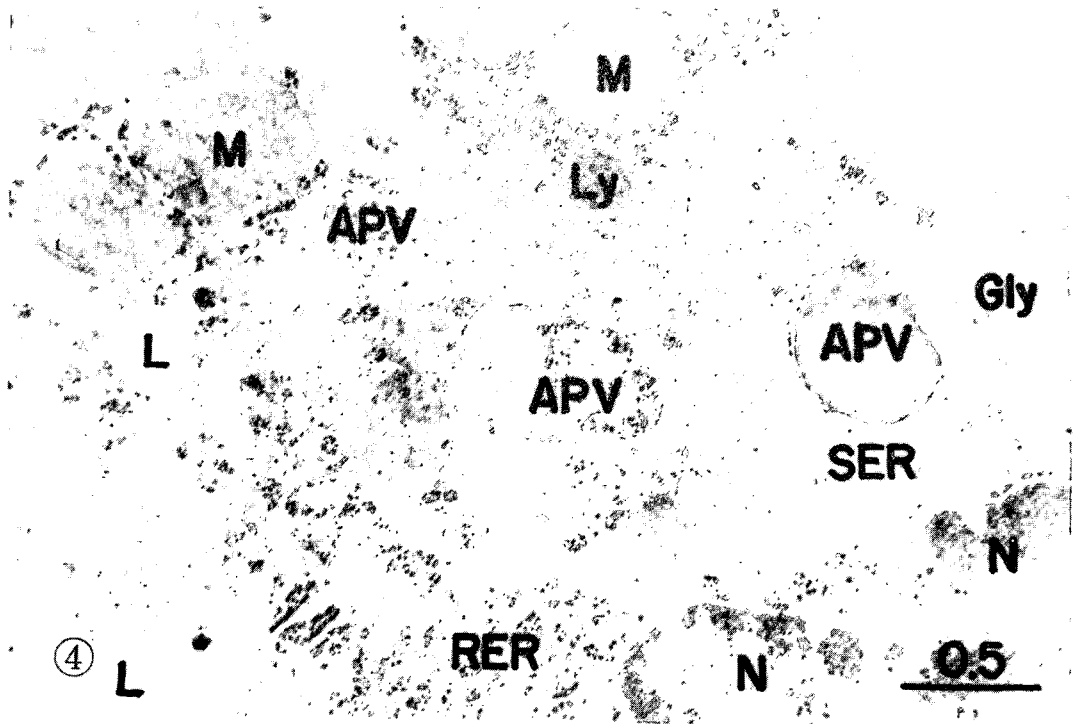
Fig. 5. An electron micrograph of mouse hepatocyte, 24 hours after diazinon treated group. The dilatation and sacculation of the cisternae of rough endoplasmic reticulum (RER) associated with dissociation of membrane bound ribosomes and a few lipid dioplets (L) are noted.

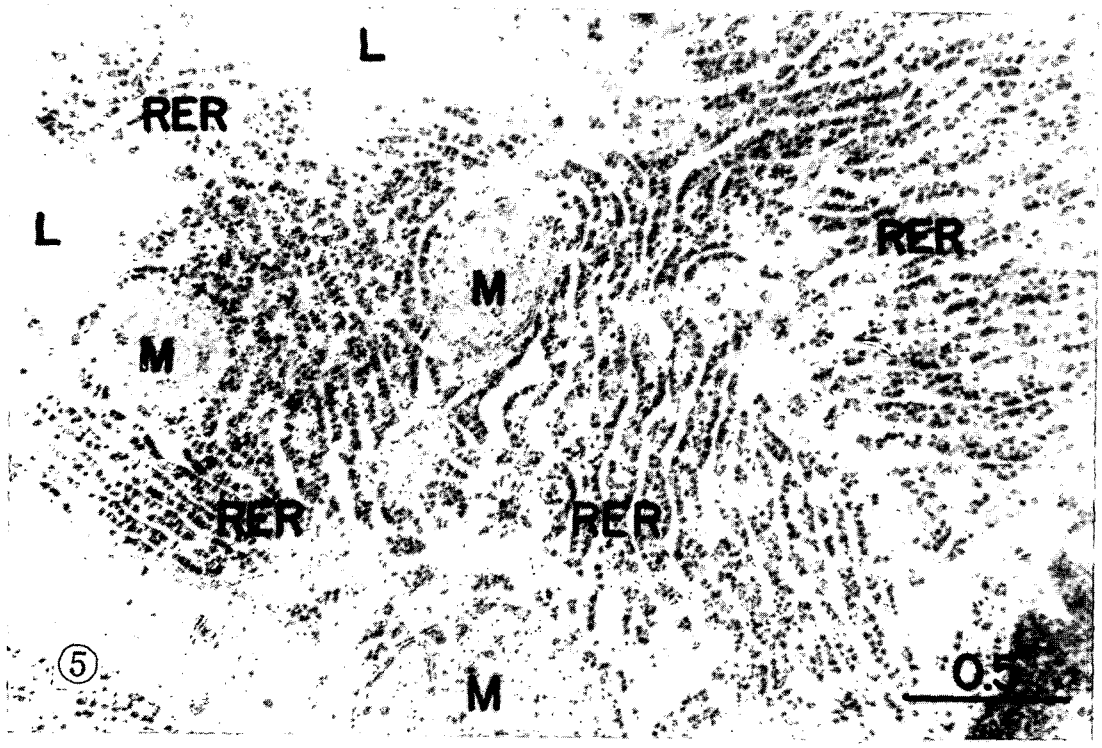
Fig. 6. An electron micrograph of mouse hepatocytes, 24 hours after diazinon treated group. A large number of residual bodies (RB) and debris in the bile canaliculus (BC) are recognized.

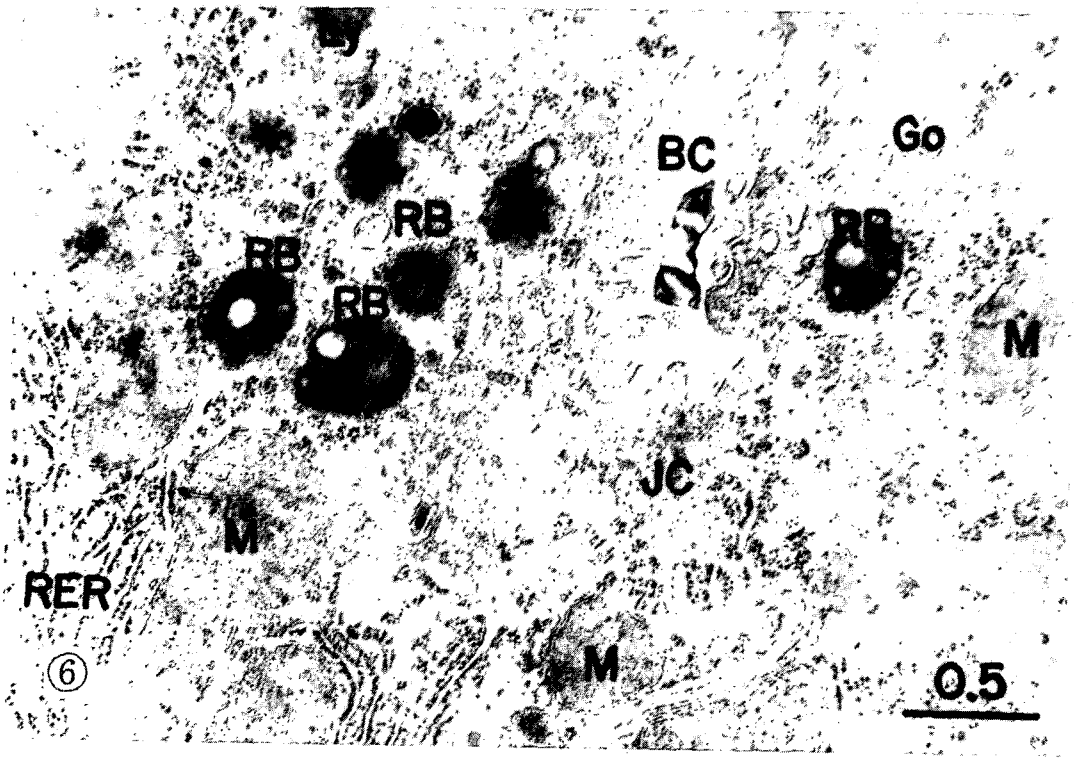

Gly
Ly
M
SER
RER
M
N
①
0.5


M
N
RER
Ly
RER
M
MVB
L
②
Ly
Ly
0.5


APV
Ly
M
BC
Go
M
RB
SER
JC
RER
APV
Gly
RER
RER
③
0.5
N


M
M
Ly
APV
Gly
L
APV
APV
SER
N
④
L
RER
N
0.5


L
RER
L
RER
M
M
RER
RER
⑤
M
0.5


L
BC
Go
RB
RB
RB
RB
M
JC
M
RER
⑥
M
0.5