



## 납의 생체내 세포독성 연구: 랫드에서 혈장 DNA와 혈액화학치 변화

조준형 · 정상희 · 강환구 · 윤효인<sup>1</sup>

국립수의과학검역원 일반독성과, <sup>1</sup>충남대학교 수의과대학

### ***In Vivo* Cytotoxicity of Lead Acetate: Changes of 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, Korea

Received July 23, 2003; Accepted August 13, 2003

**ABSTRACT.** Changes of plasma DNA contents and serum biochemical values were measured in rats administered with lead acetate to investigate the *in vivo* cytotoxic effects of lead and examine the usefulness of these *in vivo* cytotoxicity changes as indicators of lead exposure and diagnosis of lead poisoning. Rats were given once intraperitoneally with lead acetate (1.6, 8, 40 and 200 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 lead acetate. Plasma DNA contents began to increase at 2 hours after the administration of lead acetate in the treatment groups of 8, 40 and 200 mg/kg b.w dose-dependently and significantly compared with control group. These DNA increases of each dosage group were continued until 24, 48 and 72 hours and the maximum levels of DNA (4.02, 10.67 and 14.10 times of control) were arrived at 8, 8 and 4 hours after the each treatment, respectively. Among 10 serum biochemical indicators, the activities of creatine kinase were increased to maximum level (6.55 times of control) at 2 hours after the administration and remained to be significantly higher than that of control by 8 hours in the treatment group of 200 mg, however, after 48 hours, the levels in the treatment groups of 40 mg above were lower than that of control. The values of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and lactate dehydrogenase were higher than that of control from 2 to 24 hours in the treatment group of 200 mg. Maximum levels of these enzymes were 3.34, 3.00 and 3.19 times of control, respectively. Both of alkaline phosphatase and triglyceride values in the treatment groups were decreased compared with control. In the case of alkaline phosphatase, the values were significantly decreased from 24 hours and more severely decreased until 72 hours in the treatment groups of 40 mg above ( $p < 0.01$ ). The minimum value was 0.36 times of control in the 200 mg group. The values of triglyceride were significantly decreased in the treatment groups of 40 mg above ( $p < 0.01$ ), but the values were not different significantly among the treatment groups. This study demonstrates that plasma DNA content and serum biochemical values such as aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase and triglyceride are valuable as biomarkers for exposure assessment and diagnosis of lead poisoning.

**Keywords:** Lead acetate, Plasma DNA, Blood biochemical values, SD rats.

## 서 론

최근 의약품, 농약 및 기타 화학물질들의 사용이 증가하여 환경중에 유해 화학물질이 오염될 가능성이 증가하고 있으며 따라서 중독기회도 증대되고 있는 실정이다. 그런데 인체 또는 가축에서의 화학물질 중독증의 진단은 주로 임상증상, 병리학적 소견 및 생화학적 검사 등으로써 이루어지고 있으나 이러한 진단방법들은 중독원인 화학물질들의 감별이 어렵거나 종종 생체에서가 아닌 폐사체에서 이루어지는 경우도 많다. 따라서 최근에는 임상증상 유발 수준 이하의 화학물질에 대한 노출에 의하여 일어나는 건강의 손상이나 독성을 조기에 정성적 또는 정량적으로 예측하고 평가할 수 있는 생체 지표에 대한 연구가 이루어지고 있다(Fox 등, 1988).

납은 동물체내에서의 독성 영향에 대하여 모든 유해금속 중에서 가장 잘 연구된 독성물질로서(Fowler 등, 1987) 그 발생원에는 페인트, 오염토양, 산업에서의 납분진, 자동차 배기가스 등이 포함된다(Sokol, 1989). 납은 위장관, 호흡기 및 피부 등을 통하여 흡수되어 초기에는 간, 콩팥 및 연조직에 분포하나 오랜 기간동안 노출되면 뼈 등에 침착과 축적이 일어난다. 납의 주된 독작용은 콩팥, 신경계, 조혈계 및 위장관계에 나타나 신장병증, 뇌질환, 빈혈 및 산통과 변비 등을 일으키며(Pappas 등, 1995) 최근에는 납은 신경교세포의 괴사 및 apoptosis를 유발하며 뇌 발육을 저해하고 정상적인 인지능 및 행동 발달을 지연시킨다고 보고되어 있다(Marchetti, 2003; Tang 등, 1996). 또한 납은 생식독성물질로서 정소의 기능과 정자생산에 영향을 미치며 태반 이행을 하여 태아독성을 일으키는 것으로 알려져 있다(Sokol, 1989).

납중독의 진단은 일반적으로 상황증거, 임상증상 및 부검소견, 생화학적 지표(체내 납함량 및  $\Delta$ -ALA dehydratase 활성) 등에 근거하여 이루어지고 있다(Fowler 등, 1987). 또한 생체내에서의 오줌 및 혈액 중의 coproporphyrin, uroporphyrin 및 protoporphyrin 등의 함량변화가 납에의 노출이나 중독을 검색하기 위한 biomarkers로서 유용하게 이용될 수 있음이 보고되어 있다(Fowler 등, 1987; Cho 등, 1998). 아울러 납은 생체내에서 잘 알려진 hepatomitogen이며 변이원성, 신장독성 및 면역독성 물질로서(Traore 등, 1999) 배양세포에서 생존율 및 증식을 억제, DNA 합성저하, lactate dehydrogenase(LDH) 누출 증가 등을 일으킨다고 보고되어 있다(Fischer와 Skreb, 1980). 이러한 사실들은 생명에 영향을 미치는 수준 이하의 납 노출에 의한 또는 폐사 이전의 시점에 생체내에서 세포독성을 검색할 수 있는 지표들을 확립하면 이들 지표들은 납의 생체내 세포독성에 미치는 영향과 납에의 노출

지표로서 활용가능성이 높음을 시사한다.

세포의 사망은 병리적 상태에서 그 정도가 다양하게 일어나며, 지금까지는 대체적으로 형 태학적 관찰에 의해 조직 또는 세포 수준에서 연구되어 왔다. 그런데 순환하는 세포의 체액중의 DNA는 세포사망의 단서가 되며, 혈장 DNA 측정은 생체내에서 세포사망현상을 정량적으로 관찰할 수 있는 지표로서의 가능성이 제시되었다(Bret 등, 1990; Cho 등, 2003). 즉, 생체내에서 세포의 사망현상을 관찰하는 새로운 방법으로 예민하고 특이성이 있는 세포의 DNA 정량법이 이용 가능하게 되었다. 그리고 화학물질의 세포독성 가능성을 평가하는데 alanine aminotransferase(ALT)(Cho 등, 2003; Pearson 등, 1978), aspartate aminotransferase(AST)(Cho 등, 2003; Pearson 등, 1978), alkaline phosphatase(ALP)(Cho 등, 2003; Pearson 등, 1978), creatine kinase(CK)(Cho 등, 2003; Svendsen 등, 1985), LDH(Traore 등, 1999; Fischer와 Skreb, 1980; Cho 등, 2003; Pearson 등, 1978) 등의 효소활성도와 blood urea nitrogen(BUN)(Cho 등, 2003; Peters 등, 1997), glucose(Cho 등, 2003; Peters 등, 1997), triglyceride(TG)(Cho 등, 2003; Natori 등, 1996) 등의 혈액화학치를 측정하는 것이 세포독성을 정량하는 지표로서 이용될 수 있음이 보고되어 있다. 그러나 납의 세포독성을 생체내에서 평가하기 위한 지표로서 납이 체액중의 DNA에 대한 영향과 효소활성도 등 혈액화학치 등에 미치는 영향에 관한 정보는 비교적 적다.

본 연구에서는 랫드에 납을 투여하여 경시별로 혈중의 DNA 함량과 혈액화학치를 조사하여 납이 생체내에서 세포독성에 미치는 영향과 이들의 변화가 납에의 노출지표로서의 활용성을 구명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 공시동물 및 납 투여

수의과학연구소 SPF 실험동물 사육실에서 분양받은 건강한 SD랫드(수컷)를 실험실(온도  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도 40~60%, 광주기 12시간, 정압 5.0~7.0) 내에서 2주간 순화시킨 후 체중  $200 \pm 20$  g의 랫드를 각 군당 5마리씩 실험에 사용하였다. 납 lead acetate, Sigma)은 증류수에 녹여 0.2  $\mu\text{m}$  멸균여과 후 체중 kg 당 0, 1.6, 8, 40 및 200 mg을 복강내로 1회 투여하였다.

### 혈액 채취, 혈장 및 혈청 분리

랫드에 납을 투여한 후 경시별(2, 4, 8, 24, 48 및 72시간)로 경정맥으로부터 채혈하여 혈장(100 unit/혈액 ml의 헤파린 처리) 및 혈청을 분리하여 혈장은 DNA 함량 측정

에 사용하였고, 혈청은 혈액화학치 측정에 사용하였다.

**혈장 DNA 함량 및 혈액화학치 측정**

혈장 중 DNA 함량은 Fournie 등(1986)이 보고한 Nick Translation법을 개량한 Cho 등(2003)의 방법(Fig. 1)으로 측정하였는데 이 방법의 표준정량곡선은 Fig. 2와 같이 각 DNA 용량별 5회 반복하여 얻은 평균±표준편차 값을 2차 polynomial fitting에 의하여 얻은 정량곡선으로서 결정 계수( $r^2$ )는 0.98( $p < 0.0001$ )이었다. 혈청 중 CK, AST, ALT,

LDH, ALP, albumin, total protein, BUN, glucose 및 TG 등의 혈액화학치 측정은 자동생화학분석기(Express550, Ciba Corning) 로 측정하였다.

**통계처리**

각 실험군마다 용량 및 경시별로 얻은 혈장 DNA함량 및 혈액화학치를 평균±표준오차로 표시하였고 Statistica (version 5.5) 통계프로그램을 이용하여 one-way ANOVA 를 실시하였고 유의한 차이가 인정되는 경우 대조군과 각

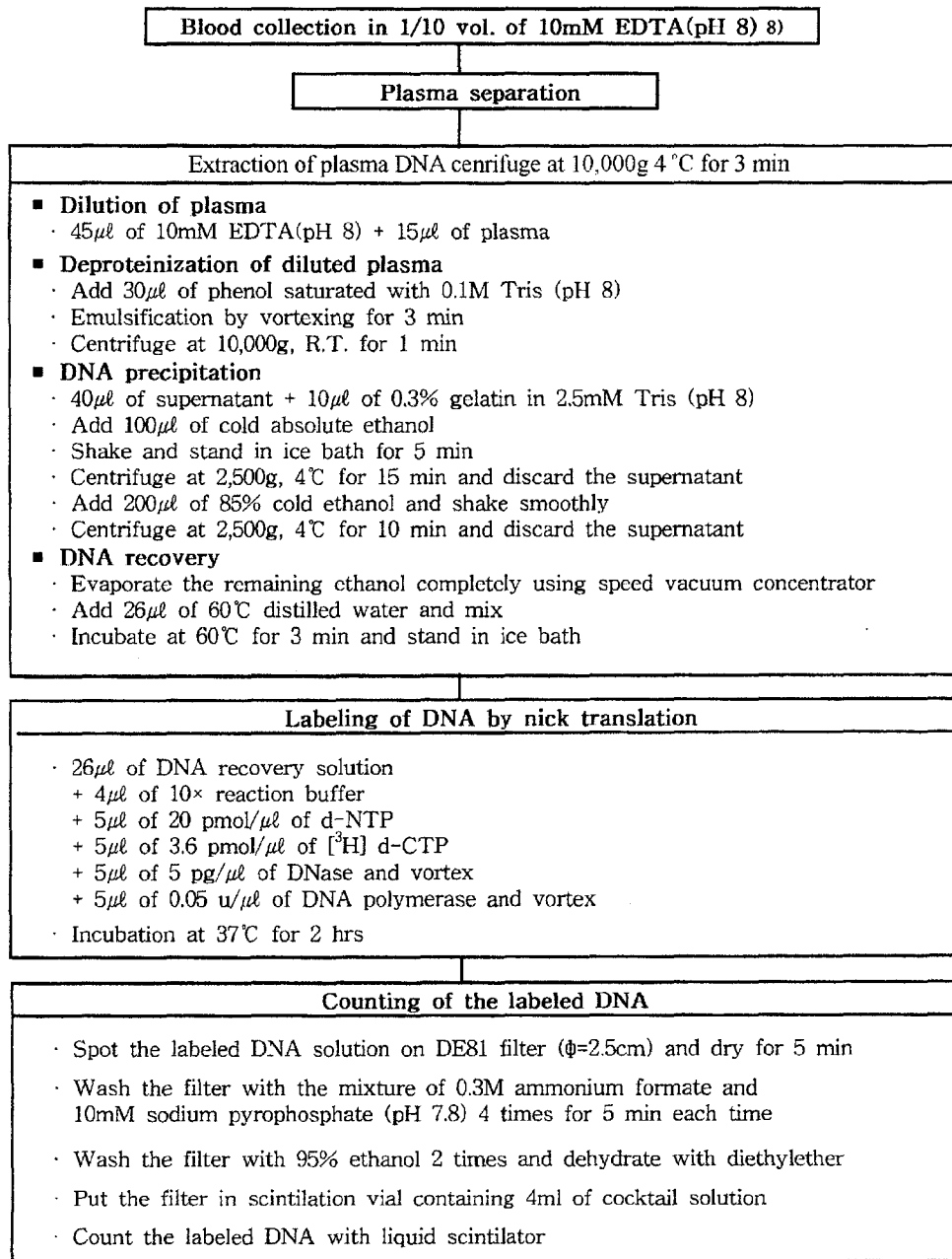
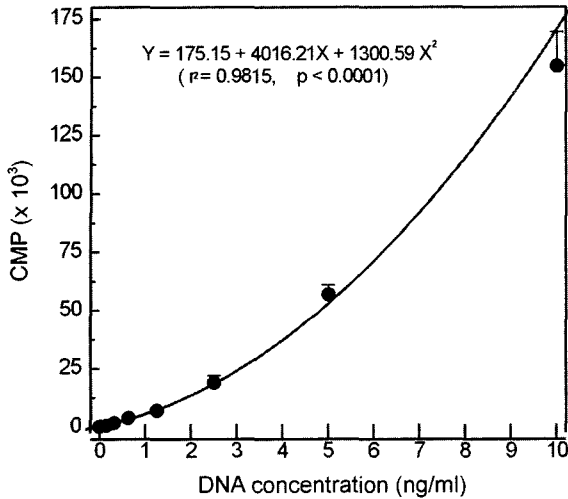


Fig. 1. Analysis of plasma DNA by nick translation method.



**Fig. 2.** Standard calibration curve for quantitation of plasma DNA. DNA ( $\lambda$  phage) was labeled with [<sup>3</sup>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±SD of 5 replica.

용량의 투여군 사이의 유의수준에 대하여  $p < 0.05$  및  $p < 0.01$ 의 수준으로 Duncan's post-hoc 검정을 실시하였다.

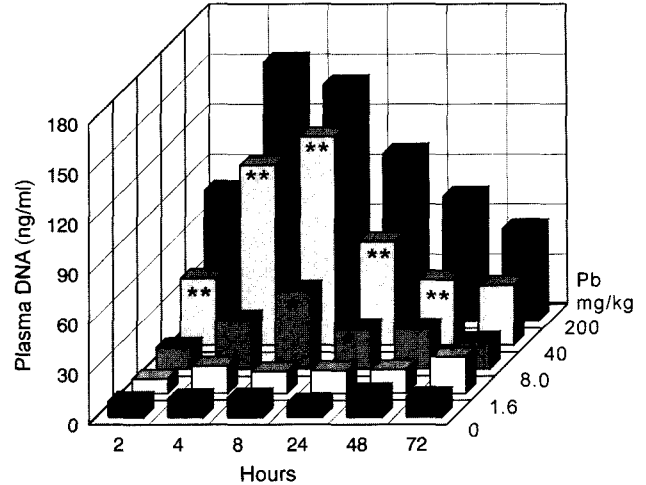
### 결 과

#### 납 투여 후 경시별 혈장 중 DNA 함량 변화

랫드에 납을 체중 kg당 0, 1.6, 8, 40 및 200 mg씩 복강내로 1회 투여한 후 경시별(2, 4, 8, 24, 48 및 72시간)로 혈장 중 DNA 함량을 측정된 결과 투여 후 2시간째부터 8 mg 이상 투여군에서 대조군에 비하여 용량의존적으로 증가하기 시작하여 투여 후 72시간째까지 높게 지속되었다. 용량별, 경시별 증가 수준은 8, 40 및 200 mg 투여군에서 각각 투여 후 24, 48 및 72시간째까지 대조군에 비하여 현저히 높았으며( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ), 최고 수준은 각각 대조군의 4.02배(투여 후 8시간째), 10.67배(투여 후 8시간째) 및 14.10배(투여 후 4시간째)로 현저히 높았다(Figs. 3, 4).

#### 납 투여 후 경시별 혈액화학치 변화

랫드에 납을 체중 kg당 0, 1.6, 8, 40 및 200 mg씩 복강내로 1회 투여한 후 경시별(2, 4, 8, 24, 48 및 72시간)로 혈청 중 CK, AST, ALT, LDH, ALP, albumin, total protein, BUN, glucose 및 TG 등의 혈액화학치를 측정된 결과, 납 투여에 의하여 혈청 중의 CK 활성도는 200 mg 투여군에서 투여 후 2시간째에 최고(대조군의 6.55배)



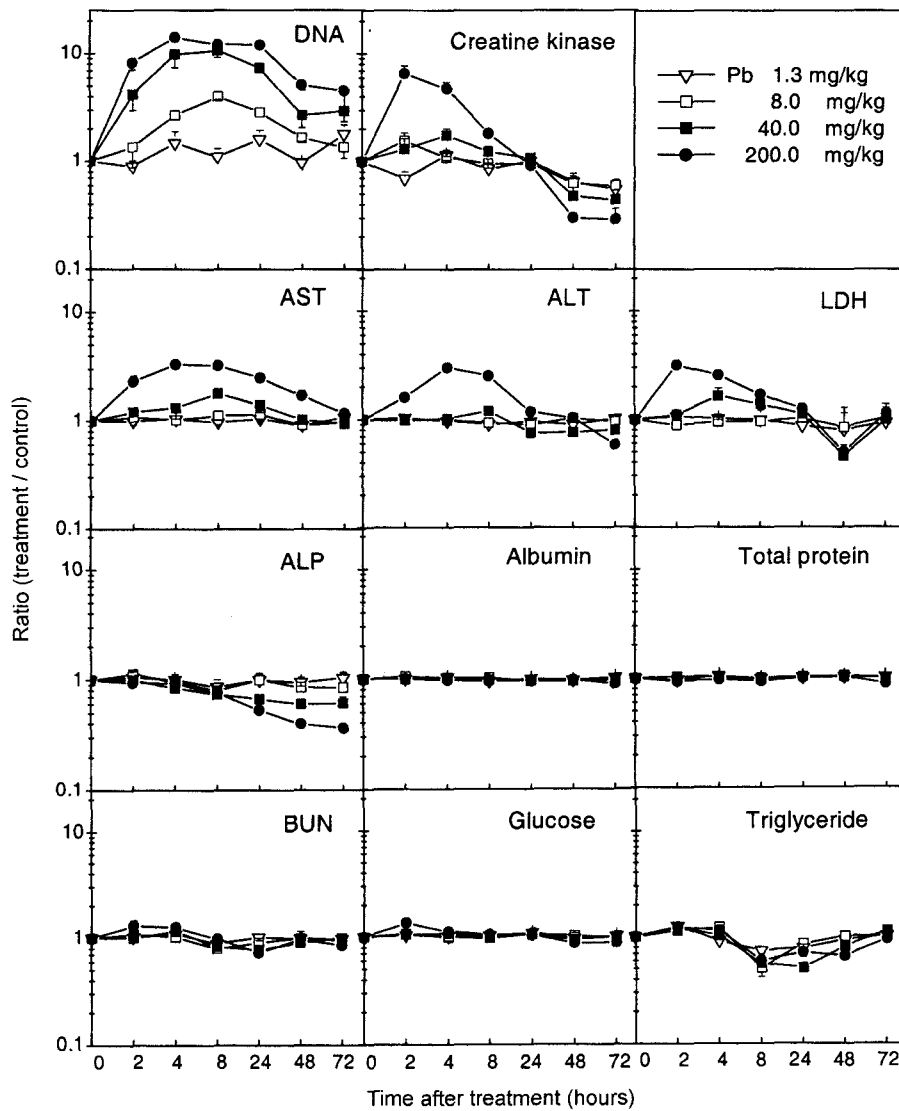
**Fig. 3.** Changes of plasma DNA levels in male SD rats by the administration of lead acetate (Pb). Plasma DNA levels were measured at each time point after the single intraperitoneal injection with each dose of Pb. The results are expressed as mean of 5 separate determinations. \*, \*\*; Significantly different from control (0 mg/kg, D.W.) at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.

로 증가한 후 점차로 감소하였으나 8시간째까지는 대조군에 비하여 높았으며( $p < 0.01$ ), 모든 용량의 투여군에서는 48시간 및 72시간째에 대조군에 비하여 감소하였다. AST, ALT 및 LDH 함량은 200 mg 투여군에서 투여 후 2시간째부터 24시간째까지 높았다. 이들 효소활성도 중 AST가 가장 높은 수준으로 오래 지속되었다. 이들 효소활성도의 최고증가율은 모두 대조군에 비하여 현저히( $p < 0.01$ ) 높았으나, 각각 대조군의 3.34, 3.00 및 3.19배로 큰 차이가 없었다. ALP 및 TG 함량은 감소하였는데 ALP의 경우 40 mg 이상 투여군에서 투여 후 24시간째부터 대조군에 비하여 유의하게 감소하여 72시간째까지 더욱 현저히 감소(200 mg 투여군은 대조군의 0.36배)하였다( $p < 0.01$ ). TG는 8 mg 이상 투여군에서 8시간째에 유의하게 ( $p < 0.01$ ) 감소하였으나 용량간에는 현저한 차이는 없었다(Table 1 및 Fig. 4).

### 고 찰

산업이나 환경으로부터 유래하는 화학물질에 의한 질병의 예방은 그 화학물질에 의한 독성이 아직 회복될 수 있는 단계 또는 적어도 대상기관의 기능을 손상시키기 전에 그 독성 효과를 검출할 수 있는 능력에 크게 의존한다(Cardenas 등, 1993).

모든 임상 및 실험적 상황에서 혈장 DNA의 증가는 세포 사망현상과 관계가 있으며 혈장 DNA 수준은 세포 병



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

변 정도와 상관도가 높다(Bret 등, 1990). 많은 물질들이 DNA에 손상을 주어 급성세포독성을 일으키는데(Catoni 등, 1984) 세포독성 물질 투여 후 혈장 DNA와 투여량간에 상호관련성이 있다고 알려져 있다. 따라서 혈장 DNA 정량은 생체내에서의 세포사망현상과 발생을 관찰하는데 새로운 방법이며 이 방법의 민감도는 LD0 이하의 낮은 독성유발량에 대하여도 검출할 수 있을 정도로 높다(Catoni 등, 1984).

세포가 LDH와 같은 cytosolic enzymes을 보지할 능력이 없다는 것은 비가역적인 plasma membrane의 손상을 반영하고 일반적으로 세포사망의 지표로서 받아들여진다(Nieminen 등, 1992). 따라서 화학물질의 세포독성

을 검색하기 위하여 각종 효소중 ALT(Cho 등, 2003; Pearson 등, 1978), AST(Cho 등, 2003; Pearson 등, 1978), ALP(Cho 등, 2003; Pearson 등, 1978), CK(Cho 등, 2003; Svendsen 등, 1985), LDH(Traore 등, 1999; Fischer와 Skreb, 1980; Cho 등, 2003; Pearson 등, 1978) 등의 체액중으로의 누출의 민감성과 장기 특이성에 대해 연구되어왔다. 그리고 BUN(Cho 등, 2003; Peters 등, 1997), glucose(Cho 등, 2003; Peters 등, 1997), TG(Cho 등, 2003; Natori 등, 1996) 등의 세포대사 관련 혈액화학치를 측정하여 세포독성을 평가하여 왔다.

본 연구에서는 랫드에 납을 투여하여 경시별로 혈중의 DNA 함량과 혈액화학치를 조사하여 납이 생체내에서 세

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

Item (unit)	Dose (mg/kg)	Times after the administration (hours)					
		2	4	8	24	48	72
CK (U/l)	0	286 ± 49	247 ± 49	201 ± 26	236 ± 56	298 ± 23	172 ± 50
	1.6	198 ± 31	282 ± 32	171 ± 17	236 ± 23	194 ± 22**	94 ± 22
	8	445 ± 81	266 ± 12	191 ± 3	224 ± 22	186 ± 43**	103 ± 11
	40	372 ± 95	431 ± 64	248 ± 29	254 ± 27	142 ± 14**	76 ± 4*
	200	1872 ± 332**	1169 ± 169**	364 ± 30**	217 ± 18	89 ± 7**	50 ± 12*
AST (U/l)	0	71.7 ± 2.4	73.3 ± 6.3	69.8 ± 7.2	69.5 ± 2.7	86.6 ± 2.8	83.7 ± 5.4
	1.6	71.6 ± 5.4	76.1 ± 3.6	67.7 ± 2.9	72.6 ± 2.3	79.1 ± 1.3	89.9 ± 8.8
	8	78.0 ± 4.0	74.6 ± 2.1	78.4 ± 7.7	79.9 ± 3.5	79.1 ± 4.3	80.9 ± 2.9
	40	86.8 ± 8.9	96.4 ± 0.9*	125.0 ± 3.0**	97.6 ± 2.4**	89.1 ± 5.1	78.8 ± 5.0
	200	164.9 ± 21.0**	244.7 ± 16.2**	226.5 ± 8.1**	173.1 ± 7.9**	148.3 ± 17.0**	98.3 ± 4.7
ALT (U/l)	0	38.2 ± 3.5	38.2 ± 1.0	37.9 ± 1.3	41.5 ± 3.4	36.0 ± 2.1	37.8 ± 3.9
	1.6	39.8 ± 3.1	36.9 ± 3.5	34.3 ± 0.1	39.4 ± 2.5	32.4 ± 2.2	38.5 ± 3.7
	8	838.1 ± 4.1	37.7 ± 2.3	35.3 ± 1.9	37.1 ± 3.6	36.8 ± 1.8	36.1 ± 2.6
	40	37.4 ± 2.2	39.1 ± 2.2	45.5 ± 1.7	31.2 ± 1.1*	27.5 ± 0.4	30.2 ± 3.1
	200	61.3 ± 7.6**	114.6 ± 7.5**	95.6 ± 9.4**	49.0 ± 3.5	37.2 ± 5.6	22.1 ± 2.9**
LDH (U/l)	0	189 ± 26	222 ± 37	200 ± 55	236 ± 54	338 ± 79	238 ± 48
	1.6	202 ± 30	226 ± 20	199 ± 46	205 ± 22	269 ± 118	223 ± 45
	8	168 ± 22	211 ± 9	192 ± 23	243 ± 35	286 ± 148	249 ± 57
	40	210 ± 23	366 ± 65*	279 ± 27	263 ± 31	154 ± 6	238 ± 53
	200	602 ± 41**	568 ± 34**	340 ± 9*	297 ± 29	168 ± 27	272 ± 57
ALP (U/l)	0	474 ± 42	487 ± 10	554 ± 69	564 ± 16	601 ± 42	545 ± 56
	1.6	502 ± 75	490 ± 59	479 ± 76	564 ± 61	570 ± 69	567 ± 69
	8	537 ± 29	466 ± 19	443 ± 38	567 ± 77	517 ± 11	465 ± 48
	40	473 ± 15	413 ± 49	412 ± 31	377 ± 11**	364 ± 31**	334 ± 46**
	200	447 ± 51	455 ± 1	422 ± 37	300 ± 8**	241 ± 17**	198 ± 39**
Albumin (g/dl)	0	3.6 ± 0.1	3.6 ± 0.1	3.9 ± 0.1	4.1 ± 0.1	4.3 ± 0.1	3.9 ± 0.1
	1.6	3.6 ± 0.1	3.7 ± 0.1	3.7 ± 0.1	4.1 ± 0.1	4.2 ± 0.1	4.0 ± 0.1
	8	3.8 ± 0.1	3.7 ± 0.2	4.0 ± 0.1	3.9 ± 0.1	4.1 ± 0.1	3.9 ± 0.1
	40	3.6 ± 0.1	3.7 ± 0.1	3.8 ± 0.1	4.0 ± 0.1	4.1 ± 0.1	3.8 ± 0.2
	200	3.6 ± 0.1	3.5 ± 0.1	3.7 ± 0.1	4.0 ± 0.1	4.2 ± 0.1	3.5 ± 0.2*
Total protein (g/dl)	0	6.1 ± 0.2	6.3 ± 0.4	6.6 ± 0.2	6.8 ± 0.3	6.7 ± 0.2	6.7 ± 0.2
	1.6	5.9 ± 0.2	6.6 ± 0.3	6.5 ± 0.1	6.9 ± 0.3	6.9 ± 0.1	6.9 ± 0.1
	8	6.3 ± 0.3	6.5 ± 0.3	6.6 ± 0.2	7.0 ± 0.3	6.9 ± 0.1	6.7 ± 0.2
	40	6.3 ± 0.3	6.4 ± 0.1	6.4 ± 0.2	7.0 ± 0.2	7.0 ± 0.1	6.7 ± 0.2
	200	5.7 ± 0.3	6.1 ± 0.3	6.2 ± 0.4	6.8 ± 0.2	6.8 ± 0.1	6.0 ± 0.1*
BUN (mg/dl)	0	13.2 ± 0.3	13.6 ± 1.0	13.1 ± 1.6	18.2 ± 1.2	16.5 ± 1.0	19.1 ± 1.1
	1.6	13.6 ± 0.7	14.8 ± 1.0	11.6 ± 0.3	18.4 ± 0.5	16.3 ± 0.7	18.5 ± 0.8
	8	14.3 ± 0.8	13.9 ± 0.3	10.4 ± 0.4	16.5 ± 0.8	16.4 ± 0.8	18.0 ± 1.3
	40	13.2 ± 1.2	15.7 ± 0.8	10.9 ± 0.5	14.1 ± 0.4*	14.9 ± 1.0	19.0 ± 0.7
	200	17.2 ± 2.0*	17.1 ± 1.3*	12.9 ± 1.2	13.3 ± 1.9**	16.0 ± 2.9	16.2 ± 0.2
Glucose (mg/dl)	0	157 ± 7	157 ± 9	159 ± 11	156 ± 9	160 ± 4	164 ± 3
	1.6	163 ± 11	159 ± 12	164 ± 11	171 ± 16	154 ± 5	168 ± 10
	8	168 ± 6	155 ± 11	155 ± 4	165 ± 9	165 ± 9	163 ± 3
	40	165 ± 6	169 ± 25	159 ± 7	164 ± 10	150 ± 2	165 ± 13
	200	212 ± 21**	175 ± 7	168 ± 7	161 ± 18	140 ± 16	145 ± 5
TG (mg/dl)	0	93 ± 13	116 ± 4	100 ± 11	130 ± 25	100 ± 15	111 ± 25
	1.6	117 ± 6	106 ± 23	74 ± 12	102 ± 11	93 ± 9	114 ± 16
	8	106 ± 6	142 ± 9	51 ± 9**	111 ± 27	101 ± 13	114 ± 11
	40	113 ± 16	119 ± 4	56 ± 6**	66 ± 13	81 ± 18	127 ± 20
	200	115 ± 8	133 ± 16	60 ± 9**	93 ± 16	66 ± 7	106 ± 12

Rats were administered once intraperitoneally with each dose of lead acetate. Values are the mean ± SE of 5 replica. \*, \*\*: Significantly different from control (0 mg/kg, D.W) 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.

포독성에 미치는 영향과 이들의 변화가 납에의 노출지표로서의 활용성을 구명하고자 하였다. 랫드에 납을 체중 kg당 0, 1.6, 8, 40 및 200 mg씩 복강내로 1회 투여한 후 경시별(2, 4, 8, 24, 48 및 72시간)로 혈장 중 DNA 함량 및 혈청 중 CK, AST, ALT, LDH, ALP, albumin, total protein, BUN, glucose 및 TG 등의 혈액화학치를 측정된 결과, 혈장 중 DNA 함량은 투여 후 2시간째부터 8, 40 및 200 mg 투여군에서 대조군에 비하여 용량의존적으로 증가하기 시작하여 각각 투여 후 24, 48 및 72시간째까지 대조군에 비하여 현저히 높았으며( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ), 최고 수준은 각각 대조군의 4.02배(투여 후 8시간째), 10.67배(투여 후 8시간째) 및 14.10배(투여 후 4시간째)로 현저히 높았는데 이 결과는 랫드에 납을 투여하여 혈장 DNA 함량을 조사한 보고가 거의 없어 정확한 비교는 어려우나 간장세포(Sieg와 Billings, 1997) 또는 랫드(Columbano 등, 1983)에 납을 투여하면 세포 배양액 또는 혈중 DNA 함량이 증가한다는 보고와는 유사하며 또한 수은을 랫드에 투여시 혈장 DNA 함량과 수은 투여량 간에 양의 상관관계가 관찰되었다는 연구보고(Bret 등, 1990; Cho 등, 2003)의 경우와 같이 상호관련성이 높은 것으로 사료된다. 아울러 혈장 DNA는 랫드에 납을 40 및 200 mg/kg 1회 투여 후 72시간째에도 높게 유지되는 것으로 보아 납에 급성으로 노출될 경우 중독에 대한 유용한 지표임을 알 수 있다. 그리고 혈청 중의 CK 활성도는 200 mg 투여군에서 투여 후 2시간째에 최고(대조군의 6.55배)로 증가한 후 점차로 감소하였으나 8시간째까지는 대조군에 비하여 높았으며( $p < 0.01$ ), 모든 용량투여군에서는 48시간 이후에는 대조군에 비하여 감소하였고 AST, ALT 및 LDH 함량은 200 mg 투여군에서 투여 후 2시간째부터 24시간째까지 높았다. 이들 효소활성도의 최고증가율은 모두 대조군에 비하여 현저히( $p < 0.01$ ) 높았으나, 각각 대조군의 3.34, 3.00 및 3.19배로 큰 차이가 없었다. ALP 및 TG 함량은 감소하였는데 ALP의 경우 40 mg 이상 투여군에서 투여 후 24시간째부터 대조군에 비하여 유의하게 감소하여 72시간째까지 더욱 현저히 감소(200 mg 투여군은 대조군의 0.36배)하였다( $p < 0.01$ ). TG는 8 mg 이상 투여군에서 8시간째에 현저히( $p < 0.01$ ) 감소하였으나 용량간에는 유의한 차이가 없었다. 이 결과는 납이 랫드에서 혈청 중 ALT를 증가시켰다는 보고(Columbano 등, 1983) 이외에는 납이나 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(Cho 등, 2003; Svendsen 등, 1985), AST(Cho 등, 2003; Pearson 등, 1978), ALT(Cho 등, 2003;

Pearson 등, 1978), LDH(Traore 등, 1999; Fischer와 Skreb, 1980; Cho 등, 2003; Pearson 등, 1978), BUN(Cho 등, 2003; Peters 등, 1997) 및 glucose(Cho 등, 2003; Peters 등, 1997) 함량을 증가시키고, ALP(Cho 등, 2003; Pearson 등, 1978), total protein 및 TG(Cho 등, 2003) 함량을 저하시켰다는 보고들에 비추어 볼 때 납은 생체내에서 간장, 신장을 포함한 각종 실질장기에 세포독성을 일으키고 나아가서는 혈액화학치에 변화를 가져오는 것으로 사료된다. 그러나 이들 혈액화학치는 혈장 중 DNA 함량만큼 민감하게 영향을 받지 않으나 CK와 ALP의 경우 경시별 특징적인 변화양상이 관찰되는 점을 보아 이들 혈액화학치는 중독증 진단시 의미있는 지표로서 이용될 수 있을 것으로 사료된다. 또한 납은 조혈기능을 억제하고 적혈구수를 감소시키는 물질로서(Lavicoli 등, 2003) 본 연구에서 납에 의해 증가된 혈액중 DNA는 생체내 각종 실질세포 및 조혈세포의 손상에서 기인하는 것으로 추정된다. 납에 노출시 혈액중 protoporphyrin의 증가와 노증  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydrase(ALAD)의 증가 및 혈액 또는 실질장기중 납 함량의 증가는 납 중독 또는 노출에 대한 특이적인 지표로서 알려져 있으나(Cho 등, 1998; Osweiler, 1996) 이들 지표들과 혈장중 DNA 함량간의 직접적인 비교 및 세세한 고찰은 각 지표들에 대한 연구시 실험조건 등의 차이로 어려움이 있으나 protoporphyrin 및  $\delta$ -ALAD가 heme 합성과정에 관여하거나 생성되는 물질임을 감안할 때 혈중 DNA는 혈구세포 또는 실질세포의 파괴 등의 세포독성의 산물로서 이들 지표들간에는 상호관련성이 매우 높을 것이라 예상된다. 아울러, 세포독성지표들의 유용성, 대표성 및 민감도 등을 검증하기 위하여 세포독성지표들과 세포병리조직학적 소견간의 상관성 규명을 위한 추가적인 연구가 요구된다. 본 연구를 통하여 여러 가지 세포독성 지표중 혈장 DNA는 납에 의한 세포독성을 가장 조기에 그리고 민감하게 감지할 수 있는 지표임을 알 수 있었고 납에 단회 노출 후 24시간 이후에는 그 증가된 정도가 다소 약화되었으나 72시간까지 지속적으로 높게 유지되는 것으로 보아 납은 장기에 축적되어 지속적으로 생체의 DNA 항상성 유지기능을 억압하는 것을 알 수 있었다. 또한 혈청중 CK는 납에의 노출 후 24시간째를 중심으로 증감양상이 바뀌며 ALP는 8시간째까지는 유의한 차이가 없다가 이후 용량의존적인 감소양상을 나타내므로 이러한 특징적인 양상은 납노출 및 중독증을 검색하는 지표로서 유용하게 이용될 수 있음을 알 수 있었다.

이상의 본 연구에서의 결과와 여러 가지 보고들을 종합하여 볼 때 납(lead acetate)은 세포내에서 DNA의 항상성을 방해하여 세포독성 또는 세포사망을 일으키고 혈장

중 DNA 함량 및 혈액화학적치를 변화시키며 이러한 변화들은 생체내에서 납에의 노출지표 및 납중독 진단지표로서 활용성이 높을 것으로 사료된다.

## 결 론

랫드에 납을 체중 kg당 0, 1.6, 8, 40 및 200 mg씩 복강내로 1회 투여한 후 경시별(2, 4, 8, 24, 48 및 72시간)로 혈장 중 DNA 함량 및 혈액화학적치를 측정된 결과 혈장 중 DNA 함량은 투여 후 2시간째부터 8, 40 및 200 mg 투여군에서 대조군에 비하여 용량의존적으로 증가하기 시작하여 각각 투여 후 24, 48 및 72시간째까지 대조군에 비하여 현저히 높았으며( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ), 최고 수준은 각각 대조군의 4.02배(투여 후 8시간째), 10.67배(투여 후 8시간째) 및 14.10배(투여 후 4시간째)로 현저히 높았다. CK 활성도는 200 mg 투여군에서 투여 후 2시간째에 최고(대조군의 6.55배)로 증가한 후 점차로 감소하였으나 8시간째까지는 대조군에 비하여 높았으나( $p < 0.01$ ), 40 mg 이상 투여군에서는 48시간 이후에는 대조군에 비하여 용량의존적으로 감소하였다. AST, ALT 및 LDH 함량은 200 mg 투여군에서 투여 후 2시간째부터 24시간째까지 높았다. 이들 효소활성도의 최고증가율은 모두 대조군에 비하여 유의하게( $p < 0.01$ ) 높았으나, 각각 대조군의 3.34, 3.00 및 3.19배로 큰 차이가 없었다. ALP 및 TG 함량은 감소하였는데 ALP의 경우 40 mg 이상 투여군에서 투여 후 24시간째부터 대조군에 비하여 유의하게 감소하여 72시간째까지 더욱 현저히 감소(200 mg 투여군은 대조군의 0.36배)하였다( $p < 0.01$ ). TG는 8 mg 이상 투여군에서 현저히( $p < 0.01$ ) 감소하였으나 용량간에는 유의한 차이가 없었다. 이러한 변화들은 생체내에서 납에의 노출지표 및 납중독 진단지표로서 활용성이 높을 것으로 사료된다.

## 참고문헌

- Bret, L., Lule, J., Alary, C. and Appolinaire-Pilipenko, S., Pourrat, J.P. and Fournie, G.J. (1990): Quantitation of blood plasma DNA as an index of *in vivo* cytotoxicity. *Toxicology*, **61**, 283-292.
- Cantoni, O., Christie, N.T., Swann, A., Drath, D.B. and Costa, M. (1984): Mechanism of  $HgCl_2$  cytotoxicity in mammalian cells. *Mol. Pharmacol.*, **26**, 360-368.
- Cardenas, A., Roels, H., Bernard, A.M., Baron, R., Buchet, J.P., Lauwerys, R.R., Rosello, J., Hotter, G., Mutti, A., Franchini, I., Fels, L.M., Stolte, H., De Broe, M.E., Nuyts, G.D., Taylor, S.A. and Price, R.G. (1993): Markers of early renal changes induced by industrial pollutants. I Application to workers exposed to mercury vapour. *Brit. J. Indust. Med.*, **50**, 17-27.
- Cho, J.H., Jeong, S.H., Ku, H.O. and Yun, H.I. (1998): Urinary and blood porphyrin profiles as biomarkers of lead exposure in rats. *RDA J. Veterinary Sci.*, **40**, 43-49.
- Cho, J.H., Jeong, S.H., Kang, H.G. and Yun, H.I. (in press): Effects of  $HgCl_2$  on the changes of plasma DNA content and blood biochemical values in rats. *Korean J. Vet. Res.*
- Columbano, A., Ledda, M., Sirigu, P., Perra, T. and Pani, P. (1983): Liver cell proliferation induced by a single dose of lead nitrate. *Am. J. Pathol.*, **110**, 83-88.
- Fischer, A.B. and Skreb, Y. (1980): Cytotoxicity of manganese for mammalian cells *in vitro*-comparisons with lead, mercury and cadmium. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg[B]*, **171**, 525-537.
- Fournie, G.J., Gayral-Taminh, M., Bouche, J.P. and Conte, J.J. (1985): Recovery of nanogram quantities of DNA from plasma and quantitative measurement using labeling by nick translation. *Anal. Biochem.*, **158**, 250-256.
- Fowler, B.A., Oskarsson, A. and Woods, J.S. (1987): Metal- and metalloid-induced porphyrinurias: Relationship to cell injury. *Annals New York Academy of Science*, 172-182.
- Fox, G.A., Kennedy, S.W., Norstron, R.J. and Wigfeld, D.C. (1988): Porphyrin in herring gulls: a biochemical response to chemical contamination of Great Lakes food chains. *Environ. Toxicol. Chem.*, **7**, 831-839.
- Lavicoli, I., Carelli, G., Stanek, E.J., Castellino, N. and Calabrese, E.J. (2003): Effects of low doses of dietary lead on red blood cell production in male and female mice. *Toxicol. Lett.*, **137**, 193-199.
- Marchetti, C. (2003): Molecular targets of lead in brain neurotoxicity. *Neurotox. Res.*, **5**, 221-236.
- Natori, Y., Igawa, Y., Nakao, N. and Natori, Y. (1996): Cytotoxicity of sera from rats with puromycin aminonucleoside nephrosis. *Nephron*, **73**, 258-263.
- Nieminen, A.L., Gores, G.J., Bond, J.M. and Imberti, R. (1992): A novel cytotoxicity screening assay using a multi-well fluorescence scanner. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **115**, 147-155.
- Osweller, G.D. (1996): Toxicology, Williams & Wilkins, USA, pp. 192-195.
- Pappas, J.B., Ahlquist, J.T., Allen, E.M. and Baker, W. Jr. (1995): Oral dimercaptosuccinic acid and ongoing exposure to lead: effects of heme synthesis and lead distribution in a rat model. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **133**, 121-129.
- Pearson, A.W. (1978): Biochemical changes produced by Fusarium T-2 toxin in the chicken. *Res. Vet. Sci.*, **24**, 92-97.
- Peters, M.M., Jones, T.W., Monks, T.J. and Lau, S.S. (1997): Cytotoxicity and cell-proliferation induced by the nephrocarcinogen hydroquinone and its nephrotoxic metabolite 2,3,5-(tris-glutathion-S-yl)hydroquinone. *Carcinogenesis*, **18**, 2393-2401.
- Sieg, D.J. and Billings, R.E. (1997): Lead cytokine-mediated oxidative DNA damage in cultured mouse hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **142**, 106-115.
- Sokol, R.Z. (1989): Reversibility of the toxic effect of lead on the male reproductive axis. *Reprod. Toxicol.*, **3**, 175-180.
- Svendson, O., Hojelse, F. and Bagdon, R.E. (1985): Tests for local toxicity of intramuscular drug preparations: compari-



- son of *in vivo* and *in vitro* methods. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **56**, 183-190.
- Tang, H.W., Yan, H.L., Hu, X.H., Liang, Y.X. and Shen, X.Y. (1996): Lead cytotoxicity in primary cultured rat astrocytes and schwann cells. *J. Appl. Toxicol.*, **16**, 187-196.
- Traore, A., Bonini, M., Dano, S.D. and Creppy, E.E. (1999): Synergistic effects of some metals contaminating mussels on the cytotoxicity of the marine toxin okadaic acid. *Arch. Toxicol.*, **73**, 289-295.