

활성탄이 납 중독된 흰쥐의 간장에 미치는 조직학적 연구

정민주, 노영복*
조선대학교 자연과학대학 생물학과

Histological Study on the Activated Carbon in the Rat Liver with Toxicated by Lead

Min-Ju Chung and Young-Bok Roh*

Dept. of Biology, College of Natural Science, Chosun University

(Received April 15, 2002; Accepted May 24, 2002)

ABSTRACT

For investigation of the activated carbon in the rat liver toxicated by lead. Aniamls used 7~8 weeks to Sparague Dewley rat (150 g). The lead acetate (500 ppm) were injected and activated carbon (40 mg/kg) were treated orally for four and eight weeks, respectively, and observed by the electron microscope.

The group with only lead for 4 weeks, The mitochondria and rough endoplasmic reticulum (rER) were extended and ribosomes dropped from the rER. The group with lead activated carbon for 4 weeks, The number of lysosomes increased. The shapes of nucleus and rough endoplasmic reticulum observed almost similar with nomally. The group with only lead for 8 weeks, The mitochondria and rough endoplasmic reticulum (rER) were more extended. The group with lead activated carbon for 8 weeks, the nucleus and rough endoplasmic reticulum was observed nomally.

Key words : Activated carbon, Lead acetate, Liver, Rat

서 론

납(Pb)은 금속 중에서 가장 비중이 큰 물질이며, BC 1500년경부터 인류에 의해 사용되어진 가장 역사가 긴 중금속 중의 하나이다. 납은 우리 생태계내에 다양한 농도로 존재하며, 미량으로 독성을 일으킬 수 있는 물질로 환경 중에서 물, 음식, 토양 등을 통해 일반적으로 접하게 된다. 납이 체내에 축적되었을 때

체내에 생체 기능 장애를 일으키는 환경독성물질로 보고되어 있다(Mahaffey, 1981; Karmakar et al., 1986; Yum et al., 1995).

납은 호흡과 식이를 통해 흡수되어 체내의 대사과정을 거쳐 주로 신장을 통해서 요중으로 배설되고 담, 체모, 유즙 등을 통해서도 배설된다(Rabinowitz et al., 1977; Sheehan et al., 1991). 체내에 축적되는 납의 약 90%는 뼈에 분포하며, 간, 신장, 대동맥, 췌장, 폐

이 논문은 2001년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

* Correspondence should be addressed to Dr. Young-Bok Roh, Department of Biology, College of Natural Science, Chosun University, 375, Seosuk-dong, Gwangju, 501-759, Korea. Ph.: (062) 230-6654, FAX: (062) 230-7984, E-mail: ybno@chosun.ac.kr

Copyright © 2002 Korean Society of Electron Microscopy

등에 존재하며, 혈액에서는 대부분 적혈구와 결합하고 있다(Bartrop et al., 1971; Smith et al., 1992; Rattoliffe, 1994; Fonia et al., 1995).

납중독시에는 빈혈 등의 혈액장애, 식욕부진, 변비 등의 소화기 증상, 신경계 및 신장(Klauder & Petering, 1977; Karmarkar, 1986; Russo, 1988) 등에 심한 장애가 나타난다.

이와 같이 납이 인체에 미치는 영향에 관하여 많은 연구가 이루어졌고, 체내의 중독증상을 완화하기 위하여 예전에는 EDTA (Hilmy et al., 1986), BAL · DMSA (Cantilena & Klaassen, 1982) 등의 화학물질을 이용하였지만, 최근에는 주변에서 쉽게 구할 수 있는 생물질 (Sheo et al., 1994)을 이용하고 있다.

활성탄(Activated Carbon)은 흡착성이 강한 탄소로 되어 있는 물질을 말한다. 활성탄은 목재, 갈탄, 이탄 등을 열화아연이나 인산과 같은 활성화제 약품으로 처리하여 건조시키거나, 500~900°C의 수증기로 활성화시켜 만들어지는 다공성의 탄소로서 구조가 미세하고 다공성일수록 물리적인 방법에 의한 작용이 강력하다(Johnson, 1977).

활성탄은 반응성, 흡착성이 크고 불순물이 적기 때문에 제철 등의 야금, 이황화탄소의 제조, 탈색, 탈취용의 활성탄, 흑색화약의 원료, 분리 Process, 정제, 촉매 또는 용매 회수제로의 이용, 나아가서 지구환경오염 문제와 관련한 폐수처리, 공해대책용 흡착제 또는 의약품 흡착제 등으로 사용된다(Yun, 1982; Davis et al., 1983; Traeger et al., 1986; Curd-Sneed et al., 1987; Arimori et al., 1988; Park, 1989; Arimori & Nakano, 1989; Jo, 1992).

이와 같이 해독제 및 흡착제로 쓰여온 활성탄을 중금속 중독 억제에 대한 조직학적 연구가 미비하여 본 연구는 활성탄을 이용하여 활성탄이 간장의 납중독 억제에 미치는 효과를 전자현미경을 통해 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 실험동물은 7~8주 된 150g 내

외의 Sparague-Dewley계 웅성 Rat를 구입하여 납 단독투여군, 납-활성탄 투여군으로 구분하고 다시 4주, 8주 경과군으로 세분하였다. 대조군은 생수를 공급하였고, 납 단독투여군은 Lead acetate (500 ppm)를 1주 2회 복강 투여하였으며 납-활성탄 투여군은 활성탄(40 mg/kg)을 생수에 용해하여 매일 경구투여하였다.

2. 전자현미경적 관찰

원류를 실험전 24시간 절식시킨 후, ether로 마취시켜 간장을 적출하였다. 적출된 간은 신속하게 1mm³ 크기로 세절하여 2% Glutaraldehyde (pH 7.4, 0.1 M Cacodylate완충액)용액으로 4°C에서 2시간 전고정하고, 동일 완충액으로 15분씩 3회 수세하였다. 1% Osmium tetroxide용액(4°C, pH 7.4, 0.1 M Cacodylate 완충액)으로 1시간 동안 후고정하고 동일 완충액으로 15분씩 3회 수세하였다. 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% ethanol에서 각 20분씩 1회, 100% ethanol로 20분씩 3회 탈수시켰다. Propylene oxide로 25분간 3회 치환하였으며 Propylene oxide : Epon 812를 1:1의 비율에서 3시간, 1:2에서 3시간, Epon mixture 원액에서 하루밤 포매하여 oven에 넣어 37°C에서 12시간, 45°C에서 12시간, 60°C에서 48시간 열중합하였다. Ultramicrotome(MT-7000)을 이용하여 1µm 두께의 준초박절편을 만들어 1% Toluidine blue로 염색한 후 LM으로 관찰하여 특정 부위만을 남겨놓고 나머지 부분을 삭정하였다. Diatome으로 60 nm 두께의 초박절편을 만들어 Uranyl acetate와 Lead citrate로 이중 염색하여 JEM-100CX II형 전자현미경(80 kV)으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

납 단독투여군 : 4주군은 과립형질내세망의 수조가 팽대되고 막에 부착된 리보솜의 탈락이 관찰되었다. 사립체가 팽창되었고, 핵은 약간 함입되어 불규칙하였으며 핵막은 팽대되었다(Fig. 1). 8주군은 과립형질내세망의 수조가 더욱 심하게 팽대되어 공포화를 나타냈다. 사립체는 더욱 팽창되어 사립체능이 절단, 손

실되어 낮은 전자밀도를 나타냈다. 핵은 약간 함입되어 불규칙하고 핵막이 팽대되었다(Fig. 3).

납-활성탄 투여군 : 4주군은 과립형질내세망은 리보솜이 부착된 정상적인 형태로 관찰되었다. 사립체는 팽창되었고, 다수의 리소솜이 관찰되었다. 핵은 중간 형태로 관찰되었다(Fig. 2). 8주군은 일부 과립형질내세망의 수조가 팽대되었으나 리보솜이 부착된 정상적인 형태로 핵 주위에 전형적인 층판구조를 형성하였다. 사립체는 약간 팽창되었고, 핵과 핵막은 정상으로 보였다(Fig. 4).

중금속 투여시 간장에서 나타나는 미세구조적 변화에 대한 보고를 보면 Ernesto et al. (1974)은 비비에 Pb 0.25 mg/kg을 투여한 실험에서 간세포에서 괴사한 과립형질내세망, 사립체의 내강이 확장되고 사립체능이 굴곡, 수축되었으며 사립체의 모양이 불규칙해지고 사립체능이 소실, 다수의 리소솜이 나타났고, 핵이 수축되고 핵막이 확장되어 나타났다고 보고하였다. Bernacchi et al. (1980)은 흰쥐에 CCl₄ 150 mg/kg을 투여한 실험에서 과립형질내세망의 수조가 확장되었으며 투여기간의 증가와 더불어 확장의 정도는 심하게 나타났다고 보고하였고, 과립형질내세망의 수조 확장 과 막에 부착된 리보솜의 탈락이 일어나 유리 리보솜이 증가되었으며 사립체는 팽대되어 사립체능의 배열이 흩어지고 확장되었으며 파열되어 사립체 수가 감소하였다고 보고하였다. Ernesto et al. (1972)은 흰쥐에 Pb 10 mg/kg을 투여한 결과 실험초기에는 과립형질내세망이 신장되고 팽대되었으며 시간이 지날수록 과립형질내세망의 산재와 sER의 증가가 나타났고 내외막이 분리되고 과립의 소실이 나타났다고 보고하였다. Dudley (1984)의 흰쥐에 Cd 3.9 mg/kg을 투여한 실험에서는 과립형질내세망의 확장과 수가 감소하였고 공포화 현상과 리보솜의 탈락에 대해 보고하였다. Smuckler et al. (1962)은 흰쥐에 CCl₄ 100 mg/kg을 투여한 실험에서 과립형질내세망의 현저한 변화로 수조의 확장, 파열과 단절, 확장된 막의 표면에 부착된 리보솜과립이 탈락되어 유리 리보솜으로 관찰되었는데 이것은 간실질내 과립형질내세망은 amino acid의 결합과 단백질 합성이 이루어지는 장소로 과립형질내세망의 손상 즉, 과립형질내세망의 확장은 단백질 합성이 억제되어 실험동물의 간독성과 관계

된다고 보고하였다. 본 실험에서도 납 단독투여군 모두에서 위와 같은 소견을 보여 납 중독으로 간세포가 손상되었다고 사료된다.

활성탄을 의약품 흡착제로서도 이용한 보고를 보면 Davis et al. (1983)은 과립리루빈혈증의 Gunn rat에 계속적인 광선요법 대신 활성탄을 계속 먹이면 혈장 내 bilirubin의 농도는 효과적으로 감소되는데 광선요법과 활성탄을 동시에 시행하였을 때는 더욱 효과적이라고 보고하였다. 5%의 활성탄을 식이로 8주동안 먹인 어린 Gunn rat에서 성장비에는 영향이 없다고 보고하였으며, Traeger et al. (1986)은 심한 간질환자에게 40 g의 활성탄을 매일 4시간 투여하면 diazepam의 혈장 반감기는 활성탄이 투여되는 동안 198 시간에서 18시간으로 감소된다고 보고하였다. 본 실험에서도 활성탄을 납 투여한 흰쥐에 경구투여하여 조직 변화를 관찰한 결과 리보솜이 부착된 정상적인 형태의 과립형질내세망이 층판구조를 형성한 것이 관찰되었고 사립체의 팽창 정도가 감소되고 핵과 핵막이 정상적인 형태로 관찰되었다. 활성탄이 위의 소견과 같이 혈액내 유해물질의 제거 뿐만 아니라 조직내의 중금속도 제거하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Arimori K, Nakano M: Dose dependency in the exsorption of theophylline and the intestinal dialysis of theophylline by oral activated charcoal in rats. *J Pharm Pharmacol* 40(2): 101-105, 1988.
- Arimori K, Nakano M: Study on transport of disopyramide into the intestinal lumen aimed at gastrointestinal dialysis by activated charcoal in rats. *J Pharm Pharmacol* 41(7): 445-449, 1989.
- Barltrop D, Barrett AJ, Dingle JT: Subcellular distribution of lead in the rat. *J Lab Clin Med* 77(5): 705-712, 1971.
- Bernacchi AS, Castro CR, Ferreyra EC, Toranzo EGD, Fenos OM, Castro JA: Pyrazole prevention of CCl₄ induced ultrastructural changes in rat liver. *Br J Exp Path* 61: 505-511, 1980.
- Cantilena LR, Klaassen CD: The effect of repeated administration of several chelators on the distribution and excretion

- tion of cadmium. Toxic Appl Pharmacol 66: 361-367, 1982.
- Curd Sneed CD, Bordelon JG, Parks KS, Stewart JJ: Effects of activated charcoal and sorbitol on sodium pentobarbital absorption in the rat. J Toxicol Clin Toxicol 25(7): 555-566, 1987.
- Davis DR, Yearly RA, Lee K: Activated charcoal decreases plasma bilirubin levels in the hyperbilirubinemic rat. Pediatr Res 17(3): 208-209, 1983.
- Dudley RE, Donald JS, Curtis DK: Time course of Cd induced ultrastructural change in rat liver. Toxic Appl Pharmacol 76: 150-160, 1984.
- Ernesto OH, Rafael AT, Luzio JL: Ultrastructural alterations of liver and spleen following acute lead administration in rat. Exp Mol Path 17: 159-170, 1972.
- Ernesto OH, Nicholas RD, Klaus H, Lawrence B, Joan C: Ultrastructural changes in the liver of Baboons following lead and endotoxin administration. Int Aca Path 30: 311-319, 1974.
- Fonia O: Down regulation of hepatic peripheral type benzodiazepine receptors caused by acute lead intoxication. Eur J Pharmacol Environ Toxicol Pharmacol Section 293: 335-339, 1995.
- Hilmy AM, Domaity NE, Daabees AY: Effect of ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA) on acute mercury poisoning of toad. Comp Biochem Physiol 85C: 253-254, 1986.
- Jo DU: A study on the removal of heavy metal ions by activated carbon. M Eng Thesis Degree. Sungsil University, 1992. (Korean)
- Johnson JB, Sparberg M: Try activated charcoal for ostomates. Patient Care 21: 152, 1977.
- Karmakar N, Saxena R, Anand S: Histopathological changes induced in rat tissues by oral intake of lead acetate. Environ Res 41: 23-28, 1986.
- Klauder DS, Petering HG: Anemia of lead intoxication, A role for copper. J Nutr 107: 1779-1785, 1977.
- Mahaffey KR, Capar SG, Gladen BC, Fowler BA: Concurrent exposure to lead, cadmium, and arsenic. Effects on toxicity and tissue metal concentrations in the rat. J Lab Clin Med 98(4): 463-481, 1981.
- Park JH: Studies on adsorption of residual chlorine and heavy metals in water by activated carbon filter. M Eng Thesis Degree, Hanyang University, 1989. (Korean)
- Press MF: Lead Encephalopathy in Children. Am J Pathol 86(2): 485-488, 1977.
- Rabinowitz MB, Leviton A, Needleman HL: Occurrence of elevated protoporphyrin levels in relation to lead burden in infants. Environ Res 39: 253-257, 1986.
- Ratcliffe JM: Lead in man and the environment. New Ellis Horwood Limited, pp. 9-13, 1994.
- Russo MA, Kapoor SC, Von Rossum GD: Localization of lead in the kidney and liver of rats treated *in vivo* with lead acetate, ultrastructural studies on unstained sections. Br J Exp Path 69: 221-234, 1988.
- Sheehan JE, Pitot HC, Kasper CB: Transcriptional regulation and localization of the tissue specific induction of epoxide hydrolase by lead acetate in rat kidney. J Biol Chem 266(8): 5122-5127, 1991.
- Sheo HJ, Kim YS, Kim KS, Jung DL: Effect of garlic on toxicity of mercury in rat. J Korean Soc Food Nutr 23: 908-915, 1994. (Korean)
- Six MK, Goyer RA: The influence of iron deficiency on tissue content and toxicity of ingested lead in the rat. J Lab Clin Med 79(1): 128-136, 1972.
- Smith DR, Osterloh JD, Niemeyer S, Flegal AR: Stable isotope labeling of lead compartments in rats with ultralow lead concentrations. Environ Res 57: 190-207, 1992.
- Smuckler EA, Isero OA, Benditt EP: An intracellular defect in protein synthesis induced by carbon tetrachloride. J Exp Mol 116: 55-83, 1962.
- Traeger SM, Haug MT: Reduction of diazepam serum half life and reversal of coma by activated charcoal in a patient with severe liver disease. J Toxicol Clin Toxicol 24(4): 329-337, 1986.
- Yum KS, Park KH, Yang NK, Ahn LT, Ko JS: Ultrastructural influence of heavy metallic agents on the proximal convoluted tubule of mice. J Soonchunhyang Med 1(2): 719-733, 1995. (Korean)
- Yun JH: Relationship between the properties and the adsorptive characteristics of domestic activated carbon. M Eng Thesis Degree, Inha University, 1982. (Korean)

< 국문초록 >

본 연구는 흰쥐의 간장에서 납 독성에 대한 활성탄 효과를 연구하는데 그 목적이 있다. 실험동물은 7~8주

된 150 g 내외의 Sprague Dewley계 음성 Rat를 사용하였다. lead acetate(500 ppm)를 1주 2회 복강 투여하였고 활성탄(40 mg/kg)을 1일/1회씩 경구투여하여 4주, 8주째에 간장을 적출해서 투과전자현미경으로 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다. 남 단독투여 4주군은 과립형 질내세당의 수조가 팽대되고, 리보솜의 탈락이 관찰되었다. 핵은 약간 함입되어 불규칙하였으며 핵막은 팽대되어 내외막과 핵공이 불분명하게 나타났다. 남 활성탄 투여 4주군은 과립형질내세당은 리보솜이 부착된 정상적인형태로 관찰되었다. 다수의 리소좀이 관찰되었다. 핵

은 둥근 형태로 관찰되었다. 남 단독투여 8주군은 과립형질내세당의 수조가 더욱 심하게 팽대되어 공포화를 나타냈다. 사립체는 더욱 팽창되서 사립체능이 절단, 손실되어 낮은 전자밀도를 나타냈다. 핵은 약간 함입되어 불규칙하고 핵막이 팽대되었다. 남 활성탄 투여 8주군은 일부 과립형질내세당의 수조가 팽대되었으나 리보솜이 부착된 정상적인 형태로 핵 주위에 전형적인 층판구조를 형성하였다. 사립체는 약간 팽창되었고, 핵은 정상으로 보였다.

FIGURE LEGENDS

* All bar indicate 1 μm .

Fig. 1. An electron micrograph of hepatic cell of group with only lead for 4 weeks showing mitochondria (M), lysosome (Ly), rough endoplasmic reticulum (rER) and Nucleus (N).

Fig. 2. An electron micrograph of hepatic cell of group with lead activated carbon for 4 weeks.

Fig. 3. An electron micrograph of hepatic cell of group with only lead for 8 weeks.

Fig. 4. An electron micrograph of hepatic cell of group lead activated carbon for 8 weeks.



