

## 어성초 분획이 흰쥐 장기내 카드뮴 축적과 Metallothionein 생성에 미치는 영향(VI)

이기남, 정재열, 송용선, 이정호<sup>1)</sup>, 유일수<sup>2)</sup>, 김신기<sup>3)</sup>, 백승화<sup>1)</sup>

원광대학교 한의학전문대학원 산업한의학교실, 천연물학교실<sup>1)</sup>, 익산대학 공업화학과<sup>2)</sup>, 환경원예과<sup>3)</sup>

### The Effects of Fractions of *Houttuynia cordata* THUNB on the Accumulation of Cadmium and Induction of Metallothionein in Rats(IV)

Ki-Nam Lee, Jae-Yeal Jeung, Young-Sun Song, Jeong-Ho Lee<sup>1)</sup>, Il-Soo You<sup>2)</sup>, Shin-Kee Kim<sup>3)</sup>, Seung-Hwa Baek<sup>1)</sup>

Department of Industrial Oriental Medicine and Department of Natural Products<sup>1)</sup>,  
Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University, Department of Industrial Chemistry<sup>2)</sup> and  
Department of Environmental Horticulture, Iksan College<sup>3)</sup>

This study was conducted to investigate the antitoxic effects of *Houttuynia cordata* THUNB with chloroform and ethyl acetate fractions. The results were as follows:

1. Detoxication effects of chloroform and ethyl acetate fractions of *Houttuynia cordata* THUNB were increased in proportion to the dosages. Detoxication effects of ethyl acetate fraction of *Houttuynia cordata* THUNB were higher than chloroform fraction of *Houttuynia cordata* THUNB's results and detoxication effects in the kidneys were higher than results for the liver.

2. Metallothionein concentrations in the liver were higher than concentrations in the kidneys, and ethyl acetate fraction of *Houttuynia cordata* THUNB was higher than chloroform fraction of *Houttuynia cordata* THUNB in induction of metallothionein.

3. After the administration of chloroform and ethyl acetate fractions of *Houttuynia cordata* THUNB, body weights increased in proportion to chloroform and ethyl acetate fraction's dosage of *Houttuynia cordata* THUNB but changes of body weight diminished after 3 weeks.

From the above results, this study suggests that chloroform and ethyl acetate fraction of *Houttuynia cordata* THUNB increased metallothionein induction to cadmium intoxication in rat's kidney and liver and decreased the toxicity of cadmium in rats. (J Korean Oriental Med 2001;22(1):22-32)

**Key Words:** *Houttuynia cordata* THUNB, Cadmium, Metallothionein, Detoxication.

## 서론

카드뮴은 용융점 321℃, 끓는점 765℃인 부드럽고,

은백색이고, 연성이 있는 금속이다<sup>13,16)</sup>. 용해도는 카드뮴 화합물에 따라서 상당히 변이가 있다<sup>13)</sup>. 지각중의 카드뮴 농도는 평균 0.15 ppm 정도이지만, 토양중에는 암석의 풍화에 의해서 생성된 카드뮴이 토양 입자에 흡착되기 쉽기 때문에 0.5 ppm 정도이다. 일본에서의 보고에 의하면, 토양중 함량이 0.5~2 ppm으

· 접수 : 2001년 1월 3일 · 채택 : 1월 25일  
· 교신저자 : 정재열, 전북 익산시 신용동 344-2번지 원광대학교  
한의학전문대학원 제3의학과 제3팀  
(Tel. 063-850-6836, E-mail: jaeyeal@hanmail.net)

로 높다. 일반적으로 납이나 아연과 함께 황산염 등으로서 합석중에 함유되어 석야연광에서는 2,000~300 ppm에 달한다. 대기권에서의 농도는 일본 9개 도시의 평균치는 0.009~0.033  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 미국의 조사에서는 0.012  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 이었다. 해수중의 카드뮴 농도는 0.11 ppb로 낮으나 체류시간은 50만년으로 길다. 또한 납의 농도와 체류시간은 0.03 ppb로 2000년, 수은은 0.03 ppb로 42,000년이다. 음료수중의 농도는 25,000개의 시료를 조사한 결과 기준인 0.01 mg/l 이하가 99.8%이었고, 최고는 0.03 mg/l 이었다<sup>17,25)</sup>.

카드뮴은 1817년 Strohmeyer에 의해 처음으로 분리되었고, 인체에 미치는 영향은 1932년 Prodan이 처음 기술하였다. 카드뮴은 주로 안료, 염화비닐의 안정제, 합금 등에 사용되고 있으며, 1946년 이래 일본에서 Itai-Itai 병이 발생함을 시초로 환경오염에 의한 질병으로 카드뮴 중독문제가 대두되기 시작하였다. 최근 동식물의 대사과 영양에 관여하는 미량원소의 중요성이 강조되고 있으나 산업의 발달과 자동차의 증가로 인한 대기오염과 공장폐수, 과다한 농약살포 등을 통한 카드뮴, 납, 수은과 같은 중금속으로 인한 식수, 식품, 공기의 오염이 심각한 환경문제로 대두되고 있다.<sup>6,34)</sup> 카드뮴이 체내에 유입되면 적혈구와 결합하여 혈중내로 이행되어지는데 혈장내에선 고분자 단백질 특히 알부민과 결합되고 일부는 thionein과 결합하여 metallothionein을 형성하므로 각 장기에 이행되어진다<sup>23)</sup>. 체내에 유입된 카드뮴의 약 50%는 주로 간장과 신장에 축적되나 상당히 높은 양이 간장과 신장에 축적되어도 뚜렷한 독성효과가 나타나지 않는 것은 metallothionein 형성에 기인한다고 알려져 있다. 즉 다시 말하면 metallothionein에 포함(胞合)되지 않은 카드뮴이 체내에 전달되어지면 독성증상이 발현되는 것으로 그 독성기전이 보고되고 있다<sup>15)</sup>. 일반적으로 생체내에 유해성 중금속이 유입되었을 경우, 자체 해독기전으로 배설이 용이한 metallothionein을 형성하는 것으로 보고되고 있고, 생체 중간장, 신장, 비장 그리고 실질조직 등에 주로 존재하며 시스테인을 다량 함유하고 있는 저분자량의 수용성 단백질로 sulfhydryl group이 Cd, Zn, Hg 그리고

Cu 등과 같은 중금속들을 포함하여 간장과 신장 등을 보호하는 것으로 보고되고 있다<sup>14,19)</sup>.

Metallothionein의 생리학적 기전에 관해서는 아직까지 확실히 정립되어 있지 않았고 그 주장이 분분하다. Metallothionein이 인체에 유해한 중금속을 포함하여 조직의 재분배에 관여한다고 주장하는 견해도 있고<sup>11)</sup>, 중금속을 수용성으로 전환시켜 배설함으로써 해독작용에 관여한다는 견해도 있다<sup>29)</sup>. 일반적으로 사람이 출생할 때에는 인체내에 카드뮴이 존재하지 않지만, 연령이 증가함에 따라 점차적으로 체내에 축적되어 60년 정도를 사는 동안 약 20~30 mg의 카드뮴이 인체내에 축적되고, 체내 총 카드뮴 축적량의 50~80%가 간장과 신장에 존재한다<sup>23)</sup>. 신생아나 성장기 어린이의 경우, 성인보다 카드뮴 흡수 및 보유능력이 높아 카드뮴 중독에 더욱 예민한 것으로 나타나있다<sup>10)</sup>. 그러나 카드뮴의 체내 축적량이나 독성을 초기에 판단할 수 있는 방법이 아직 없어 카드뮴 중독을 초기에 발견하기 어렵기 때문에, 환경오염이 심화되고 있는 현대사회에서 카드뮴의 오염방지 및 중독예방에 관한 문제는 매우 중요한 실정이다.

중금속 오염과 이로 인한 중독의 해독에 있어 최근의 경향은 인체에 적용시 부작용이 작은 국내에서 자생하는 자연물과 한약제에 대한 관심이 증가되고 있고 이 등<sup>7)</sup>의 연구에 여성초 전탕액의 해독효과가 부분적으로 밝혀진 바 있고 추가적인 분획을 이용한 연구의 필요성이 있다. 여성초는 정유 0.005%, 메틸노닐케톤, 미르젠, 라우린 알데히드, 카프린 알데히드, 카프린 산 등이 주성분이다<sup>3)</sup>. 여성초의 한의학적 응용은 염증약, 이뇨 해독제, 임질과 뇨도염, 방광염, 자궁염, 폐염, 기관지염, 물고임, 무좀치료 등이고 차차럼 달여서 매일 마시면 동맥경화를 예방할 수 있다고 한다<sup>4)</sup>. 본 연구에서는 중부와 남부의 낮은 산, 들, 길옆의 습한 곳에서 자생하며 고기비린 냄새가 나는 높이 15~30 cm되는 여러해살이 풀인 여성초의 chloroform, ethyl acetate 분획을 이용하여 카드뮴에 중독된 흰쥐에게 복강 투여한 후 신장과 간장 조직내 카드뮴의 농도와 metallothionein의 농도 및 체중변화를 측정하여 카드뮴 중독에 대한 해독경감효과

를 평가하고자 시도하였다.

### 실험재료 및 방법

#### 1) 검액의 조제

본 연구에 사용된 생약재인 어성초는 전북 익산시 팔봉동에서 채취하여, 어성초의 잎을 잘게 썰어 음건한 후 건조된 어성초 잎 700g을 5,000ml 등근 플라스크에 메탄올 3,500 ml를 넣고, 상온에서 24시간동안 교반한 후 추출하였다. 이와 같이 3회 반복하여 얻은 추출물을 0.4  $\mu$ m필터로 여과한 후, 진공농축기로 30~35 $^{\circ}$ C에서 감압농축시켜 78,250 mg (수득률 11.18%)을 얻었다. 메탄올로 추출된 시료 75,000 mg에 물 750ml를 현탁한 후, n-hexane 750 ml를 가하여 3회 반복 분획하고 무수망초로 탈수시키고, 분획을 여과한 후 감압농축하여 n-hexane 분획물 29,960 mg (수득률 39.95%)을 얻었다. 그후 순차적으로 chloroform, ethyl acetate, n-butanol로 순차적으로 분획하여 여과한 후, 감압농축하여 chloroform 분획물 1,760 mg (2.35%), ethyl acetate 분획물 2,460 mg (3.28%), n-butanol 분획물 17,800 mg (23.37%)과 잔류하는 수층 액기스 22,600 mg (30.13%)을 얻었다. 이 분획물중 chloroform, ethyl acetate 분획을 필요에 따라 회석하여 사용하였다.

#### 2) 시약 및 기기

어성초 추출에 사용된 용매는 methanol, chloroform, ethyl acetate이었고 흰쥐 신장과 간장내의 카드뮴 함량 분석에 사용된 시약은 GR급을 사용하였으며 Cd 표준용액은 Sigma 제품을 사용하였다. 전처리에 사용된 초자기구는 질산으로 세척하여 중금속을 완전히 제거한 후 사용하였고, 분석용 기기는 원자흡광광도계 (Atomic Absorption Spectrophotometer Z-5700, Hitachi)을 사용하였다.

#### 3) 실험동물

실험에 사용된 동물은 원광대학교 의과대학 실험동물 사육장에서 사육한 생후 6~8주 정도의

Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷을 사용하였으며, 실험 시작 1주전부터 안정화 시켰고, 사육은 온도 22 $^{\circ}$ C  $\pm$  2 $^{\circ}$ C, 습도는 50%  $\pm$  10%의 동물사육실에서 1군당 5마리씩으로 사육하였으며, 사료(삼양유지)와 음용수는 자유롭게 섭취할 수 있도록 충분히 공급하였다. 실험은 대조군과 카드뮴 대조군, 6개군은 실험군 즉, 어성초를 메탄올로 추출하여 chloroform으로 분획한 분획물 투여군 3개군과 ethyl acetate으로 분획한 분획물 투여군 3개군으로 총 40마리를 사육하였다. 사육기간 (투여기간)은 4주로 하였다.

#### 4) 카드뮴 및 어성초 분획의 투여

실험에 사용한 중금속은 cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>, Wako Chemical)이며 chloroform 분획물과 ethyl acetate 분획물을 rat의 복강내로 투여하였으며 투여용량은 Table 1과 같으며 1군당 5마리씩으로 실험하였다.

#### 5) 흰쥐 장기내의 카드뮴의 농도 측정

실험 24시간 전부터 절식시킨 흰쥐를 에테르로 마취시키고, 신장과 간장을 적출하여 3차 증류수로 3회 세척하고, 진공건조기(110 $^{\circ}$ C)내에서 24시간 건조시킨 후, 200 $^{\circ}$ C hot plate상에서 각각 질산, 황산, 및 과염소산을 이용한 습식산화법에 의하여 유기물을 분해시키고, 25%의 ammonium citrate 용액 10 ml와 0.1% bromothymol blue(BTB) 지시약 용액을 2~3 방울 넣고, 용액의 색이 황색에서 녹색으로 변할때까지 ammonium hydroxide 용액으로 중화시켰다. 여기에 10 ml의 40% ammonium sulfate 용액과 10 ml의 sodium diethyl dithiocarbamate (DDTC) 용액을 넣고 세차게 흔든 후 수분간 방치한 다음, 20 ml의 methyl isobutyl ketone (MIBK) 층을 가하고 흔든 후 방치한 다음, MIBK 층을 취하여 120 $^{\circ}$ C hot plate에서 휘산시켜 0.1N HCl로 용해한 후, wave length 228.8 nm, slit path 1.3 nm, lamp current 9 mA의 분석조건하에서 원자흡광광도계를 이용하여 전처리된 장기내의 카드뮴 함량을 분석하였다.

**Table 1.** Dosage of Cadmium, Chloroform and Ethyl Acetate Fraction of *Houttuynia cordata* THUNB to Rats

Group		Number of rat(N)	Cd dosage (mg/kg)	<i>Houttuynia cordata</i> THUNB extract(mg/kg)
Control	Group I	5	0	0
Cd control	Group II	5	4	0
Chloroform fraction	Group III	5	4	1
	Group IV	5	4	2
	Group V	5	4	4
Ethyl acetate fraction	Group VI	5	4	1
	Group VII	5	4	2
	Group VIII	5	4	4

Experiment animals were treated with cadmium and extracts of *Houttuynia cordata* THUNB by intraperitoneal injection

6) 흰쥐 장기내의 metallothionein의 농도 측정

Onosaka 등<sup>30)</sup>의 방법에 따라 조직중의 metallothionein (MT)은 간과 신장조직을 0.5g 취하여 생리 식염수로 세척한 다음, 0.25 M 설탕용액을 가하면서 teflon glass homogenizer를 이용하여 조직이 균질화 되도록 하였으며, 4℃에서 20분간 원심분리하여 세포질액을 얻었다. 세포액 0.2 ml를 0.03M tris-HCl (pH 8.0) 완충용액에 첨가한 후, 10 ppm의 CdCl<sub>2</sub> 1 ml로 포화시키고, 실온에서 5분간 배양하였다. 여기에 rat RBC hemolysate 0.2 ml를 가하여 과량의 카드뮴과 MT 이외의 모든 bioligand를 제거하고, 100℃ 수욕탕에 1분간 정지시켜 Cd-bound hemoglobin을 변성시킨 후, 원심분리하여 상층액을 취하였다. 이와같이 rat RBC hemolysate 첨가와 열처리 및 원심분리 과정을 3회 반복하여, MT 분획층을 분리하여 분석에 이용하였다. 최종적인 MT 농도 계산은 원자흡광광도계에 의해 검출된 카드뮴의 농도를 기초로, MT 분자량 6,050 g 당 카드뮴 6 g 원자가 포함되는 것으로 환산하여 조직 kg 당 mg MT 농도로 표시하였다.

7) 체중측정

실험에 이용된 정상군, 대조군, 실험군 rat의 체중은 실험 시작일로 부터 실험 종료일 까지 주당 2회 정밀 밸런스 (Precision Balance E16120, Ohaus)를 이용하여 측정하였다.

8) 통계학적 해석

실험결과에 대한 통계적 처리는 Student's t-test를 이용하였고 유의수준은 0.05이었다.

**결 과**

1) 흰쥐 신장내 cadmium농도

흰쥐에게 복강으로 카드뮴 4 mg/kg과 어성초 chloroform, ethyl acetate 분획을 투여시킨 후, 각 실험군의 신장내의 카드뮴의 농도는 Table 2와 같다. 카드뮴과 chloroform 분획과 ethyl acetate 분획을 전혀 투여하지 않은 정상 대조군의 카드뮴 농도는 3.77 mg/kg이었고 이 농도는 실험결과에 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다. 카드뮴 대조군에서의 농도는 36.45 mg/kg으로 나타났고 chloroform 분획과 ethyl acetate 분획의 투여 농도가 증가할 수록 흰쥐 신장내 카드뮴의 농도가 저하된 것을 알 수 있다. chloroform 분획의 투여 농도가 2 mg/kg, 4 mg/kg 투여시킨 후 신장에서의 카드뮴 농도가 각각 26.73 mg/kg (73.33%)과 18.31 mg/kg (50.23%)으로 유의성이 있었고 (P<0.05) ethyl acetate 분획의 투여농도가 2 mg/kg, 4 mg/kg으로 투여시킨 후 신장에서의 카드뮴 농도가 12.96 mg/kg (35.56%) (P<0.05)와 8.78 mg/kg (24.08%) (P<0.01)으로 유의성이 있었다. 흰쥐 신장내 카드뮴 독성에 대한 해독경감효과가 chloroform 분획보다 ethyl acetate 분획에서 높게 나타났을 뿐만 아니라, 모든 투여농도에서 카드뮴의 축적량이 2배 이상

**Table 2.** Contents of Cadmium in Kidney of Rats Treated with Extracts of *Houttuynia cordata* THUNB

Dosage of <i>Houttuynia cordata</i> THUNB extract (HC) <sup>a</sup> (mg/kg)	Number of rat (N)	Cd Content <sup>a</sup> (mg/kg)	Antitoxicity of Cd (% decrease)
Control	5	3.77 ± 1.32	
Cd control	5	36.45 ± 1.92	100.00
Chloroform fraction	HC (1) + Cd (4)	33.70 ± 0.32	92.45
	HC (2) + Cd (4)	26.73 ± 2.14*	73.33
	HC (4) + Cd (4)	18.31 ± 1.49*	50.23
Ethyl acetate fraction	HC (1) + Cd (4)	15.39 ± 1.46	42.22
	HC (2) + Cd (4)	12.96 ± 1.76*	35.56
	HC (4) + Cd (4)	8.78 ± 1.67**	24.08

<sup>a</sup>The values represent the mean ± standard deviation. <sup>b</sup>Experimental animals were treated with cadmium and extracts of *Houttuynia cordata* THUNB by intraperitoneal injection. Significantly different from the control values (\*P<0.05, \*\*P<0.01)

**Table 3.** Contents of Cadmium in Liver of Rats Treated with Extracts of *Houttuynia cordata* THUNB

Dosage of <i>Houttuynia cordata</i> THUNB extract (HC) <sup>a</sup> (mg/kg)	Number of rat (N)	Cd Content <sup>a</sup> (mg/kg)	Antitoxicity of Cd (% decrease)
Control	5	4.79 ± 2.91	
Cd control	5	40.39 ± 1.39	100.00
Chloroform fraction	HC (1) + Cd (4)	33.21 ± 0.98	82.22
	HC (2) + Cd (4)	32.83 ± 1.23	81.28
	HC (4) + Cd (4)	24.57 ± 1.56*	60.83
	HC (1) + Cd (4)	39.77 ± 2.01	98.46
Ethyl acetate fraction	HC (2) + Cd (4)	34.10 ± 1.67*	84.42
	HC (4) + Cd (4)	30.51 ± 1.69*	75.54

<sup>a</sup>The values represent the mean ± standard deviation. <sup>b</sup>Experimental animals were treated with cadmium and extracts of *Houttuynia cordata* THUNB by intraperitoneal injection. Significantly different from the control values (\*P<0.05)

으로 감소되었으며, ethyl acetate 분획의 복강내 투여 농도가 4 mg/kg에서 신장에서의 카드뮴 농도가 8.78 mg/kg (24.08%)로 카드뮴 독성에 대한 해독경감효과가 가장 높게 나타났다. 전체적으로 고려해 볼 때 신장에서의 카드뮴의 독성에 대한 해독경감효과는 간장에서 보다 높게 나타났다. 이 결과는 어성초의 chloroform과 ethyl acetate 분획이 흰쥐 체내에 흡수된 카드뮴의 독성에 대한 배설을 촉진시켰으며, 카드뮴 착물이 수용성으로 전환되어 배설됨으로서 카드뮴 해독 작용에 관여하였을 것으로 생각된다<sup>5,7,8)</sup>.

## 2) 흰쥐 간장내 cadmium 농도

흰쥐에게 복강으로 카드뮴 4 mg/kg 그리고 어성초를 chloroform과 ethyl acetate로 분획한 분획을 투여시킨 후, 각 실험군의 간장내의 카드뮴의 농도는 Table 3과 같다. 카드뮴과 chloroform 분획과 ethyl

acetate 분획을 복강내 투여시키지 않은 정상 대조군의 카드뮴의 농도는 4.79 mg/kg이었고, 이 농도는 실험결과에 큰 영향을 미치지 않을 것으로 생각하며, 카드뮴만 단독으로 복강내 투여한 카드뮴 대조군의 간장에서 카드뮴의 농도는 40.39 mg/kg이었다. Ethyl acetate의 복강내 투여 농도가 1 mg/kg에서는 39.77 mg/kg (98.46%)으로 카드뮴 독성에 대한 해독경감효과가 크게 증가하지 않았으나, chloroform 분획의 복강내 투여 농도가 증가할 수록 카드뮴 독성에 대한 해독경감효과가 증가하는 경향을 보였다. 간장에서 카드뮴 농도는 chloroform 분획의 복강내 투여농도가 4 mg/kg에서 24.57 mg/kg (60.83%) 그리고 ethyl acetate 분획의 복강내 투여농도가 2 mg/kg에서 34.10 mg/kg (84.42%), 8 mg/kg에서 30.51 mg/kg (75.54%)로 유의성이 있었다 (P<0.05). 간장에서는 ethyl acetate 분획보다 chloroform 분획의 투여시 카드뮴에

**Table 4.** Contents of MT in Kidney of Rats Treated with Extracts of *Houttuynia cordata* THUNB

Dosage of <i>Houttuynia cordata</i> THUNB extract (HC) <sup>a</sup> (mg/kg)		Number of rat (N)	MT Content <sup>a</sup> (mg/kg)	Antitoxicity of Cd (% decrease)
Control		5	0.36 ±0.03	
Cd control		5	0.49 ±0.01	0.00
Chloroform fraction	HC (1) + Cd (4)	5	0.55 ±0.02	12.24
	HC (2) + Cd (4)	5	0.58 ±0.06	18.37
	HC (4) + Cd (4)	5	0.58 ±0.03*	18.37
Ethyl acetate fraction	HC (1) + Cd (4)	5	0.55 ±0.07	12.24
	HC (2) + Cd (4)	5	0.58 ±0.01	18.36
	HC (4) + Cd (4)	5	0.62 ±0.05*	26.53

<sup>a</sup>The values represent the mean ± standard deviation. <sup>b</sup>Experimental animals were treated with cadmium and extracts of *Houttuynia cordata* THUNB by intraperitoneal injection. Significantly different from the control values (\*P<0.05).

**Table 5.** Contents of MT in Liver of Rats Treated with Extracts of *Houttuynia cordata* THUNB

Dosage of <i>Houttuynia cordata</i> THUNB extract (HC) <sup>a</sup> (mg/kg)		Number of rat (N)	MT Content <sup>a</sup> (mg/kg)	Antitoxicity of Cd (% decrease)
Control		5	0.33 ±0.07	
Cd control		5	0.51 ±0.02	0.00
Chloroform fraction	HC (1) + Cd (4)	5	0.51 ±0.05	0.00
	HC (2) + Cd (4)	5	0.56 ±0.04*	9.80
	HC (4) + Cd (4)	5	0.57 ±0.06*	11.76
Ethyl acetate fraction	HC (1) + Cd (4)	5	0.55 ±0.02	7.84
	HC (2) + Cd (4)	5	0.59 ±0.04*	15.69
	HC (4) + Cd (4)	5	0.66 ±0.02**	29.41

<sup>a</sup>The values represent the mean ± standard deviation. <sup>b</sup>Experimental animals were treated with cadmium and extracts of *Houttuynia cordata* THUNB by intraperitoneal injection. Significantly different from the control values (\*P<0.05, \*\*P<0.01)

독성에 대한 해독경감효과가 높게 나타났다. 이 결과를 볼 때, 어성초 chloroform과 ethyl acetate로 분획한 분획이 카드뮴과 착물을 형성한 후 배설촉진으로 인하여 간장내 카드뮴 독성에 대한 해독경감효과가 있었던 것으로 생각된다<sup>2,8)</sup>.

3) 흰쥐 신장내 MT의 농도

흰쥐에게 카드뮴 4 mg/kg 그리고 어성초 chloroform과 ethyl acetate로 분획한 분획을 투여시킨 후, 각 실험군의 신장내 MT의 농도는 Table 4와 같다. 신장에서 MT 농도는 카드뮴과 chloroform 및 ethyl acetate로 분획을 투여하지 않은 정상 대조군의 MT 농도는 0.36 mg/kg이었고 카드뮴 대조군에서는 0.49 mg/kg이었다. 투여군의 신장에서 MT 농도는 chloroform 분획 4 mg/kg에서 0.58 mg/kg (18.37%) 그리고 ethyl acetate 분획 4 mg/kg에서 0.62 mg/kg

(26.53%)에서 유의성이 있었다 (P<0.05). chloroform 분획보다 ethyl acetate 분획을 복강내 투여시 MT의 농도가 증가하였고, 간장에서 형성된 MT의 농도보다 신장에서 형성된 MT의 농도가 더 높은 경향이 있었다. 이 결과를 볼 때 흰쥐 체내에 유입된 카드뮴과 chloroform 분획보다 ethyl acetate 분획의 복강내 투여로 인하여 MT가 형성된 것으로 판단된다<sup>2,8)</sup>.

4) 흰쥐 간장내 MT의 농도

간장내 MT의 농도는 Table 5와 같다. 카드뮴과 chloroform 분획 및 ethyl acetate 분획을 투여하지 않은 정상 대조군의 MT농도는 0.33 mg/kg이었고, 카드뮴 대조군에서는 0.51 mg/kg이었다. chloroform, ethyl acetate 분획 투여군의 간장내 MT 농도는 chloroform 분획의 흰쥐 복강내 투여농도가 2 mg/kg에서 0.56 mg/kg (9.80%), 4 mg/kg에서 0.57 mg/kg (11.76%)에

**Table 6.** Body Weights in Rats Treated with Extracts of *Houttuynia cordata* THUNB by the Week.

Dosage <sup>b</sup> (mg/kg)	Week after treatment <sup>a</sup> (g)					
	Control	1	2	3	4	
Control	226.54 ± 3.69	242.76 ± 5.39* (7.46)	260.51 ± 6.59 (15.00)	263.29 ± 7.94* (16.22)	269.93 ± 4.86* (18.89)	
Cd control (4)	187.27 ± 3.18	223.46 ± 5.02 (19.33)	229.51 ± 5.43** (22.56)	211.09 ± 5.39* (12.72)	205.82 ± 4.28** (9.91)	
HC (1) + Cd (4)	159.26 ± 4.89	177.33 ± 3.86* (11.35)	194.54 ± 2.69* (22.15)	198.82 ± 4.94** (24.84)	199.32 ± 6.49* (25.15)	
Chloroform fraction	HC (2) + Cd (4)	183.54 ± 3.69	199.59 ± 3.56** (8.75)	218.72 ± 4.28* (19.17)	229.38 ± 3.64* (24.98)	235.99 ± 6.97 (28.58)
	HC (4) + Cd (4)	157.03 ± 5.31	179.59 ± 4.32 (14.37)	187.57 ± 5.32 (19.45)	192.92 ± 3.98 (22.86)	203.84 ± 6.47* (29.81)
Ethyl acetate fraction	HC (1) + Cd (4)	170.59 ± 3.54	204.51 ± 4.03* (19.88)	221.76 ± 4.86** (30.00)	229.45 ± 5.29 (34.50)	233.32 ± 4.89 (36.77)
	HC (2) + Cd (4)	132.59 ± 3.75	149.09 ± 5.01* (12.44)	167.44 ± 6.22 (26.28)	177.52 ± 4.49* (33.89)	183.38 ± 5.33** (38.31)
	HC (4) + Cd (4)	161.76 ± 3.58	195.66 ± 4.12 (28.96)	209.54 ± 3.96* (29.54)	216.31 ± 5.98** (33.72)	225.52 ± 4.03* (39.42)

<sup>a</sup>The values represent the mean ± standard deviation. <sup>b</sup>Experimental animals were treated with cadmium and extracts of *Houttuynia cordata* THUNB by intraperitoneal injection. Significantly different from the control values (\*P<0.05, \*\*P<0.01)

서 유의성이 있었고 (P<0.05) ethyl acetate 분획에서는 2 mg/kg에서 0.59 mg/kg (15.69%) (P<0.06), 4 mg/kg에서 0.66 mg/kg (29.41%) (P<0.01)으로 유의성이 있었다. chloroform 분획의 복강내 투여 농도가 1 mg/kg 0.51 mg/kg (0.00%)으로 카드뮴 대조군과 차이가 없었으나, 복강내 투여농도가 증가할수록 MT가 형성되는 양도 다소간 증가하였다. 흰쥐 복강내에 chloroform 분획의 투여보다 ethyl acetate 분획을 투여시 간장내 MT의 형성이 2배이상 증가하였다. 이 결과를 볼 때 체내에 유입된 카드뮴·독성의 해독기전은 chloroform 분획과 ethyl acetate 분획의 복강내 투여로 인하여 MT가 형성되어 간장의 독성을 완화하는 것으로 판단된다<sup>7,12)</sup>.

### 5) 체중 변화

흰쥐에게 복강으로 카드뮴 4 mg/kg와 어성초 chloroform과 ethyl acetate 분획을 투여시킨 후, 각 실험군의 흰쥐의 체중변화는 Table 6과 같다. 카드뮴과 chloroform 및 ethyl acetate 분획을 전혀 복강내 투여하지 않은 정상 대조군의 체중은 유의하게 증가하였

으나, 카드뮴만을 투여한 카드뮴 대조군의 체중은 2주 이후부터 감소하는 경향을 보였다. chloroform과 ethyl acetate 분획을 투여한 군에서는 3주까지는 체중 증가가 많았지만 3주 이후에서는 체중 증가가 크지 않았다. 특히 ethyl acetate 분획을 투여한 군에서 흰쥐 체중이 증가하는 경향이 높았다. 이 결과를 종합해 보면 ethyl acetate 분획은 흰쥐의 카드뮴 축적에 대한 독성을 완화시킬 뿐만 아니라, 카드뮴 착물을 형성하여 배출을 촉진시켰기 때문이라 생각된다<sup>7,8)</sup>.

## 고 찰

카드뮴은 자연에서 광범위하게 분포되어 있다. 이것은 화학적으로 아연과 밀접하게 관련되어 있고 아연이 발견되는 어디에서나 자연에서 존재한다. 대부분의 식품에서 카드뮴의 함량은 약 0.005~0.1 mg/kg이다<sup>6)</sup>. 굴 그리고 쇠고기 신장은 0.1~0.5 mg/kg을 함유하고 있다. 일부 일본지역에서 쌀은 산업적 오염의 결과, 약 1 mg 카드뮴/kg을 함유한다. 일본, 영국, 그리고 뉴질랜드에서 조개는 또한 카드뮴의 농도가

높다. 산업적 오염이 없는 지역에서 성인은 매일 10~60  $\mu\text{g}$  카드뮴을 섭취하고, 이중 0.5~1.5  $\mu\text{g}$ 이 흡수된다. 오염되었던 일본지역에서, 하루 평균 섭취량은 높게는 400  $\mu\text{g}$ 이었다. 흡연은 카드뮴 폭로의 중요한 제공원이다. 담배 1개피는 약 1~2  $\mu\text{g}$ 의 카드뮴을 함유하고 있고, 이중 25~50%은 폐에 잔류하게 된다<sup>16,28)</sup>. 일반적으로 카드뮴은 폐와 위장관계를 통해 흡수된다. 작업장에서, 폐는 연무질, 분진, 그리고 흡의 주요한 흡수 경로이다. 환경적 (비직업적) 제공원에서 카드뮴의 주요한 유입 경로인, 위장관 흡수는, 손과 음식이 오염되었다면 작업장에서 폭로에 상당히 기여할 수 있다<sup>13,16)</sup>. 폐 흡수의 범위는 흡입된 카드뮴의 0.1%에서 50%이다<sup>27,28)</sup>. 흡수의 정도는 카드뮴 화합물의 입자 크기와 용해도에 의존한다. 건강한 성인에서 위장관 흡수의 범위는 섭취된 카드뮴의 3~7%이다. 이 범위는 칼슘, 철, 또는 단백질 영양결핍에 따라 높게는 20%까지 증가한다<sup>28)</sup>.

카드뮴의 생물학적 추정 반감기는 10~30년이다<sup>16)</sup>. 인체에서 제거의 주요한 경로는 신장이다. 배설물에서의 카드뮴은 주로 흡수되지 않는 섭취된 카드뮴이고 흡수된 카드뮴의 배설물 제거는 인체에서 제거의 중요하지 않는 경로이다<sup>27)</sup>. 하루 전체 배설량은 카드뮴의 인체내 전체 부하의 단지 약 0.01~0.02%에 상당한다. 카드뮴 또는 다른 원인의 신기능 부전으로 인한 신장 세뇨관 손상은, 카드뮴의 증가된 신장제거로 귀결된다.

혈장과 조직에서 카드뮴은 대략적으로 분자량이 6,500인 작은 단백질인, metallothionein, 그리고 어느 정도 분자량이 높은 단백질에 결합한다<sup>28)</sup>. 혈액에서 카드뮴은 metallothionein에 결합되어, 적혈구에 주로 존재한다. 낮은 농도 폭로에서, 인체에 들어온 카드뮴의 40~80%은 간장과 신장에 그리고 근육에 20% 저장된다<sup>27)</sup>. 신장에서, 가장 높은 카드뮴 농도는 피질에 있다. 폭로가 증가함에 따라, 신장에서 카드뮴의 저장은 감소하고 간장에서는 증가한다. Metallothionein 생성은 카드뮴 그리고 아연, 구리, 그리고 수은과 같은 기타의 2가 금속에 의해서 유발된다. 카드뮴과 결합할 metallothionein의 양이 부족할 때, 독성은 아연-

의존성 효소에 대한 카드뮴의 방해작용의 결과로 가능성 있게 나타난다<sup>16)</sup>.

지금까지 연구된 여러 동물실험결과<sup>26,31,35,36,38)</sup>에서 증명된 중금속에 대한 metallothionein의 해독작용의 기전을 보면, 체내로 중금속이 흡수될 경우 주로 간장 및 신장조직에서 metallothionein 합성이 크게 증가되며, 이 metallothionein은 조직내에서 독성이 강한 유리 중금속과 결합하여 무독화 형태로 전환시킬 뿐만 아니라, 간장조직에서 신장조직으로의 운반 및 뇨를 통한 배설을 돕는 등 유독성 중금속 이온들의 체내대사에 관여한다고 한다.

본 연구에서는 카드뮴과 여성초 chloroform과 ethyl acetate 분획간의 생체내 작용에 대해서 간장과 신장의 카드뮴 농도 그리고 양자의 장기에서 metallothionein의 농도를 중심으로, 여성초 chloroform과 ethyl acetate 분획의 카드뮴의 독성에 대한 해독경감 효과를 평가하고자 실시하였다. 연구결과를 고찰해보면, 흰쥐에게 여성초 chloroform과 ethyl acetate 분획의 투여 용량이 증가할수록 간장과 신장에서 카드뮴의 독성에 대한 해독경감효과는 증가하였고 간장에서보다 신장에서 해독경감효과가 좋았는데 이는 이 등<sup>7)</sup>의 연구에서 신장에서 보다 간장에서 효과가 좋았다는 것과 대조가 되며 신장에서는 ethyl acetate 분획의 효과가 좋았고 간장에서는 전체적으로 chloroform의 효과가 좋았다. 카드뮴의 농도 관점에서 볼 때, 신장에서 보다 간장에서 농도가 높은 것은 폭로가 증가함에 따라, 신장에서 카드뮴의 저장은 감소하고 간장에서는 증가한다는 Friberg 등<sup>16)</sup>의 연구결과와 유사한 것으로 생각된다.

전 등<sup>9)</sup>은 간조직에 대한 신장조직의 metallothionein 합성비율이 카드뮴 투여농도 및 투여횟수가 증가됨에 따라 다소 점진적으로 증가하는 경향을 나타냈다고 하였는데, 이는 본 연구 결과에서 제시된 여성초 chloroform 분획 투여에서 metallothionein의 농도가 간장에서 보다 신장에서 다소 높은 metallothionein 농도의 결과를 보였다는 것과 유사한 양상을 나타내었으나 여성초 ethyl acetate 분획의 경우는 간장에서의 metallothionein 농도가 약간 높았다.

Metallothionein의 관점에서 볼 때, 신장에서 어성초 chloroform의 결과만을 제외하면, 신장에서 어성초 ethyl acetate 분획 그리고 신장과 간장에서 어성초 ethyl acetate 분획의 투여 용량이 증가할수록 metallothionein의 농도가 다소 증가하는 경향이 있었는데 어성초 ethyl acetate의 경우 투여용량 증가에 따라 metallothionein의 형성이 비례적으로 상승하였다. 신장에서 어성초 chloroform 분획문의 경우에는 투여 용량이 2 mg/kg에서 4 mg/kg으로 증가하여도 metallothionein의 형성이 증가하지 않았는데, 이는 4 주 동안 4 mg/kg의 카드뮴 투여로 인해 있을 수 있는 신장장애로 인하여 metallothionein의 합성이 다소 둔화된 것으로 짐작되며, 이는 Roles 등<sup>32)</sup>에서의 연구와 유사하였다. 신장에서 metallothionein은 카드뮴을 방출하게 해 주는 원위 세뇨관 (proximal tubule)의 라이소좀 (lysosome)에서 분해되고 새로운 metallothionein 합성을 유도한다<sup>18)</sup>. 결합되지 않은 카드뮴이 합성되는 metallothionein의 신장용량을 초과했을 때 신장의 손상이 발생한다<sup>32)</sup>. 카드뮴으로 인한 신장장애중 가장 민감한 지표는 감소된 신장의 세뇨관 재흡수 때문에  $\beta$ 2-microbulin과 같은 저분자량 단백질의 뇨 배설증가가 고려되고 있는데<sup>30,24)</sup>, 본 연구에서의 4주 동안 연속된 비교적 높은 4 mg/kg의 카드뮴 투여용량과 실험기간 동안 신장조직에서 카드뮴의 축적으로 인하여 신장에서의 metallothionein 형성과 카드뮴과의 착물형성에 대한 어성초 chloroform과 ethyl acetate 분획의 효과를 파악하는 데는 다소 미흡한 부분이 있었으며, 다음에 수행될 연구에서는 투여 용량의 감소 및 신장장애의 지표인 그러나 본질적으로 유해한 영향이 아닌<sup>32,33)</sup>  $\beta$ 2-microbulin과 같은 저분자량 단백질에 대한 변수의 추가적 연구가 필요하다고 생각한다.

어성초 전탕액을 이용한 이 등<sup>7)</sup>의 결과와 본 연구를 비교해 보면 다음과 같다. 각 장기별 카드뮴 농도는 신장의 경우 어성초 chloroform 분획 저농도에서 46%, 중농도에서 53%, 고농도에서 64% 그리고 어성초 ethyl acetate 분획 저농도에서 75%, 중농도에서 77%, 고농도에서 83% 어성초 전탕액을 이용한 이 등

의 결과보다 낮았다. 간장의 경우 어성초 chloroform 분획의 저농도에서 47%, 중농도에서 44%, 고농도에서 57% 어성초 ethyl acetate 분획의 저농도에서 37%, 중농도에서 42%, 고농도에서 47% 어성초 전탕액을 이용한 이 등<sup>7)</sup>의 결과보다 낮았다. 각 장기별 metallothionein 농도는 신장의 경우 어성초 chloroform 분획의 저농도에서 10%, 중농도에서 6%, 고농도에서 8% 그리고 어성초 ethyl acetate 분획의 저농도에서 10%, 중농도에서 6%, 고농도에서 2% 낮았으며 간장의 경우 어성초 chloroform 분획의 저농도에서 6%, 중농도에서 3%, 고농도에서 5% 어성초 전탕액을 이용한 이 등<sup>7)</sup>의 결과보다 낮았고 어성초 ethyl acetate 분획의 저농도에서 2%, 중농도에서 2%, 고농도에서 10% 어성초 전탕액을 이용한 이 등<sup>7)</sup>의 결과보다 높았다. 어성초 전탕액을 이용한 이 등<sup>7)</sup>의 결과와 비교해 보면 신장과 간장에서 어성초 chloroform, ethyl acetate 분획의 각 장기내 카드뮴 제거 효과는 높았고, 각 장기별 metallothionein 형성에 있어서는 큰 차이가 없었다. 이상의 연구결과를 고려해 볼 때, 카드뮴과 어성초 chloroform과 ethyl acetate 분획의 투여 실험에서 어성초 chloroform과 ethyl acetate 분획의 카드뮴 독성에 대한 해독경감효과가 있는 것으로 생각된다.

## 요 약

흰쥐에게 카드뮴과 어성초 chloroform과 ethyl acetate 분획을 복강내 투여한 후 카드뮴의 독성에 대한 해독경감효과를 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. chloroform과 ethyl acetate 분획의 복강내 투여 농도가 증가할 수록 카드뮴의 독성에 대한 해독 효과가 증가하였다. Ethyl acetate 분획의 카드뮴에 대한 해독경감효과가 높게 나타났으며, 간장보다는 신장에서 카드뮴에 대한 해독경감효과가 높게 나타났다.

2. 흰쥐 신장 및 간장의 metallothionein의 농도는 신장보다 간장에서 우수한 결과를 보였고, ethyl acetate 분획의 metallothionein 형성이 우수하게 나타

났다.

3. 흰쥐의 체중변화는 chloroform과 ethyl acetate로 분획의 복강내 투여 농도가 증가할 수록 흰쥐의 체중변화도 증가하는 경향을 보였으나, 3주 이후에는 체중변화의 증가가 적게 나타났다.

이상과 같이 카드뮴 해독경감효과에 대한 여성초 chloroform과 ethyl acetate 분획의 복강내 투여결과를 종합하면, 투여 농도가 증가할 수록 카드뮴 독성에 대한 해독경감효과를 보였으며, chloroform 분획보다 ethyl acetate 분획의 해독경감효과가 우수하였다.

### 감사의 글

이 논문은 원광대학교 교비와 BK 21 사업지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사한다.

### 참고문헌

1. 국립보건원. 식품중의 미량금속에 관한 조사연구. 국립보건원. 1992;29: 365-377.
2. 김영옥, 이종섭, 박경옥, 한두석, 유일수, 광정숙, 백승화. 한국산 생약으로부터 해독물질의 개발(제8보) 금은화 메탄올 분획이 흰쥐 장기내 카드뮴 축적과 metallothionein 생성에 미치는 영향. 한국독성학회지. 1996;12: 41-46.
3. 김일혁. 약품식물학각론. 한국학습교재사. 1985;121-122.
4. 문관심. 약초의 성분과 이용. 일월서각. 1991;127-128.
5. 백승화, 유일수, 이종섭, 한두석. 한국산 생약으로부터 해독물질의 개발 (제4보) 흰쥐 간장내의 카드뮴 축적에 미치는 인삼 추출물의 영향. 한국독성학회지. 1995;11, 235-239.
6. 이용옥. 수질오염, 대기오염, 토양오염에 의한 식품오염. 국민영양(10). 1986;23-26.
7. 이정호, 강길웅, 정재열, 한종민, 이기남, 정우영, 한두석, 유일수, 김중수, 백승화. 여성초 전탕액이 흰쥐 장기내 카드뮴 축적에 미치는 영향(I). 대한예방의학학회지. 1999;3(2): 79-90.
8. 이종섭, 김남송, 유일수, 김중수, 이기남, 한두석, 강길웅, 이정호, 백승화. 천화본 메탄올 추출물의 흰쥐장기내 카드뮴 축적에 미치는 영향(I). 한국노화학회.

- 1999;9, 28-33.
9. 전수영, 이순재. 카드뮴으로 중독된 흰쥐의 간장 및 신장에서의 Metallothionein 합성에 관한 연구. 한국영양학회지. 1993;26(2): 156-163.
10. Bremer, I. Cadmium toxicity-nutritional influence and the role of metallothionein world. Rev. Nutr. Diet. 1978;32: 165.
11. Cherian, M.G. and Nordberg, M. Cellular adaptation in metal toxicology and metallothionein. Toxicology. 1983;28: 1.
12. Choe, R. S., Kim, O. Y. Localization of metallothionein induced by cadmium in rat hepatocyte. Korean J. Environ Biol. 1993;11(1): 17-25.
13. Elinder, C.-G. Cadmium: Uses, Occurrence and Intake. Cadmium and Health. L. Friberg, et al, Eds. CRC Press, Boca Raton, FL. 1985.
14. Evans, G.W., Majors, P.F. and Cornatzer, W.E. Mechanism for cadmium and zinc antagonism of copper metabolism. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1970;40: 1142.
15. Foulkes EC(ed). Biological roles of metallothionein. Elsevier, New York. 1982;215.
16. Friberg, L. Kjellstrom, T.; Nordberg, G.: Cadmium. Handbook on the Toxicology of Metals. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. New York. 1986; 130-184.
17. Friberg, L. Cadmium in the Environment. CRC Press, Cleveland. 1975;971.
18. Goyer, R.A., Miller, C.R. and Zhu, S.Y. Nonmetallothionein-bound cadmium in the pathogenesis of cadmium nephrotoxicity in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1989;101: 232-244.
19. Jakubouki, M. Piotrowski, J.K. and Trojanowska, B. Binding of mercury in the rats: Studies using 203HgCl2 and gel filtration. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1970;16: 743.
20. Jaruup, L., Elinder, C.G. and Spang, G. Cumulative blood-cadmium and tubular proteinuria: A dose-response relationship. Int. Arch. Occup. Environ. Health. 1988;60: 223-229.
21. Jun, S. Y., Rhee, S, J. Accumulation fo metallothionein in rat liver and kidney by cadmium administration. Korean J. Nutrition. 1993;26(2): 156-163.
22. Kostial K. Cadmium. In: Mertz W, ed. Trace elements

- in human and animal nutrition(Vol 2), Academic press, New York. 1986;319.
23. Kowel, N.E., Johnson, D.E., Kaemer, D.F. and Pahren, H.R.: Normal levels of cadmium in diet, urine, blood and tissues of inhabitants of the United States. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1979;5: 995.
  24. Nogawa, K., Honda, R. and Kido, T. A dose-response analysis of cadmium in the general environment with special reference to total cadmium intake limit. *Environ. Res.* 1989;48: 7-16.
  25. Nordberg G.F. *Toxic Metals.* Elsevier, Amsterdam, 1976.
  26. Nordberg, G.F., Piscator, N. and Lind B. Distribution of cadmium among proteins fractions of mouse liver. *Acta. Pharmacol. Toxicol.* 1971;29: 456-470.
  27. Nordberg, G.F.; Kjellstrom T.; Nordberg, M. Kinetics and Metabolism. In: *Cadmium and Health.* L. Friberg, et al., Eds. CRC Press, Boca Raton, FL. 1985.
  28. Nordberg, G.F.; Nordberg, M. Biological Monitoring of Cadmium. In: *Biological Monitoring of Toxic Metals.* Plenum Press, New York. 1988;151-168.
  29. Oh, S.H. and Whanger, P.D. Biological function of metallothionein VII. Effect of age on its metabolism in rats. *Am. J. Physiol.* 1979;237: E18.
  30. Onosaka, S., Tanak, K., Doi M. and Okahara, K. A simplified procedure for determination of metallothionein in animal tissues. *Eisei Kagaku.* 1978;24: 128-133.
  31. Piscator M. On cadmium in normal human kidney together with a report on the isolation of metallothionein from livers of cadmium exposed rabbits. *Nord. Hyg. T* 1964;45: 76-82.
  32. Roles, H.A., Lauwerys, R. and Dardenne, A.N. The critical level of cadmium in human renal cortex: A reevaluation. *Toxicol. Lett.* 1988;15: 357-360.
  33. Roles, H.A., Lauwerys, R.R., Bernard, A.M. Buchet, J.P., Vos, A. and Oversteins, M. Assessment of the filtration reserve capacity of the kidney in workers exposed to cadmium. *Br. J. Ind. Med.* 1991;48: 365-374.
  34. Settle, D.M. and Patterson, C.C. Lead in albocore: Guide to lead pollution. *Americans Science.* 1980;207: 1167-1176.
  35. Short communication: Accumulation and clearance of cadmium, copper and zinc in organs of rat following single injections of cadmium. *Jap. J. Industrial. Health.* 1974;16: 488-489.
  36. Squibb K.S. and Cousin R.J. Control of cadmium binding protein synthesis in rat liver. *Environ. Physiol, Biochem.* 1974;4: 24-30.
  37. Tsalev, D.L.; Zaprianov, Z.K. Cadmium. In: *Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice, Vol. I, Analytical Aspects and Health Significance,* pp. 105-112. CRC Press, Boca Raton, FL. 1983.
  38. Weser, O. and Hubner, L. Cd, Mn and Zn induced synthesis of nuclear RNA in the livers of normal and adrenal ectomized rats. *FEBS. Lett.* 1970;10: 169.