

Diazinon을 投與한 rats에 있어서 肝의 病理組織學的 變化에 關한 研究

홍 사 옥·권 영 일*·정 규 혁**

성균관대학교 약학과, 성균관대학교 산업보건학과*, 국립과학수사연구소**

Histopathological Effects of Diazinon in Rat Liver

Sa Uk Hong, Young Il kwon* and Ku Hyuk Jung**

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University

*College of Health Industry, Sung Kyun Kwan University**

*National Institute of Scientific Investigation***

ABSTRACT

The toxicity and histopathologic changes of diazinon (O, O-diethy-O- (2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinyl)phosphorothioate) was investigated in rat. Rat was treated with diazinon (100 mg/kg/day) by oral administration for 12 days. The experimental results were summarized as follows.

Biochemical parameters such as ALT, AST, LDH and glucose in serum were significantly increased and hematological parameters such as Hb, Hct and PLT in blood were slightly increased in treated groups. Also the activities of serum cholinesterase were very significantly decreased in treated groups.

In the histopathological changes, the normal lobular architectural pattern of the liver was well preserved in all treated groups. However, vacuolation or fatty change were represent in hepatocytes. Sections of liver from rats treated with diazinon for 3 and 6 days contained slight lipid infiltration in the form of small droplets randomly distributed that were graded minimal(+) or moderate(++) compared with the respective control condition. After 9 days, there were numerous small and large vacuoles in the terminal hepatic venule and perlobular areas of many serial sections of these rats indicative of fatty infiltration which were graded moderate(++) and severe(+++). After 12 days, fatty infiltration progressed periportal tract areas and graded severe(+++) and very severe(++++) in experimental groups. Note absence of cellular necrosis or inflammation.

서 론

유기인제 살충제의 하나인 Diazinon(o, o-diethyl-o-(2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinyl) phosphorothioate, M.W. 276)은 동물과 식물에 기생하는 진드기 및 곤충의 살충제로서 개발된 유기인제중의 하나이다. 이는 농업용 살충제뿐만 아니라 가정에서 위생용품의 살균제로서 사용하고 있으며 Spectracide, Sarolex, Diazitol, Basudin이라는 상품명으로 시판되고 있다. 또한 diazinon은 유효량과 중독량사이의 차이가 커서 어느정도 안전성이 있으며 일반적으로 유기인제 살충제중 널리 사용되고 있다. 일반적으로 유기인제 살충제는 유기염소계 살충제보다 지속성이 약하나 직접 cholinesterase(이하ChE)를 억제하는 작용이 있다.

Murray등¹⁾은 diazinon을 잉어에 투여할때 잉어의 간 및 췌장에서 cytochrome P-450함량의 변화를 조사하였고 Ware등²⁾은 diazinon의 달팽이에 대한 치사량을 조사하였다. Mazzella등³⁾은 물고기에서 protein과 핵산에 대한 영향을 조사하였는데 DNA, RNA와 protein등은 감소하였으며, 유리 amino acid는 증가하였음을 보고 하였다. Anthony등⁴⁾은 diazinon을 rat에 투여할때 체중감소와 ChE의 활성감소를 보고 하였으며 Galal 과 Meller 등⁵⁻⁶⁾은 ChE의 활성저하현상과 혈당의 증가는 G-6-Pase의 활성은 변화가 없었다고 보고하였다.

Diazinon의 대사속도는 매우 빠르며 diazinon의 대사산물 및 미대사산물이 간, 근육, 뇌에서보다 신장에서 매우 높게 나타났다고 보고된바 있다⁷⁾. Diazinon의 ChE 억제작용은 male mice의 erythrocytes에서 보다 plasma에서 높았으며 male rat에서는 erythrocytes에서 더 높았다고 하였다⁷⁾.

유기인제 살충제의 포유동물에서의 병리조직학적 소견에 관한 연구는 그리 많지 않으며 주로 어류조직에서 약간의 조사가 이루어지고 있다⁸⁻⁹⁾. Anthony 등⁴⁾은 저농도의 diazinon을 rat에 28주간 투여하여 간장에 대한 병리학적 소견을 관찰하였다. 이에 본 저자들은 고농도의 diazinon를 12일간 rat에

경구투여 할때 혈액 및 혈청학적 변화와 간장에서의 병리조직학적인 소견을 관찰하였기에 이에 보고하는 바이다.

실험방법

1. 실험동물 및 약물투여 방법

체중 200 g 내외의 건강한 웅성 Sprague-Dawley 계 rat를 한국실험동물센터에서 분양받아 1주일간 실험실 환경에 적응시킨후 1 개군을 10 마리로 하여 polycarbonate cage 내에서 사육하였다. 사료는 시판배합 고형사료(신촌 사료 주식회사)를 급식하였으며 급수는 수도수를 자유로이 섭취하도록 하였다. 실험군은 다음과 같이 구분하여 약물을 1일 1회씩 12일간 경구로 투여 하였으며 희생전 24시간 물만 공급하고 절식시켰다.

1) 대조군

Corn oil 를 5.0 ml/kg씩 경구투여 하였다.

2) 약물 투여군

Diazinon을 corn oil에 현탁하여 100 mg/kg을 대조군과 동일한 방법으로 투여하였다.

2. 체중, 간장 및 신장의 중량측정

약물투여 전의 체중과 최종약물투여 24 시간 후의 체중을 측정하여 약물투여 전후의 체중의 증감 비율을 산출하였다. 체중을 측정한 후 rat를 ether로 마취시키고 신속히 복부정중선을 절개하여 복부대동맥에서 채혈하였다. 채혈후 간장 및 신장은 원형을 유지하면서 saline용액으로 관류하여 혈액을 제거한 후에 적출하고 saline용액으로 깨끗이 씻어 여지로 수분을 제거한 다음 즉시 무게를 측정하였다⁴⁴⁾.

3. 혈액상 및 혈청생화학 변화측정

복부대동맥에서 채혈한 혈액의 일부는 Coulter counter로 혈액상을 조사를 하였으며, 일부는 혈청을 분리하여 blood autoanalyzer로 혈청생화학 검사를 하였다.

4. 간의 조직학적변화 측정을 위한 염색

적출한 간장은 10% formalin에 즉시 고정된 다음 Autotechnicon으로 탈수 및 cleaning 과정을 거친후 파라핀을 침투 시켜 paraffin block을 만든후 광학현미경으로 관찰하기 위하여 microtome으로 6 μm로 절편하여 hematoxylin & eosin 염색(이하 H&E)¹¹⁾을 시행하였다. 또한 neutral fat의 존재를 확인하기 위하여 8 μm로 동결절편하여 oil red O 염색¹²⁾을 시행하였다.

실험결과

Diazinon의 중독증상은 말초 또는 중추신경계에서의 ChE를 억제하여 타액분비 과다, 실노 및 경련등의 독성작용을 나타낸다고 보고¹³⁻²⁰⁾되어 있으며 본 실험에서도 Diazinon를 투여할 때 흥분, 실노, 경련등의 증상을 볼 수 있었다.

1. LD₅₀ 치의 측정

Diazinon를 corn oil에 용해하여 rat에 경구투여하고 24 시간 후의 치사유무를 관찰하여 Behrens-Karber법에 의하여 LD₅₀치를 구한결과 diazinon의 LD₅₀치는 385 mg/kg 으로 측정되었다. Diazinon의 급성경구 독성은 mice에서 LD₅₀이 82 mg/kg 이며 rat에서는 300-850 mg/kg 이라고 하며 rat에서 급성경피독성은 LD₅₀이 >2.150 mg/

kg이라고 한다²¹⁾. 본 실험에서도 diazinon의 급성경구독성은 이와 유사하였다.

2. 체중, 간장 및 신장의 중량변화

체중변화는 Table 1. 에서 보는바와 같다. 대조군의 체중증가율이 3 일에 0.46%, 6 일에 3.39% 이며 9 일에는 5.18%, 12 일에는 14.25%로 나타났으며 diazinon을 3 일 투여한 군에서는 0.42%, 12 일 투여한 군에서는 11.33%가 증가하여 대조군과 유사하였다. 간장 및 신장의 중량 변화는 Table 2에서 보는 바와 같다. Diazinon 투여군에서 체중에 대한 간장의 중량비도 약간씩 증가하는 경향이 있었다.

각 군에서 12 일간의 평균 사료 섭취량은 Table 3에서 보는 바와 같다. 대조군에 비해 diazinon 투

Table 1. Effect of diazinon on body weight gain in rat.

Group	Days	Initial b.w	Final b.w	Gained (%)
Control	3	215.4±4.95	216.4±5.27	0.46
	6	212.6±3.65	219.8±4.95	3.39
	9	214.2±5.23	225.3±5.21	5.18
	12	210.6±4.75	240.6±4.95	14.25
Diazinon	3	213.8±4.15	214.7±5.07	0.42
	6	216.4±5.43	225.2±6.43	4.07
	9	210.6±4.72	231.9±6.02	10.11
	12	215.6±5.92	239.6±3.29	11.33

Each value is mean±SE Diazinon(100 mg/kg)

Table 2. Effect of diazinon on liver and kidney weight per body weight ratio (%) in rats.

Groups	Days	Liver W.	Liver W./B.W.	Kidney W.	Kidney W./B.W.
Control	3	6.74±0.24	3.11±0.08	1.70±0.07	0.78±0.05
	6	6.82±0.32	3.10±0.05	1.76±0.09	0.80±0.06
	9	7.25±0.28	3.21±0.07	1.81±0.04	0.80±0.03
	12	7.46±0.33	3.10±0.09	1.84±0.05	0.78±0.05
Diazinon	3	6.82±0.23	3.18±0.09	1.69±0.09	0.79±0.05
	6	6.95±0.26	3.09±0.10	1.76±0.12	0.78±0.06
	9	7.49±0.29	3.23±0.09	1.84±0.08	0.79±0.04
	12	7.66±0.27	3.20±0.07	1.99±0.09	0.83±0.06

Each value is the mean±SE
W; Weight B.W; Body weight

Diazinon(100 mg/kg)

여군에서 체중의 감소와 비례하여 약물투여 횟수가 증가할수록 사료섭취량이 약간씩 감소하는 경향을 나타내었다.

Table 3. Effect of diazinon on average total intake in rats.

Groups	Days	Total Intake (g)			
		3	6	9	12
Control		349	705	1074	1394
Diazinon		325	661	985	1324

Diazinon (100 mg/kg)

3. 혈액상 및 혈청 생화학적 변화

1) 혈액상의 변화

Diazinon 투여에 따른 혈액상의 변화는 Table 4에서 보는 바와 같다. Hb, Hct 및 PLT 값이 약물의 투여횟수에 따라 점차 증가하는 경향을 나타냈으나 유의성은 없었다. WBC, RBC, MCH, 및 MCV 등의 타항목은 별 변화가 없었다.

2) 혈청상의 생화학적 변화

Diazinon 투여에 따른 혈청생화학적 변화는 Table 5, 6에서 보는 바와 같다.

Aspartate aminotransferase (AST) 및 alanine aminotransferase (ALT) 활성변화는 약물의 투여

횟수가 증가할수록 대조군에 비하여 점차 증가하였으며 특히 12일 투여군에서는 유의성있는 증가를 나타내었다. Alkaline phosphatase (ALP) 활성은 3일투여에서부터 대조군에 비해 증가하는 경향을 나타냈으며 12일 투여군에서는 유의성있는 증가를 나타내었으며 latic dehydrogenase (이하 LDH) 활성에 있어서는 diazinon을 투여할때 투여횟수가 증가함에 따라 증가하였으며 특히 9일 투여군에서 매우 유의성있게 증가하였다. 또한 glucose와 creatinine phosphokinase는 9일 부터 유의한 증가를 관찰할 수 있었다.

Diazinon 투여에 따른 serum cholinesterase의 활성변화는 Table 6, 7에서 보는 바와 같이 3일 투여군에서부터 매우 유의성있게 감소하였다. 그 밖의 triglyceride (TG), cholesterol, 및 blood urea nitrogen (BUN) 량은 투여 횟수가 증가함에 따라 약간의 감소가 있었으나 유의성은 없었다.

4. 간의 조직학적 변화

지방축적의 정도는 Table 8에서와 같으며 diazinon의 영향으로 간 지방의 축적을 유의하게 관찰할 수 있었다.

1) Hematoxylin & Eosin상에서의 소견

대조군에서 특징적인 fatty change는 발견되지

Table 4. Effect of diazinon on blood parameters in rats.

Groups	Days	WBC [10 ⁹]	RBC [10 ⁶]	Hgb [g/dL]	Hct [%]	MCV [um ³]	MCH [pg]	MCHC [g/dL]	PLT [10 ⁹]
Control	3	9.2±2.17	7.0±0.41	13.9±0.61	39.7±1.89	54.2±1.87	20.1±0.69	32.7±0.81	729±53.4
	6	10.7±1.08	7.3±0.51	13.3±0.90	41.0±2.69	55.1±1.61	18.2±0.37	33.3±0.54	764±72.9
	9	9.7±1.86	7.4±0.47	14.1±0.52	41.8±2.91	52.9±1.21	18.0±1.21	33.5±1.87	810±59.6
	12	10.0±2.34	7.5±0.28	13.1±0.53	39.5±1.49	52.4±1.78	19.7±0.47	33.9±0.41	806±82.4
Diazinon	3	10.4±0.13	6.8±0.43	14.1±0.97	43.5±2.75	50.6±3.71	19.5±2.93	32.4±1.54	803±93.6
	6	9.4±0.29	7.8±0.92	13.9±1.25	41.6±3.14	53.2±3.77	18.2±3.33	33.8±3.07	872±49.5
	9	9.0±0.47	7.7±0.87	14.1±2.01	42.6±2.96	54.9±2.78	18.8±4.11	33.7±3.09	824±57.6
	12	10.1±1.96	7.0±0.64	15.9±1.78	46.5±3.72	53.4±4.11	17.9±2.57	33.6±4.13	874±49.4

Each value is the mean±SE

Diazinon (100 mg/kg)

Hgb: hemoglobin, Hct: hematocrit, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT: platelet.

Table 5. Effect of diazinon on biochemical parameters in serum of rats.

Groups	Days	AST [U/L]	ALT [U/L]	LDH [U/L]	ALP [U/L]	Glucose [mg/dL]	TG [mg/dL]	Cholest. [mg/dL]	BUN [mg/dL]
Control	3	76.2±4.75	42.0±3.21	428.5±29.65	245.5±17.63	147.1±8.39	58.4±4.75	50.9±6.24	19.2±1.05
	6	79.7±5.41	41.9±2.98	445.4±31.43	252.7±19.32	150.8±7.51	59.5±5.21	55.4±5.78	20.3±1.27
	9	74.7±4.05	42.5±3.43	450.7±24.51	256.4±17.49	147.7±8.47	49.9±3.72	59.4±4.96	19.1±1.09
	12	78.2±7.21	45.2±4.01	464.4±31.54	236.2±16.72	152.6±7.05	55.6±6.05	51.8±3.47	17.9±1.65
Diazinon	3	75.7±9.21	42.9±4.25	481.4±28.04	287.8±12.09	165.4±5.41	52.5±3.29	60.5±4.72	26.3±1.72
	6	77.4±7.59	51.8±3.72	489.5±31.46	286.7±17.43	169.5±4.29	49.9±4.02	51.4±5.21	19.5±1.63
	9	74.3±6.72	52.9±2.48*	541.2±36.44*	294.5±14.75	187.6±5.95*	43.6±5.49	54.6±4.03	20.0±0.98
	12	97.2±4.95*	69.5±4.77*	591.4±31.72*	344.2±12.65*	193.4±4.76**	41.3±7.21	52.7±5.21	18.4±0.91

Each value is the mean±SE Diazinon (100 mg/kg)
 Significant difference between control & treated groups(*; P<0.05, **; P<0.01)
 AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase,
 LDH: lactic dehydrogenase, ALP: alkaline phosphatase,
 TG: triglyceride, Cholest: cholesterol.

Table 6. Effect of diazinon on biochemical parameters in serum of rats.

Groups	Days	CK [IU]	Total Protein [g/dL]	Albumin [g/dL]	Globulin [g/dL]	A/G ratio	Bilirubin [mg/dL]	Creatinine [mg/dL]
Control	3	232.8±22.2	5.9±0.15	2.1±0.0	3.9±0.17	0.55±0.02	0.25±0.02	0.32±0.04
	6	214.8±14.1	9.4±0.17	2.3±0.1	4.2±0.29	0.55±0.02	0.29±0.09	0.33±0.05
	9	218.2±20.4	6.6±0.21	2.2±0.1	4.6±0.24	0.48±0.02	0.25±0.03	0.36±0.07
	12	211.0±25.6	6.8±0.14	2.3±0.1	4.5±0.27	0.53±0.04	0.26±0.03	0.41±0.08
Diazinon	3	254.6±14.8	5.9±0.27	2.3±0.0	3.7±0.30	0.61±0.07	0.23±0.04	0.30±0.03
	6	232.7±15.1	5.8±0.36	2.2±0.1	3.6±0.22	0.63±0.03	0.25±0.07	0.37±0.07
	9	255.8±66.8*	6.0±0.49	2.2±0.1	3.7±0.23	0.63±0.03	0.21±0.10	0.38±0.04
	12	273.5±38.5**	6.4±0.21	2.1±0.4	4.4±0.26	0.46±0.04	0.21±0.09	0.39±0.07

Each value is the mean±SE Diazinon (100 mg/kg)
 Significant difference between control & treated groups(*; P<0.05, **; P<0.01)
 CK: creatinine phosphokinase.

않았다.

3일 투여군에서는 작은 공포들이 일부분의 간소엽에서 종말간세정맥과 문맥주위 (periportal area) 로 넓게 나타났으며, 6일 투여군에서는 작은 공포와 중간크기의 공포 (lipid vacuoles)들이 특징없이 간조직 전반에 걸쳐 나타났으며 3일군에 비해 지방축적이 증가됨을 알 수 있었다.

9일 투여군에서는 작은 공포와 큰 공포들이 심하게 나타났으며 일부 실험군에서는 문맥역 (portaltract)주변으로 모여드는 경향이 나타났으며 12

일 투여군에서는 대부분의 실험군에서 포말성지방변성 (foamy degeneration)이 매우 심하게 나타났음을 관찰할 수 있었다.

2) Oil Red O상에서의 소견

Neutral fat의 존재를 확인하기 위한 본 염색에서는 H & E상에서 잘 관찰되지 않는 fat의 존재를 잘 관찰할 수 있었다. 역시 대조군에서의 유의한 변화를 관찰할 수 없었으며 3일 투여군에서는 H & E상에서 보여준 소견과 같이 일부세포에서 적은 지방소적들이 특징없이 넓게 나타났다. 6일

Table 7. Effect of diazinon on serum cholinesterase activity in rats.

Group	Days	Control	Diazinon	Gained(%)
	3	95.44±5.27	38.82±4.15**	-59.32
	6	98.65±3.65	21.44±5.43**	-78.26
	9	94.92±5.23	14.65±4.72**	-84.56
	12	94.32±4.75	16.62±5.92**	-82.38

Each value is mean±SE Diazinon(100 mg/kg)
Significant difference between control & treated groups (**; P<0.01)

ChE: cholinesterase.

Table 8. Lipid accumulation grade by effects of diazinon in rat livers.

	O	+	++	+++	++++
3일	3	4	3		
6일		4	5	1	
9일		2	7	1	
12일		1	2	6	1

The abbreviations used are: O, absent; +, minimal; ++, moderate; +++, severe; +++++, very severe. (magnification ×400)

투여군에서는 fatty change가 약간 진행된 상태로 넓게 전반적으로 나타났으며, 9일 투여군에서는 지방축적이 심하게 일어났으며 문맥주변대(periportal zone)에 분포되는 현상을 보여 주었다. 12일 투여군에서는 대부분의 조직들에서 심한 지방축적이 보여졌으며 대부분의 실험군에서 문맥역(portaltract)으로 모여드는 현상을 나타냈다.

고 찰

Diazinon의 급성경구 독성은 mice에서 LD₅₀이 82 mg/kg 이며 rat에서는 300-850 mg/kg 이라고 보고되어 있으며 rat에서 급성경피독성은 LD₅₀이 >2.150 mg/kg 이라고 한다²⁶⁾. 본 실험에서도 diazinon의 LD₅₀치는 385 mg/kg 으로 中 정도의 독성을 나타낸다고 사료된다. Anthony등⁴⁾은 diazinon을 rat에 투여할때 지방간의 형성과 체중 감소를 나타냈다고 보고하였다. 본 실험에서는 이

와 유사한 지방간 형성을 관찰할 수 있었지만 체중 감소 현상은 발견되지 않았다.

Snow등²⁶⁾은 유기인계 살충제인 DDVP를 개에 경구투여할 때 WBC 및 Hct가 증가한다고 보고한 바 있으나 본 실험에서 증가하는 경향을 보이나 유의한 변화는 발견되지 않았다.

Dikshith등²⁷⁾은 독성의 초기단계에서 병리적인 조직손상이 일어나기 이전에 막투과성의 변화가 생길경우 AST의 활성 변화없이 ALT의 활성이 증가된다고 보고하였다. Srivastava등²⁸⁾에 의하면 혈중 AST 및 ALT의 증가는 cellular damage 및 plasma membrane 투과성의 변화를 의미하는 것으로 알려져 있는데 본 실험에서도 AST와 ALT가 증가함으로써 이와 유사한 변화가 일어났으리라고 사료된다. Conish등²⁹⁾에 의하면 일반적으로 LDH의 혈중으로의 분비는 조직손상의 지표가 되며 간 손상에 의해서는 혈청 LDH₅ isoenzyme 활성이 증가되고 신장의 손상에 의해서는 LDH₁ 과 LDH₂ isoenzyme 활성이 증가된다고 보고하였다. 본 실험에서도 LDH의 활성이 증가하였는데 이것은 아마도 diazinon투여에 의하여 어느정도 간 및 신장등의 조직에 손상이 유발되기 때문이 아닌가 사료된다. 이미 대부분의 유기인계 살충제가 cholinesterase를 억제한다는 사실은 잘 알려져 있다¹⁵⁻¹⁷⁾.

Glucose량의 변화는 LDH의 활성변화와 유사하게 유의성 있는 증가를 나타내었다. 그러나 홍등³⁰⁾에 의하면 carbaryl 50 mg/kg 및 100 mg/kg 를 rat에 3주간 경구투여할때 glucose의 함량의 유의성 있는 변화를 관찰할 수 없다고 보고하였다.

유기인계 살충제의 cholinergic 작용기전은 일차적으로 acetylcholine esterase를 inhibition하고 이차적으로 acetylcholine의 가수분해를 억제한다. 이러한 효소들의 억제작용 후에 acetylcholine은 모든 cholinergic 신경말단(cholinereceptors)과 plasma내에 acetylcholine이 축적되며 이들 신경 전달물질이 과도하게 축적되면 중추, 말초의 acetylcholine receptor 흥분에 의해 심혈관계의 장애와 호흡억제가 있으며 이것은 산소결핍에 의한 사망의 원인이 될 수도 있다³¹⁻³²⁾.

Diazinon은 microsomal enzyme에 의해 cholinesterase를 억제하는 대사산물인 diazoxon, hydroxydiazoxon과 hydroxydiazinon으로 산화²²⁻²⁴⁾되어지는 것으로 알려져 있으며 diazoxon은 조직내에서 microsomal과 soluble enzyme들에 의해 신속하게 분해된다고 보고²⁵⁾되어 왔으며 이로 인해 혈액과 조직내에서 diazinon의 대사산물을 검출하는 것은 매우 어려운 것으로 알려져 있다. 본 실험에서도 cholinesterase의 활성이 diazinon 투여에 따라 매우 유의성 있게 감소하는 현상을 나타내었다.

동물에 있어서 유기용매에 급성으로 노출되었을 때 간에 대한 장애로는 간세포내의 지방축적 (steatosis), 간세포 괴사, 간기능 부전 등이 나타나며 만성적으로 노출되었을 때 간경변성 변화나 혹은 신생물로의 변화가 발생³⁹⁾할 수 있다. 이러한 유기용매의 간에 대한 독성작용은 직접 간손상을 일으키는 군과 특정대사를 방해함으로써 간손상을 일으키는 군으로 분류³⁴⁾할 수 있다. 대부분의 유기농약들에서 치사량이하의 양으로 만성노출되었을 때 오는 간장애는 세포내 지방축적으로 특징지어지는 형태를 갖게되며 lipid accumulation은 carbon tetrachloride,³⁵⁾ phosphorus,³⁶⁾ chlorinated hydrocarbon³⁷⁾ 살충제 같은 독성물질들의 일반적인 간장애형태로 알려져 있다. Fat change는 지방대사를 수행하는 주요기관인 간에서 흔히 볼 수 있으나 때때로 심장조직, 근육, 신장 그리고 다른 기관에서도 발생하는 것으로 알려져 있다. 정상 상태에서 lipid는 지방성조직이나 음식물로부터 간으로 수송된다. 지방성조직으로부터 오는 lipid는 free fatty acid의 한가지 형태로만 방출되거나 수송된다. Carbon tetrachloride나 phosphorus와 같은 유기용매는 apoprotein의 합성을 감소시키기 때문에 중성지방의 lipoprotein으로의 전환이 충분하지 못하므로 lipid accumulation의 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서 사용한 diazinon도 역시 lipoprotein의 간에서의 합성을 방해함으로써 lipoprotein의 방출을 저해하는 것으로 추측된다. Diazinon에 대한 병리조직학적인 연구는 주로 물고

기를 중심으로하여 아주 제한적인 보문³⁸⁻³⁹⁾이 있다. Rat가 낮은 농도의 diazinon(0.5 mg/kg b.w.)에 만성으로 노출되었을 때 초기에는 fatty change의 증거가 약간 나타났으며 초기에는 문맥주변에 fat vacuole이 나타나고 24주후에는 종말간세정맥 (terminal hepatic venule)쪽으로 이동된다는 연구결과⁴⁰⁾가 있으나 고농도의 diazinon을 투여한 본 실험에서는 투여 초기에 fat vacuole이 간소엽에 넓게 산재되었으나 투여 말기에는 문맥역 (portal tract)으로 모이는 특이한 변화를 관찰할 수 있었다.

Diazinon에 대한 전자현미경적인 소견으로는 mitochondria근처에서 fat droplet이 관찰되었으며 핵이나 핵인의 변화는 발견되지 않았다는 보고⁴⁰⁾가 있다. 물고기를 diazinon에 치사량이하로 노출시켰을 때 세포괴사와 liver cord disarray, 간세포의 cytoplasm에 공포가 나타났다는 보고⁴¹⁻⁴²⁾가 있으며 이것은 rat에서의 실험과 유사하다 하겠다.

결 론

혈액생화학적인 조사에서 AST, ALT, LDH, glucose값이 9일 투여군부터 유의하게 증가하였고 serum cholinesterase의 활성저하는 모든 투여군에서 매우 유의성 있게 감소하였다. diazinon투여군에서 대체로 작은 크기의 lipid들이 축적되어 있었다. 3일 투여군에서는 7마리의 간에서 지방축적이 약하게 관찰되었고, 6일 투여군과 9일 투여군 모든 실험동물에서는 중정도의 고른 지방축적이 관찰되었으며 9일군에서는 문맥역 주위 (periportal zone)로 모여드는 현상을 나타냈다. 12일 투여군에서는 전반적으로 정도가 심하며 작고 큰 지방들이 심하게 존재함을 관찰할 수 있었다. 또한 12일째 실험군의 간에서는 포말성변성 (foamy degeneration)을 특징적으로 관찰할 수 있었으며 대부분의 지방들이 문맥 (portal tract)쪽으로 이동됨을 확인할 수 있었다. 투여횟수가 증가할수록 간에서 지방축적이 증가하였으며 diazinon의 독성작용도 증가함을 알 수 있었다. 이상의 실험결과 diazinon은

cholinesterase의 활성을 저해하여 독성을 나타내며 간세포내에 지방이 유의하게 증가되는 것을 관찰할 수 있었다.

REFERENCES

- Murray, H.E. and Guthrie, R.K.; Effects of carbaryl, diazinon and malathion on native aquatic populations of microorganisms. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 24, 535-542 (1980)
- Ware, G. E.; Chemicals used in the control of invertebrate-animals without backbones, In pesticides, theory and Application. pp, 41-46 (1983)
- Mazzella, R.B., Howard, J.W. and Elsea, J.R.; Toxicity of O, O-diethyl O-(2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidyl) phosphorothioate Diazinon, *J. Agric. Food chem*, 3 (12), 1017-1021 (1955).
- Anthony, J., Banister, E. and Oloffes, P.C.; Effect of sublethal levels of diazinon: Histopathology of liver. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 37, 501-507 (1986).
- Galal, E.E., Sammaan, H.A., Nour, E.I.din S., Kamel, S, Saied, M. El., Zawahry, A.J.; Studies on the acute and subchronic toxicities of some commonly used anticholinesterase insecticides in rats. *J. Drug Res.* 9, 1-17 (1971).
- Meller, D., Frazer, I. and Kryger, M.; Hyperglycaemia in anticholinesterase poisoning. *Can. Med. Assoc. J.* 124, 745-748 (1981).
- Tomokuni, K., Hasegawa, T., Hirai, Y., Koga, N.: The tissue distribution of diazinon and the inhibition of blood cholinesterase activities in rats and mice receiving single intraperitoneal dose of diazinon. *Toxicology.* 37, 91-98 (1985)
- Lopez, D.E., Carrascal, E.; Sensitivity of human lymphocyte chromosome to diazinon at different times during cell culture. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 38, 125-130 (1987).
- Patel, P.B., Chakrabarti, C.H.; Changes in the activity of some hepatic enzymes during organophosphorus insecticide aceptate (Orthene) treatment in albino rats. *Ind. J. Physiol. Pharmacol.* 25, 311-316 (1982).
- Casida, J.E.; Mixed-function Oxidase involvement in the biochemistry of insecticide synergist. *J. Agric. Food Chem.* vol. 18, No. 5, pp 753-772 (1970)
- Dezna, C.S., Babara, B.H.: General procedure for regressive hematoxylin and eosin stain using either Delafield's, Ehrlich or Harris's formula. Theory and practice of histotechnology. The C.V.Mosby Company. pp 143-4 (1980).
- Dezna, C.S., Babara, B.H.: Oil red O isopropanol method. Theory and practice of histotechnology. The C.V.Mosby Company. pp 204-5. (1980).
- Palmer, J.S., DVM, MPH; Toxicologic evaluation of microencapsulated formulation of Diazinon Applied dermally to Cattle. Received for publication Jan 3, (1978).
- Hoffman, D.J., Eastin, W.C.; Effect of Malathion, Diazinon and Parathion on mallard Embryo development and cholinesterase activity. *Environmental Research.* 26, 472-485 (1981).
- Misawa, M., Doull, J., Kitos, P.A., Uyeki, E.M.: Teratogenic effects of cholinergic insecticides in chick embryos I. Diazinon treatment on Acetylcholinesterase and choline acetyltransferase activities. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 57, 20-29 (1981)
- Eto, M., Seifert, J., Engel, J.L., Casida, J.E.: Organophosphorus and methylcarbamate teratogens: Structural requirement for inducing embryonic abnormalities in chickens and Kynurenine formamidase inhibition in mouse liver. *Toxicol. and Appl. Pharmacol.* 54, 20-30 (1980)
- Patterson, T. A., Terry, A.V., Jr & Kosh, J.W.:

- Prevention of physostigmine-, DFP-, and diazinon-induced acute toxicity by monoethylcholine and N-aminodeanol. *Br. J. Pharmacol.* 97, 451-460 (1989)
18. Meier, E.P., Dennis, W.H., Rosencrane, A.B., Randall, W.F., Cooper, W.J., Warner, M. C.; Sulfotepp, A toxic impurity in formulations of Diazinon. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 23, 158-164 (1979)
 19. Tsuda, T., Aoki, S., Kojima, M., Harada, H.; Bioconcentration and excretion of diazinon, IBP, malathion and fenitrothion by carp. *Comp. Biochem. Physiol.* 96c, no. 1, 27-31 (1990)
 20. Arlyoshi, T., Shiiba, S., Hasegawa, H., Arizono, K.; Profile of metal-binding proteins and heme oxygenase in red carp treated with heavy metals, pesticides and surfactants, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 44, 643-649 (1990)
 21. Robens, J.F.: Teratologic studies in carbaryl, diazinon, noria, disulfiram and thiram in small laboratory animals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 15, 152-163 (1969)
 22. Shishido, T., Usui, K., Fukami, J.,; Oxidative metabolism of diazinon by microsomes from rat liver and cockroach fat body. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2, 27 (1972)
 23. Janes, N.F., Machin, A.F., Quick, M.P., Rogers, H., Mundy, D.E. and Cross, A.J.: Toxic metabolites of diazinon in sheeps, *J. Agric. Food Chem.* 21, pp 121 (1973)
 24. Machin, A.F., Rogers, H., Cross, A.J., Quick, M. P., Howells, L.C. and Janes, N.H.: Metabolic aspects of the toxicology of diazinon I. Hepatic metabolism in the sheep, cow, pig, guinea-pig, rat, turkey chicken and duck. *Pestic. Sci.*, 6, p 461 (1975)
 25. Yang, R.S.H., Hodgson, E. and Dauterman, W. C.: Metabolism in vitro of diazinon and diazoxon in rat liver. *J. Agric. Food Chem.*, 19, p 10 (1971)
 26. Snow, D. H., B. V. Sc., B. Sc. (Vet), and Watson, A. D. J., B. V. Sc., M. R. C. V. S.: The acute toxicity of Dochlorvos in the dog. *Aust. Vet. J.* 49, 113-119 (1973)
 27. Dikshith, T.S.S., Datta, K.K., Raizada, R.B. and Kushwah, H.S.: Effects of paraquat dichloride in male rabbits. *Indian Journal of Experimental Biology*, 17, 926-928 (1979)
 28. Srivastava, A. K., Raina, R., Chaudhary, R. K., and Malik, J. K.: Acute toxicity and biochemical alterations in rats after single oral exposure to Dochlorvos. *Pesticides*. 23 (2), 35-40 (1989)
 29. Cornish, H.H., Barth, M.L. and Dodson, V.N.: Isozyme profiles and protein patterns in specific organ damage. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 16, 411-423 (1970)
 30. 洪思漢, 李相基 : Fenvalerate에 미치는 Carbaryl의 영향. *Kor. J. Environ. Toxicol.* Vol 6, No. 3-4, 105-121 (1991)
 31. Casida, J.E., Seifert, J.: *Biochem. Pharmac.* 27, 2611 (1978)
 32. Casida, J.E., Seifert, J.; *Pestic. Biochem. Physiol.* 12, (1979)
 33. Amdur, M.O., Doull, J., Klaassen, C.D.: Toxic responses of the liver. *Toxicology*. pp 334-353. (1990)
 34. Cotran, R.S., Kumar, V., Robbins, S.L.: Cellular injury and adaptation. Robbins Pathologic Basis of Disease. pp 12-23. (1989)
 35. Castro, J.A., De Ferreyra, E.C., De Castro C.R., Diaz Gomex, M.I., D'Acosta, N., and Defenos, O.M.: Studies on the mechanism of cystamine prevention of several liver structural and biochemical alterations caused by carbon tetrachloride, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 24, pp 1-19. (1973)
 36. Jacqueson, A., Thevenin, M., Warnet, J. M., Claude, J.R. and Truhart, R.: Sex influence on the experimental fatty liver induced by white phosphorus and Amanita Phalloides in the rat.

- Acta Pharmacol. Toxicol.* (Supp II), 4. pp 322-329 (1977)
37. Ortega, P., Hayes W.J. and Durham, W.F.: Pathologic changes in the liver of rats after feeding low levels of various insecticides. *Arch. Pathol. Lab. Sci.*, 64. pp 614-622. (1957)
38. Sastry, K. V., Sharma, K.: Diazinon iduced histopathological and hematological alteration in a fresh water teleost, *Ophiocephalus punctatus*, *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 5. pp 329-340. (1981)
39. Anees, M.A.: Hepatic pathology in a fresh water teleost *channa punctatus* (bloch) exposed chronic levels of three organophosphorus insecticides. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 19. pp 524-527. (1978)
40. Anthony, J., Banister, E. and Oloffs, P.C.: Effects of sublethal levels of liver, *Bull. Environ. Comtam. Toxicol.*, 37. pp 501-507 (1986)
41. Matin, M.A., Husain, K., Khan, S.: Modification of diazinon-induced changes in carbohydrate metabolism by adrenalectomy in rats. *Biochemical Pharmacology*. 39, no. 11, 1781-1786 (1990)
42. Kusaba, S. Rugaaju and Kitos, P.A.: Effect of Diazinon on nucleotide and amino acid contents of chick embryos. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 34, No. 11, 1937-1943 (1985)

Figure legends



Fig. 1. Microphotograph of control group dose not found significant abnormality in hepatic structure. (H & E $\times 200$)

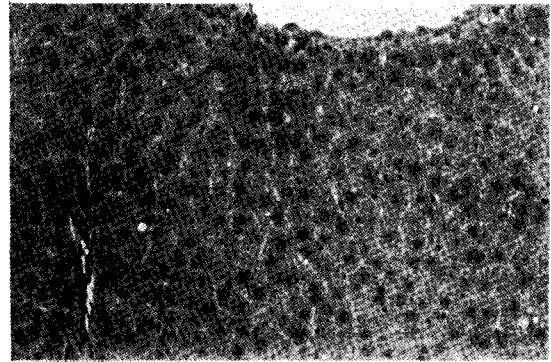


Fig. 3. Microphotograph of 6 days group showing small and medium lipid vacuoles in hepatic tissue as fatty change. (H & E $\times 200$)

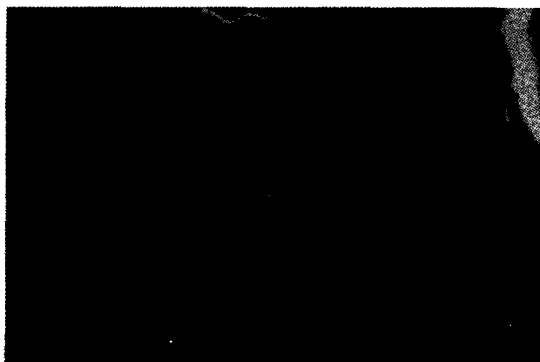


Fig. 2. Microphotograph of 3 days group showing mild fatty change of hepatic tissue. (H & E $\times 200$)

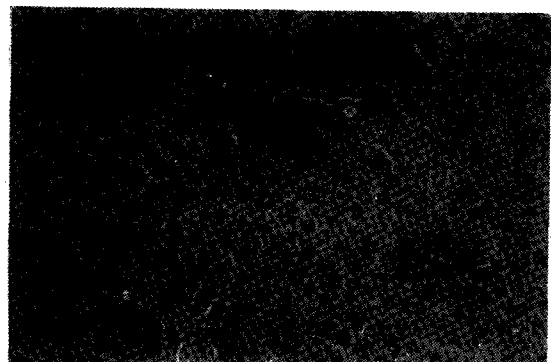


Fig. 4. Microphotograph of 9 days group showing small and large lipid vacuoles in hepatic tissue as severe fatty change. (H & E $\times 200$)

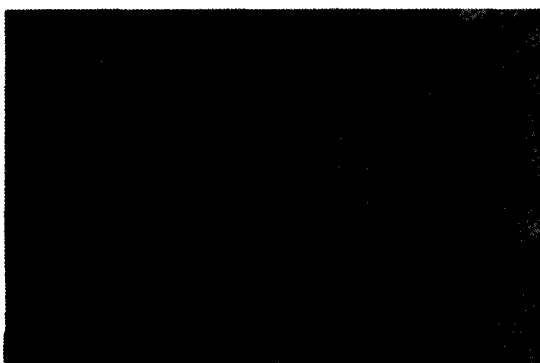


Fig. 5. Microphotograph of 12 days group showing severe fatty change of hepatocytes and increased lipid droplets around the portaltract, but inflammation or necrosis. (a: H & E $\times 400$, b: oil red O $\times 100$)

