

계배 대뇌의 신경세포 분화에 미치는 수은의 영향(I)

김 생 곤 · 조 광 필* · 김 정 상**

Effects of Mercuric Chloride on the Differentiation Cerebral Neuron of Chick Embryo (I)

Kim, Saeng Gon, Kwang Phil Cho* and Jeong Sang Kim**

(Received March 12, 1993)

ABSTRACT

To investigate the effects of mercuric chloride ($HgCl_2$) on the differentiation in the cerebral neuron of chick embryo 7 days, the ultrastructural changes in nerve cells injected with a various doses of mercuric chloride were observed with transmission electron microscope. The enzyme activity of the some dehydrogenases, and adenosine triphosphate (ATP) were also analyzed.

The results obtained are as follows;

The ultrastructural changes in 1.0mg-injected group, the nuclear envelope were irregular, and the RER, Golgi complexes and mitochondria were not well developed. In 2.0mg-injected group, the nuclear envelope were partly destroyed or detached, and mitochondria were decreased in number and their cristae were destroyed, too. The RER and Golgi complexes were less developed than those of the normal groups.

In general, the activities of dehydrogenases were declined by increasing the dose of mercuric chloride. Lactate dehydrogenase (LDH) activity failed to below 85% of the normal group in 1.0mg-injected group, and 69% in 2.0mg-injected group.

Malate dehydrogenase (MDH) activity was decreased greatly to 76% in 2.0mg-injected group. Succinate dehydrogenase (SDH) activity failed to 85% in 1.0mg-injected group, and 74% in 2.0mg-injected group.

ATP content in 1.0mg-injected group was almost near to the normal level, but it was increased significantly in 2.0mg-injected group.

조선대학교 치과대학 동물학교실, *목포전문대학 물리치료과, **동신대학교 한의학과
Dept. of Zoology, College of Dentistry, Chosun University

*Dept. of Physical Therapy, Mokpo Junior College, **Dept. of Oriental Medicine, Dongshin University

서 론

수은이 환경오염 유발원의 하나로 크게 문제되는 것은 이들이 금속성이기 때문에 원자상태로 계속 잔류하며 유기물과 같이 용해되거나 분해되지 않는다는 데 있다. 자연계에 존재하는 수은은 지질과 광물에 섞여 있는 것이 비나 흐르는 물에 의해서 서서히 확산되고, 이것은 식물이나 동물에 의해 흡수, 섭취되었다가 이들의 분비작용에 의하여 다시 지층으로 옮겨져서 일정한 상태를 유지하게 된다(Lee, 1988). 그러나, 수은에 의한 환경오염 문제가 발생하게 된 원인은 이러한 자연계의 현상으로 인한 것이 아니고 산업의 발달로 인한 수은의 사용량이 증가되면서 배출량이 많아질 뿐만 아니라 석유의 연소산물로서, 산업폐기물로서, 또한 가연 휘발유의 사용으로 많은 수은이 생활주변에 배출되어 환경을 오염시키기 때문이다(Wood et al., 1978; Frank and Jerome, 1980).

무기수은은 다른 수은 화합물과는 달리 소독제, 이노제, 살균제 등의 의약품으로 널리 이용되고 있는데, 이들은 동물의 장기 내에서 혹은 하상저질토에서 methanobacteria 등에 의해 쉽게 methyl화를 일으킴으로써 결과적으로 무기수은의 methyl화는 생태계에서 필연적으로 발생하는 생물학적 과정으로 되어 있다(Rozynkova and Raczkiwicz, 1977; Park and Cha, 1984).

뇌에서 무기수은의 축적과 분포에 대한 연구는 여러 연구자에 의해서 수행되어 왔다(Clarkson, 1972; Chang, 1977; Moller-Madsen and Danscher, 1986). 무기수은은 쥐의 정상세포 내에서 이온화되어 Na^+ , K^+ -ATPase 활성 및 hexokinase 활성에 영향을 줌으로써 선택적으로 glutamate의 수송을 억제하고(Clarkson, 1986; Brookes, 1988; Brookes and Kristt, 1989), 중추신경계의 기능장애와 신경변성을 일으킨다(Olney, 1979; Schwarcz and Meldrum, 1985).

최근에는 정상세포에서 수은에 의한 amino acid 수송과 단백질 합성의 억제효과(Brookes and Kristt, 1989), 수은의 투여량과 방법에 따른 중추신경에 축적되는 수은의 분포(Moller-Madsen, 1990; Moller-Madsen and Danscher, 1991), 수은의 독성작용으로 인한 뇌의 발생에서 신경성장 요인의 변화(Larkfors et al., 1991), amino acid 운반자에 의하여 blood-brain

barrier를 통하여 수송되는 수은의 수송기작(Kerper et al., 1992) 등에 대한 연구보고도 있다.

계배 대뇌의 신경세포에 대한 연구는 신경 전달물질인 Serotonin의 영향(Emanuelsson, 1976; Choe et al., 1989), 유기화합물인 malathion의 영향(Flockhart and Casida, 1972; Procter et al., 1976; Kim et al., 1988), L-tryptophan의 영향(Emanuelsson and Palen, 1975; Palen and Thomerby, 1981; Choe et al., 1985; Choe et al., 1989)에 대한 연구보고가 있으나 수은에 의한 대뇌의 영향에 관한 연구는 미미한 상태이다.

따라서 본 연구는 수은의 축적 농도가 계배 대뇌의 신경세포에 미치는 영향을 밝히기 위하여 대뇌의 조직 및 세포의 분화과정을 전자현미경으로 관찰하고 LDH, MDH 및 SDH의 효소활성도와 ATP함량 변화를 측정, 비교하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

정상 사료로 사육한 Abor acres계(전남 나주군 노안면 지산 부화장에서 분양)의 수정란($60 \pm 5g$)을 부란기 내에서 최적 조건(온도 $38 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 상대 습도 60%)으로 부란하였다. 투여약품은 mercuric chloride(HgCl_2 , 藥理化學, Co., 日本)를 사용하였다.

2. 실험방법

1) Mercuric chloride의 투여

실험군은 수정란을 24시간 동안 발생시킨 후 체중 kg 당 0.1mg, 0.5mg, 1.0mg, 2.0mg의 HgCl_2 를 0.9% 생리적 식염수 0.05ml에 희석하여 각각 난각을 통하여 배반 부위에 1회 투여하였고 대조군으로서는 정상군과 0.9% 생리식염수 0.05ml을 동일한 방법으로 투여한 개체들을 사용하였다. 난각에 생긴 구멍은 paraffin으로 봉한 후 부란 7일(stage 31, Hamburger와 Hamilton, 1951)째 까지 부란시켰다.

2) 전자현미경 관찰

계배를 적출하여 대뇌를 분리하고 1mm^3 으로 세절한 후 0.1M cacodylate buffer(pH 7.4)로 조성된 2.5% glutaraldehyde에서 5시간 전고정하고, 동일한 완충액으로 15분씩 3회 세척한 다음, 동일한 완충액 내의 1% osmium tetroxide(OsO_4) 용액으로 2시간동안 후고정

하였다. 고정된 조직을 동일한 완충액으로 15분씩 3회 세척한 다음 alcohol 상순 농도 순으로 탈수하여 propylene oxide로 치환한 후, Epon 포매제로 포매하고, 초박편기 (ultramicrotome LKB-V형)를 사용하여 1 μ m 두께로 절편제작한 다음 1% toluidine blue로 염색하여 광화현미경으로 관찰 대상부위를 확인하였다. 확인한 부위를 60nm의 초박절편으로 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 JEM 100CX-II 투과형 전자현미경 (80KV)으로 관찰하였다.

3) 효소활성도 측정

가. Lactate dehydrogenase(LDH)의 활성도

측정

LDH의 활성은 Holbrook등(1975)의 방법을 이용하여 반응액에 효소원을 가한 후 1분동안 감소되는 NADH의 양을 340nm에서의 흡광도를 측정하여 감소되는 NADH의 양으로부터 환산하여 측정하였다. 반응액(3ml)의 조성은 50mM phosphate buffer (pH 7.4), 0.6mM sodium pyruvate, 21.3mM nicotinamide, 0.18mM NADH로 하고 효소원으로는 추출된 조효소액 0.1ml을 혼합하여 효소활성도를 측정하였다.

나. Malate dehydrogenase(MDH)의 활성도

측정

MDH의 활성은 Joo와 Han(1976)의 방법을 이용하여 반응액에 효소원을 가하고 상온에서 1분동안에 감소되는 2,6-dichlorophenol indophenol(DICPIP)의 양을 spectrophotometer (Shimadzu-1201)를 이용하여 600nm에서 측정하여 환산하였다. 반응액의 조성은 14mM phosphate buffer (pH 7.4), 0.43mM NAD⁺, 30mM nicotinamide, 0.86mM KCN, 0.034mM DICPIP, 7.1mM sodium malate로 하고, 여기에 추출된 조효소액 0.1ml을 혼합하여 사용하였다.

다. Succinate dehydrogenase(SDH)의 활성도

측정

SDH의 활성은 Joo와 Han(1976)의 방법을 이용하여 반응액에 효소원을 가하고 상온에서 1분동안 환원되는 DICPIP의 양을 spectrophotometer (Shimadzu-1201)를 이용하여 600nm에서의 흡광도 변화로써 활성을 측정하였다. 반응액의 조성은 50mM phosphate buffer (pH 7.6), 1mM KCN, 0.04mM DICPIP, 20mM sodium succinate로 하고, 추출된 조효소액 0.1ml을 혼합하여 사용하였다.

4) Adenosine triphosphate(ATP) 함량 측정

계배대뇌에서 추출된 시료액 200 μ l와 HEPES 완충용액 (50mmol Tris acetate buffer, pH 7.75, 1.5mmol EDTA, 0.075% bovine serum albumin, 10mmol Magnesium acetate) 200 μ l를 혼합하고 (Wulff, 1983) 여기에 HEPES 완충용액으로 용해시킨 D-luciferin-luciferase (from Firefly; Calbiochem Co.) 용액 100 μ l를 혼합한 10초 후에 발광된 광도를 luminometer (Berthold, LB9501)를 이용하여 측정하였다 (Bowie, 1978). 표준곡선은 1.97×10^{-5} mol ATP 용액을 HEPES 완충용액으로 희석하여 시료액과 동일하게 측정하였다.

결 과

1. 전자현미경적 소견

발생 7일 계배 (Figs. 1~6)의 정상군 신경세포의 핵은 세포질에 비하여 비교적 큰 핵의 중앙에 커다란 인을 가지고 있었으며 전 핵질에 고르게 분포된 염색질과 2중막으로 된 핵막을 관찰할 수 있었다. Mitochondria는 cristae가 뚜렷한 난원형들이 세포질 내에 고루 분포되어 있었고 세포막 주변에는 미 발생중인 액포들이 군데군데 분포하였으며 세포질 전역에서 유리 ribosome이 관찰되었다 (Fig. 1). 생리식염수 투여군의 염색질은 대체적으로 핵질이 고르게 분포되어 있고 Golgi 복합체와 조면소포체가 발달해 있었다 (Fig. 2). 0.1mg 투여군은 염색질이 핵 내에 고루 분포되었으나 세포질내 mitochondria의 수가 정상군에 비해 약간 증가하였으며 Golgi 복합체에서 분비되는 다수의 Golgi 소포들을 관찰할 수 있었다 (Fig. 3). 0.5mg의 투여군은 핵막이 비교적 뚜렷하였고 염색질도 핵질 전체에 균질하게 분포되어 있었다. 인은 비교적 핵의 중심부에 위치하여 뚜렷이 관찰할 수 있었으며, mitochondria는 다수 분포되어 있었고 그 수가 약간 증가하였다. 일반적인 소견은 정상군과 거의 차이가 없었다 (Fig. 4). 1.0mg의 투여군에서는 핵과 인이 뚜렷했으나 핵막은 약간 불규칙하였다. Mitochondria는 난원형, 세장형으로 관찰되었는데 특히 세장형은 cristae의 발달이 미약했으며 그 모양이 불규칙하였다. Golgi 복합체는 아주 잘 발달되어 있었고, 유리 ribosome을 세포질 전역에서 관찰할 수 있었다. 또한 수상돌기의 말단에서는 많은 synaptic 소포들이 밀

집되어 있었다(Fig. 5). 2.0mg의 투여군은 핵막이 매우 불규칙할 뿐만 아니라 핵막은 내막과 외막이 분리되어 나타났고 핵질은 이질 염색질이 보다 농축되어 핵막 주변부에 밀집되어 나타났다. Mitochondria는 그 수가 다른 군에 비하여 현저히 감소하였을 뿐만 아니라 cristae는 거의 관찰되지 않았다(Fig. 6).

2. 효소활성도의 변화

1) Lactate dehydrogenase(LDH)의 활성도

7일군 계배의 LDH 활성은 정상군(100%)에 비해 saline을 투여한 대조군이 93%로 나타났고, HgCl₂를 투여한 실험군에서는 0.1mg 투여군, 0.5mg 투여군, 1.0mg 투여군이 각각 90%, 88%, 85%로 활성이 감소되었으며, 2.0mg 투여군에서는 69%로 크게 감소되었다(Table 1).

Table 1. Effects of HgCl₂ on lactate dehydrogenase (LDH) activity of the cerebrum in chick embryo.

Incubation days	Groups	Enzyme activity* (unit/cerebrum)	Relative activity** (%)
7	control	8.16	100
	saline	7.60	93
	0.1mg/kg	7.38	90
	0.5mg/kg	7.19	88
	1.0mg/kg	6.93	85
	2.0mg/kg	5.67	69

*One unit of enzyme activity was defined as 0.1 of optical density change per minute under the experimental condition described in the text.

**Relative activities were expressed as percent of control.

2) Malate dehydrogenase(MDH)의 활성도

7일군 계배의 MDH 활성은 saline 투여군이 정상군에 비해 95%로 나타났고, 0.1mg 투여군, 0.5mg 투여군, 1.0mg 투여군에서 각각 92%, 93%, 91%로 활성이 다소 감소되었으나, 2.0mg 투여군에서 76%로 MDH 활성이 크게 감소되었다(Table 2).

3) Succinate dehydrogenase(SDH)의 활성도

7일군 계배의 SDH 활성은 정상군에 비해 saline 투여군, 0.1mg 투여군, 0.5mg 투여군에서 95%, 97%, 92%의 활성을 보였고, 1.0mg 투여군에서는 85%로 활

Table 2. Effects of HgCl₂ on malate dehydrogenase (MDH) activity of the cerebrum in chick embryo.

Incubation days	Groups	Enzyme activity* (unit/cerebrum)	Relative activity** (%)
7	control	7.98	100
	saline	7.58	95
	0.1mg/kg	7.32	92
	0.5mg/kg	7.45	93
	1.0mg/kg	7.27	91
	2.0mg/kg	6.08	76

*One unit of enzyme activity was defined as 0.1 of optical density change per minute under the experimental condition described in the text.

**Relative activities were expressed as percent of control.

Table 3. Effects of HgCl₂ on succinate dehydrogenase (SDH) activity of the cerebrum in chick embryo.

Incubation days	Groups	Enzyme activity* (unit/cerebrum)	Relative activity** (%)
7	control	5.49	100
	saline	5.20	95
	0.1mg/kg	5.34	97
	0.5mg/kg	5.05	92
	1.0mg/kg	4.65	85
	2.0mg/kg	4.07	74

*One unit of enzyme activity was defined as 0.1 of optical density change per minute under the experimental condition described in the text.

**Relative activities were expressed as percent of control.

성이 감소되었으나, 2.0mg 투여군에서는 정상군에 비해 74%로 활성이 크게 감소되었다(Table 3).

3. Adenosine triphosphate(ATP)의 변화

7일군 계배의 ATP양은 정상군이 3.45×10^{-6} mol/ml로 나타났고 saline 투여군, 0.1mg 투여군, 0.5mg 투여군, 1.0mg 투여군에서는 각각 4.01×10^{-6} mol/ml, 3.80×10^{-6} mol/ml, 3.05×10^{-6} mol/ml, 3.50×10^{-6} mol/ml로 정상군과 거의 같았으나, 2.0mg 투여군에서는 1.10×10^{-5} mol/ml로 증가하였다.

Table 4. Effects of HgCl₂ on adenosine triphosphate (ATP) contents of the cerebrum in chick embryo.

Incubation Days	Groups	ATP mol/ml
7	control	3.45×10^{-6}
	saline	4.01×10^{-6}
	0.1mg/kg	3.80×10^{-6}
	0.5mg/kg	3.05×10^{-6}
	1.0mg/kg	3.50×10^{-6}
	2.0mg/kg	1.10×10^{-6}

고 찰

무기수은은 소독제, 이노제, 항균제, 안정제 및 피부 연고제 등 약품의 첨가제로 사용되고 있고 (Kim *et al.*, 1991), 치과용 아말감으로도 사용되고 있는데, 수은이 체내에 축적되면 만성 중독 증상을 나타내며 그 증상으로는 쇠약, 두통, 식욕감퇴, 구토, 설사, 경련, 시야의 축소, 신장장애, 체중의 감소, 정신적 정서불안 등이 나타나고 (Joselow and Goldwater, 1968), 구강 내 증상으로는 구내염, 치은염, 타액 분비과다 등이 유발된다 (Merfield and Taylor, 1976; Kim *et al.*, 1989). 이러한 무기수은은 그 일부가 생체 내에서 필연적으로 methyl화되고 있으므로 사람과 동물에 미치는 영향은 다른 수은화합물과 더불어 중요한 의미를 가지고 있다. Geelen 등 (1990)에 의하면 임신 18일의 흰쥐 정맥에 methyl수은 10mg/kg을 투여하였을 때 2시간 경과 후에는 미세구조적 변화가 배자의 뇌피세포에서 처음 비정상적으로 관찰되었는데 mitochondria는 팽윤되었고 cristae가 거의 사라졌으며, 뇌피세포의 영향은 인접세포 사이에서도 변화를 가져온다고 보고하였다. Brookes와 Kristt (1989)에 의하면 쥐 대뇌의 정상세포내에서 1 μ M HgCl₂ 투여시 미세구조의 변화는 heterochromatin의 분리, lysosome의 증가와 세포 표면의 불규칙성의 증가를 가져왔고, 5 μ M을 투여하였을 때에는 많은 세포들이 확장되었고 단백질 합성과 수송에 관여하는 소기관들의 파괴가 수반되었으며 신경세포의 cytoplasm에서 lysosome들이 특징적으로 나타난다고 하였다.

본 연구에서의 미세구조적 변화는 0.5mg 이하 투여군에서 정상군에 비해 미세한 변화가 관찰되었지만 유의한 변화를 관찰할 수 없었다. 그러나 1.0mg의 투여군에서는 핵막이 불규칙하였고 mitochondria는 cristae의 발달이 미약하였으며 모양이 불규칙하게 관찰되었다. 한편, 2.0mg의 투여군에서는 핵막이 내막과 외막으로 분리되었고 조면소포체나 Golgi 복합체의 발달이 아주 미약하였으며 mitochondria의 cristae가 거의 관찰되지 않았을 뿐만 아니라 수적으로 현저히 감소하였다. 특히 mitochondria의 수적 감소와 cristae의 미 발달로 세포 내 탈수소효소인 SDH, MDH 활성 등의 감소를 가져와 기초대사를 저해하는 것으로 생각되며 또한 이러한 세포내의 미세구조의 변화는 수은독성이 대뇌세포의 분화와 형태형성에 많은 영향을 미치기 때문인 것으로 생각된다.

Asztalos와 Nemcsok (1985)는 몇 가지 중금속과 살충제에 의한 조직손상의 정도는 LDH 활성의 증가와 비례하며 따라서 대뇌조직 및 혈액 내에서 LDH 활성이 증가되었는데 이는 약물의 독성작용에 대한 방어기전의 하나로서 나타나는 현상이라고 하였다. 반면 Choe 등 (1985)은 phenylalanine, tryptophan, tyrosine과 같은 방향족 아미노산을 투여하고 15일간 부란한 계배의 경우 LDH, MDH 그리고 SDH와 같은 기초대사에 중요한 효소들의 활성도가 크게 감소된다고 보고하였고, Choe 등 (1986)은 부란 10일 후 계배 두부의 LDH, MDH, SDH 등의 기초 대사 관련 효소들의 활성도를 측정하였던 바 LDH 활성도는 tryptophan 투여군의 경우 정상군에 비해 80%로 크게 감소되었고, MDH 활성의 경우에는 79%로 활성이 감소되었으며 SDH의 경우도 56%로 감소가 일어남을 보고하였다.

한편, 본 연구에서도 LDH, MDH 그리고 SDH 활성도는 수은의 투여량이 증가할수록 감소되었는데 이것은 HgCl₂의 축적에 따라 대뇌 세포에 손상이 일어나 탄수화물, 지질, 아미노산 등의 최종 생물학적 산화회로인 TCA회로의 효소활성이 저해되기 때문인 것으로 생각된다.

Chetty 등 (1990)은 수은이 쥐 뇌의 microsome에서 Mg-의존성 ATPase 활성을 억제하며 oligomycin-insensitive Mg⁺⁺-ATPase에 비해 oligomycin-sensitive Mg⁺⁺-ATPase가 수은 독성에 의해 더 큰 영향을 받는다고 하였고, Hechtenberg and Beyersmann

(1991)은 증금속이 토끼 근세포체의 Ca^{++} -ATPase의 활성을 저해함으로써 ATP의 가수분해를 억제하는데 카드름과 납 보다는 수은이 ATP 분해 효소의 활성을 보다 심하게 억제하며 또한 Ca^{++} -pump의 강한 억제자로서 낮은 농도에서도 세포내 Ca^{++} 의 활동과 항상성을 저해한다고 보고하였다. 본 연구에서는 APT함량이 1.0 mg 투여군 이하에서는 대조군과 거의 같았으나 2.0mg 투여군에서는 크게 증가했는데 이것은 ATP가수분해 효소가 수은의 영향을 크게 받아 분해되지 못하고 세포질 내에 축적되기 때문인 것으로 생각된다.

결 론

HgCl₂의 투여량에 따른 7일 계배의 대뇌 신경세포분화에 미치는 영향을 규명하기 위하여 신경세포의 미세구조 변화를 전자현미경을 이용하여 관찰하였으며, 또한 탈수소효소의 활성도 및 ATP의 변화상을 분석한 결과는 다음과 같다.

대뇌 신경세포의 미세구조의 변화는 1.0mg 투여군에서는 핵막이 약간 불규칙하게 관찰되었고 mitochondria와 Golgi 복합체의 발달이 미약하였다. 2.0mg 투여군에서는 핵막의 파괴와 2중막의 분리, mitochondria의 cristae 파괴현상이 뚜렷하였으며, 조면소포체와 Golgi 복합체의 발달은 미약하였다.

탈수소효소 활성도는 수은의 투여량이 증가할수록 감소하는 현상을 보였는데 LDH의 활성도는 1.0mg 투여군이 85%로 감소하였고 2.0mg 투여군에서는 69%로 크게 감소현상을 보였다. MDH 활성도는 2.0mg 투여군에서 76%로 활성이 크게 감소하는 것으로 나타났다. 한편, SDH 활성도는 1.0mg 투여군에서 85%로 활성이 감소되었으며, 2.0mg 투여군에서는 74%로 활성이 크게 감소하였다.

ATP의 변화는 1.0mg 투여군 이하에서는 정상군과 유사한 변화는 없으나 2.0mg 투여군에서는 크게 증가하는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

Asztalos, B., and J. Nemcsok, 1985. Effect of pesticides on the LDH activity and isoenzyme pattern of carp (*Cyprinus carpio* L.) sera. *Comp. Biochem.*

Physiol. 82 : 217-219.

Bowie, L.J., 1978. In *methods in enzymology*, Academic press. NY. 57 : 26.

Brookes, N., 1988. Specificity and reversibility of the inhibition by HgCl₂ of glutamate transport in astrocyte cultures. *J. Neurochem.* 50 : 1117-1122.

Brookes, N., and D.A. Kristt, 1989. Inhibition of amino acid transport and protein synthesis by HgCl₂ and methylmercury in astrocytes: selectivity and reversibility. *J. Neurochem.* 53(4) : 1228-1237.

Chang, L.W., 1977. Neurotoxic effects of mercury—a review. *Environ. Res.* 14 : 329-373.

Chetty, C.S., V. McBride, S. Sands and B. Rajanna, 1990. Effects in vitro of mercury on rat brain Mg(++)-ATPase. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* 98(5) : 261-267.

Choe, R.S., C.N. Joo, C.K. Choi and J.W. Kim, 1985. Cell biological studies of the effect of aromatic amino acid on early development of chick embryo. *Korean J. Zool.* 28(4) : 257-273.

Choe, R.S., C.N. Joo, C.K. Choi, J.W. Kim and S.O. Joo, 1986. Cell biological studies on brain formation at the early stage of chick embryogenesis. *Korean J. Zool.* 29(3) : 215-233.

Choe, R.S., S.O. Joo, C.N. Joo, O.S. Oh and K.S. Shin, 1989. Cell biological study on factors affecting brain formation at early chick embryo (1) The effect of serotonin. *Korean J. Zool.* 32(1) : 55-73.

Clarkson, T.W., 1972. The pharmacology of mercury compounds. *Annu. Rev. Pharmacol.* 12 : 375-406.

Clarkson, T.W., 1986. Effects-general principles underlying the toxic action of metals, in *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier, Amsterdam. 2nd ed. (Friberg L., Nordberg G.F., and Vouk. V., eds), 128-148.

Emanuelsson, H., 1976. Serotonin in chick embryo cells during early morphogenesis. *J. Cell Biol.* 70 : 131.

Emanuelsson, H., and L. Palen, 1975. Effects of L-tryptophan on morphogenesis and growth in the

- early chick blastoderm. Wilhelm Roux Archives 177 : 1-17.
- Flockhart, I.R., and J.E. Casida, 1972. Relationship of the acylation of membrane esterases and proteins to the teratogenic action of organophosphorus insecticides and eserine in developing hen eggs. *Biochem. Pharmacol.* 21 : 2591-2603.
- Frank, E. Guthvie., and J. Jerome, 1980. Introduction to environmental toxicology: Perry, NY Elsevier North Holland 68 : 105.
- Geelen, J.A.G., J.A.M.A. Dormans and A. Verhoef, 1990. The early effects of methylmercury on the developing rat brain. *Acta Neuropathol.* 80 : 432-438.
- Hamburger, V., and H.L. Hamilton, 1951. A series on normal stages in the development of the chick embryo. *J. Morph.* 88 : 49-92.
- Hechtenberg, S., and D. Beyersmann, 1991. Inhibition of sarcoplasmic reticulum Ca (2+)-ATPase activity by cadmium, lead and mercury. *Enzyme.* 45(3) : 109-115.
- Holbrook, J.J., A. Lijas, S.J. Steindel and M.G. Rossmann, 1975. Lactate dehydrogenase. In "The Enzyme (Vol. XI), (Boyer, P.D. ed)". Academic Press Inc., Publishers, NY. 191-292.
- Joo, C.N., and J.H. Han, 1976. The effect of ginseng saponins on chicken's hepatic mitochondrial succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase and α -ketoglutarate dehydrogenase. *Korean Biochem. J.* 9 : 43-51.
- Joselow, M.M., and L.J. Goldwater, 1968. Absorption and excretion of mercury in man: XV. Occupational exposure among dentists. 17 : 39-43.
- Kerper, L.E., N. Ballatori and T.W. Clarkson, 1992. Methylmercury transport across the blood-brain barrier by an amino acid carrier. *Am. J. Physiol.* 262(5) : 761-765.
- Kim, D.E., K.B. Song and J.H. Sung, 1991. The evaluation of mercury accumulation released from amalgam restoration in human body. *J. Kyungpook Dentistry College.* 8(2) : 1-17.
- Kim, D.E., K.B. Song and Y.J. Kim, 1989. Mercury contents in hair of dental personnel and evaluation of various agents suppressing mercury vaporization. *J. Korean Dental Association.* 27(7) : 649-659.
- Kim, W.J., Y.K. Deung and R.S. Choe, 1988. Effects of malathion on the development of the chick embryo cerebrum. *Korean J. Zool.* 31(3) : 191-206.
- Larkfors, L., A. Oskarsson, J. Sundberg and T. Ebendal, 1991. Methylmercury induced alterations in the nerve growth factor level in the developing brain. *Brain-Res-Dev-brain-Res.* 62(2) : 287-291.
- Lee, K.M., 1988. Heavy metals in environment. *J. Catholic Medical College* 41(2) : 475-478.
- Merfield, D.P., and A. Taylor, 1976. Mercury intoxication in a dental surgery following unreported spillage. *Brit. Dent. J.* 141 : 179-185.
- Moller-Madsen, B., 1990. Localization of mercury in CNS of the rat. II. Intraperitoneal injection of methylmercuric chloride and mercuric chloride. *Toxicology & applied Pharmacology* 103 : 303-323.
- Moller-Madsen, B., and G. Danscher, 1986. Localization of mercury in CNS of the rat. 1. Mercuric chloride (HgCl₂) per os. *Environmental Research* 41 : 29-43.
- Moller-Madsen, B., and G. Danscher, 1991. Localization of mercury in CNS of the rat. *Toxicology & applied Pharmacology* 108 : 457-473.
- Olney, J.W., 1979. Excitotoxic amino acids and Huntington's disease, in *Advances in Neurology* (Chase T.N., Wexler N.S., and Barbeau A., eds), Raven Press, N.Y. 23 : 609-624.
- Palen, K., and L. Thomerby, 1981. Effects of L-phenylalanine on somite formation in the early chick embryos. *J. Embryol. Exp. Morph.* 161 : 175-190.
- Park, J.S., and C.W. Cha, 1984. A study on the effect of garlic on the toxicity of phenyl mercuric acetate in rats. *J. Korea Medical College* 21(3) : 49-55.
- Procter, N.H., A.D. Moscioni and J.E. Casida, 1976. Chicken embryo NAD levels lowered by ter-

- atogenic organophosphorus and methylcarbamate insecticides. *Biochem. Pharmacol.* 25 : 757-762.
- Rozynkowa, D., and B. Raczkiewicz, 1977. Destructive effect of methyl mercury chloride on human mitosis in living cells in vitro. *Mutation Research* 56 : 185.
- Schwarcz, R., and B. Meldrum, 1985. Excitatory aminoacid antagonists provide a therapeutic approach to neurological disorders. *Lancet* 2 : 140-143.
- Wood, J.M., A. Cheh and L.J. Dizikes, 1978. Mechanisms for the biomethylation of metals and metalloids. *Fed. Proc.* 16-21.
- Wulff, K., 1983. In *methods of enzymatic analysis*, 3rd ed. Verlag Chemic, Weinheim. 1 : 351-355.

FIGURE LEGENDS

Figs. 1-6. Electron micrographs of neurons in the cerebral cortex of chick embryo incubated for 7 days.

- Fig. 1.** Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of normal chick embryo. Neurons contain oval-shaped nucleus (N) with a prominent nucleolus (No). A lot of free ribosomes (R) are evenly scattered in the cytoplasm. Some small vesicles (arrows) are gathered in the lower side of the nucleus. M, mitochondria. $\times 19,000$
- Fig. 2.** Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of saline-injected chick embryo incubated for 7 days. Oval-shaped mitochondria (M) and Golgi complex (G) are observed. Chr, chromatin; N, nucleus; R, ribosomes. $\times 12,000$
- Fig. 3.** Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of 0.1mg/kg of mercuric chloride-injected chick embryo incubated for 7 days. A number of Golgi vesicles (GV) are observed in the middle of cytoplasm. A number of small vesicles are observed in the cleft between two neurons. M, mitochondria; A, axon; N, nucleus. $\times 11,000$
- Fig. 4.** Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of 0.5mg/kg of mercuric chloride-injected chick embryo incubated for 7 days. A number of mitochondria (M) and free ribosomes are evenly scattered in the cytoplasm. The multivesicular bodies (MB) are observed near the cell body. G, Golgi complex; N, nucleus; No, nucleolus. $\times 13,000$
- Fig. 5.** Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of 1.0mg/kg of mercuric chloride-injected chick embryo incubated for 7 days. Neurons contain irregular-shaped nucleus (N), with prominent nucleolus are prominent. A number of elongated mitochondria (M) and well developed Golgi complexes (G) are observed. No, nucleolus; Nt, neurotubules; SV, synaptic vesicles. $\times 12,000$
- Fig. 6.** Electron micrograph of neurons in the cerebral cortex of 2.0mg/kg of mercuric chloride-injected chick embryo incubated for 7 days. Nuclear envelope is more irregular than the other groups, and heterochromatins are well observed in the peripheral karyoplasm. G, Golgi complex; M, mitochondria; N, nucleus; NE, nuclear envelope. $\times 10,000$





