

Thiamine이 水銀中毒 白鼠의 各臟器에 미치는 影響

林 國 煥

高麗大學校 保健專門大學

A Study on the Effect of Thiamine on the Toxicity of Phenylmercuric Acetate in Albino Rats

Kook Hwan Rhim

*Junior College of Public Health and Medical
Technology, Korea University*

Abstract

The purpose of this study is to determine the antidotal effects of thiamine in phenylmercury poisoning rats.

Sixty-six rats were divided into six groups ; the control group, the 40 γ thiamine-only-dosed group, the 6 ppm phenylmercury-only-dosed group, the simultaneously-dosed-group with 6 ppm mercury & 20 γ thiamine, and with 6 ppm mercury & 40 γ thiamine, and with 6 ppm mercury & 80 γ thiamine.

The thiamine was put into pellet by various concentrations, and phenylmercury was mixed in drinking water by 6 ppm concentration.

The rats were sacrificed for observing the histopathological changes of brain, liver and kidney.

The results summarized are as follows ;

1. In the group dosed with only 40 γ thiamine, the tissues of brain, liver and kidney did not show any abnormal architecture.
2. The phenylmercury-only-dosed group and the simultaneously-dosed group with mercury and 20 γ thiamine showed remarkable degenerative or necrotic hepatic cells. In addition, a remarkable swelling and necrosis on epithelium of proximal tubules in kidney were found.
3. The simultaneously-dosed group with mercury and 40 γ thiamine showed moderate degeneration and necrosis of Purkinje cells in cerebellum. A moderate necrosis and swelling on epithelium of proximal tubules and a large amount of tubular casts were found as well.

4. The simultaneously-dosed group with mercury and 807 thiamine showed a slight degenerative change of Purkinje cells. A slight degenerative change on epithelium of proximal tubules and a small amount of tubular casts were also found.

I. 緒 論

日常生活環境에 各種 有害毒物質이 一部 限定된 地域에서 特히 人爲的으로 그 量과 濃度가 增加하였을 경우에는 生物體에 대하여 程度의 차이는 多少 있겠으나 극히 致命的인 影響을 미치게 된다는 事實은 이미 잘 알려져 있다.¹⁾

여러가지 有害 重金屬中에서도 水銀은 그 代表的인 것 중의 하나로 여러가지 化合物中 有機化合物의 形態인 methyl mercury 및 ethyl mercury와 같은 alkyl mercury의 毒性은 無機水銀化合物의 毒性보다 훨씬 강한 것으로 밝혀졌다.^{2,3)}

1956年頃 日本 水俣市 一帶에서 廣範圍하게 發生된 水俣病(Minamata disease)의 原因物質은 methyl mercury에 汚染된 魚貝類 섭취 때문이라는 事實은 너무나도 有名한 水銀에 依한 重金屬中毒의 代表的인^{2,4)} 例의 하나였다.

有機水銀化合物의 體內分布와 蓄積은 methyl mercury 또는 ethyl mercury 등의 低級 alkyl mercury가 各 組織에 蓄積되는 部位는 一般的으로 肝臟과 腎臟에 가장 많이 蓄積되며 腦血液關門을 비교적 용이하게 通過해서 時間의 經過에 따라 腦中의 水銀濃度가 增加되는 것이 특징적인 것으로 알려졌다.⁵⁾ 한편 水銀과 alkyl 基와의 結合은 體內에서 어느정도 分解하여 無機水銀을 生成하게 되는데 ethyl mercury는 methyl mercury에 비해 약간 速히 分解되며 phenyl mercury나 alkoxyalkyl mercury는 더욱 쉽게 無機水銀으로 分解되는 것으로 알려졌다.

따라서 phenyl mercury 및 alkoxyalkyl mercury 등이 生體內에서 미치는 影響은 低級 alkyl mercury와 無機水銀의 그것과의 中間程度인 것으로 밝혀진 바 있다.⁵⁾ phenyl mercury 역시 肝臟 및 腎臟에 蓄積되고 여기서 無機水銀으로 分解되어 障害를 일으킨다고 알려졌다.⁶⁾

重金屬에 對한 治療劑로서는 이미 1948年에 英國의 Oxford Peter 實驗室에서 開發한 BAL(2,3-dimercaptopropanol)의 效果에 關한 研究報告⁷⁾가 있고 또한 phenylmercuric acetate에 暴露된 mouse의 腦, 肝, 筋肉 및 腎臟에서의 水銀濃度는 BAL의 投與로 特히 腦에서 減少하였다는 結果⁸⁾ 등이 있다.

한편 Ishihara⁹⁾ 등은 D-penicillamine이 有機水銀 排出에는 別效果가 없다는 事實을 밝힌 바 있다.

其外 BAL의 誘導體인 DMPS(2,3-dimercaptopropane-1-sulfonate)와 DMSA(meso-dimercaptosuccinic acid) 등이 現在 開發되어 있다. 以上の 藥劑들은 모두 -SH 基를 가진 化合物質로서 蛋白質合成阻害作用에 對한 保護效果가 있는 것으로 알려지고 있다.

朴¹⁰⁾ 등은 -SH 化合物이 豊富하게 含有된 마늘을 投與하여 白鼠의 水銀中毒效果를 그리고 金¹¹⁾ 등은 마늘이 카드뮴中毒에 對한 影響을 觀察한바 있다.

本研究에서는 이러한 事實을 참작하여 黃含有化合物인 thiamine이 phenylmercuric acetate에 中毒된 白鼠 各組織에 어떠한 效果를 나타내는 가를 알아보기 위하여 實驗을 試圖한 바 그 結果를 報告하고자 한다.

II. 實驗對象 및 方法

1. 實驗對象

實驗對象으로는 體重 200 ± 10.5 g 의 Sprague-Dawley 種 成熟雄性 白鼠 66 마리를 사용하여 同一 條件下에서 3 週間 飼育한 후 實驗에 使用하였다.

2. 實驗方法

實驗動物을 正常群과 thiamine 單獨投與群 (40r) 및 PMA (phenylmercuric acetate) 單獨投與群 그리고 PMA 와 thiamine 의 同時投與群으로 分類하고 이를 다시 thiamine

投與濃度量에 따라 20r, 40r 및 80r 로 區分하였다 (Table 1 參照).

이때 使用한 thiamine 은 日本 純正化學 (株) 製 特級 thiamine hydroxide (98.0 ~ 102.0%) 였고 phenylmercuric acetate 는 Sigma (99.9%) 製였다.

投與方法은 보통 飲料水에 PMA 를 6 ppm 으로 調製하여 自由로이 飲水토록 投與하였고, 한편 thiamine 은 上記 濃度別로 三養動物飼料를 粉碎한 후 混合하여 給食하였다 (Table 1 參照).

投與期間은 12 週였고 飼育 終了後 ether 麻醉해서 屠殺하고 腦, 肝臟 및 腎臟을 摘出하여 이를 10% formalin 으로 固定하여

Table 1. Experimental groups exposed to PMA and/or thiamine

| Treatment | PMA(ppm) | Thiamin (r) | No. of rat |
|----------------------------|----------|-------------|------------|
| Control group | 0 | 0 | 10 |
| Thiamine-only-dosed group | 0 | 40 | 10 |
| Mercury-only-dosed group | 6 | 0 | 10 |
| Simultaneously-dosed group | 6 | 20 | 12 |
| Simultaneously-dosed group | 6 | 40 | 12 |
| Simultaneously-dosed group | 6 | 80 | 12 |

PMA; phenylmercuric acetate

Table 2. Histopathological findings in experimental group

| PMA(ppm) | Treatment | Brain | Kidney | | | Liver | | |
|----------|--------------|---------------|------------------|-----------|------|-------|------|----------|
| | thiamine (r) | Purkinje cell | proximal tubules | corpuscle | cast | cell | cord | sinusoid |
| 0 | 0 | — | — | — | — | — | — | — |
| 0 | 40 | — | — | — | — | — | — | — |
| 6 | 0 | +++ | +++ | | +++ | +++ | | |
| 6 | 20 | +++ | +++ | | +++ | ++ | | |
| 6 | 40 | ++ | ++ | | ++ | ++ | | |
| 6 | 80 | + | + | | + | ++ | | |

— no evidence ++ moderate
+ minimal +++ marked

Legend for Figures of Microscopic Findings

1. Cerebellum of thiamine-treated rat (40 τ). Purkinje cells show normal appearance. $\times 800$
2. Kidney of thiamine-treated rat (40 τ). Renal tubules and corpuscles show normal architecture. $\times 400$
3. Liver of thiamine-treated rat (40 τ). Hepatic cell cords and sinusoids show normal architecture. $\times 400$
4. Cerebellum of mercury and thiamine-treated rat (20 τ). Purkinje cells show degenerative and necrotic changes in marked degree. $\times 800$
5. Kidney of mercury and thiamine-treated rat (20 τ). Proximal tubules show cloudy swelling and necrosis in marked degree. Tubular casts are prominent. $\times 400$
6. Liver of mercury and thiamine-treated rat (20 τ). Numerous degenerative and necrotic liver cells are noticeable. $\times 400$
7. Cerebellum of mercury and thiamine-treated rat (40 τ). Purkinje cells show degenerative and necrotic changes in moderate degree. $\times 800$
8. Kidney of mercury and thiamine-treated rat (40 τ). Proximal tubules show cloudy swelling and necrosis in moderate degree. Some amounts of tubular casts are shown. $\times 400$
9. Liver of mercury and thiamine-treated rat (40 τ). Some numbers of degenerative and necrotic liver cells are shown. $\times 400$
10. Cerebellum of mercury and thiamine-treated rat (80 τ). Purkinje cells show degenerative change in slight degree. $\times 800$
11. Kidney of mercury and thiamine-treated rat (80 τ). Proximal tubules show cloudy swelling in slight degree. Small amounts of tubular casts are present. $\times 400$
12. Liver of mercury and thiamine-treated rat (80 τ). Some numbers of degenerative and necrotic liver cells are shown. $\times 400$

* Figures are of sections stained with hematoxylin and eosin.

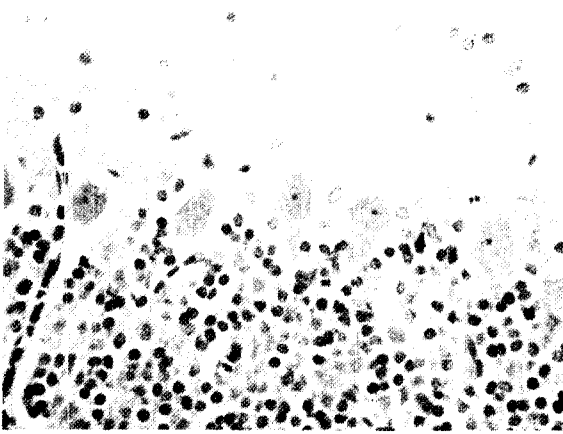


Fig. 1

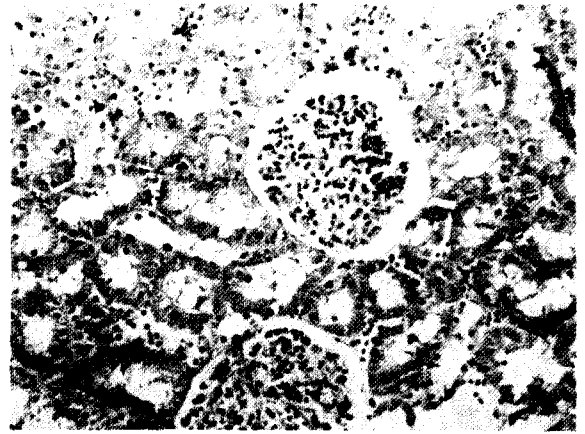


Fig. 2

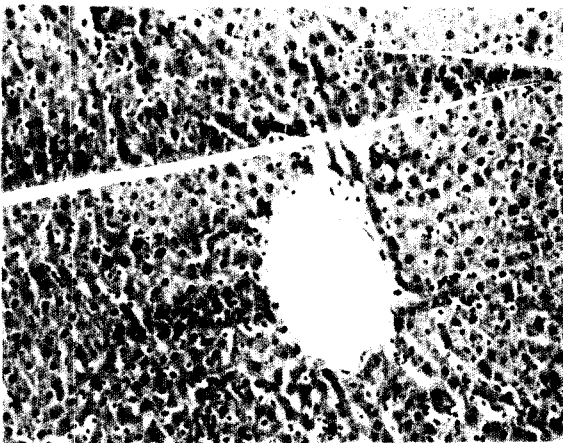


Fig. 3

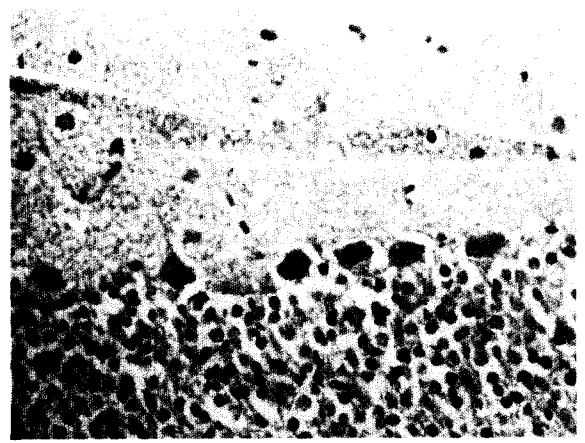


Fig. 4

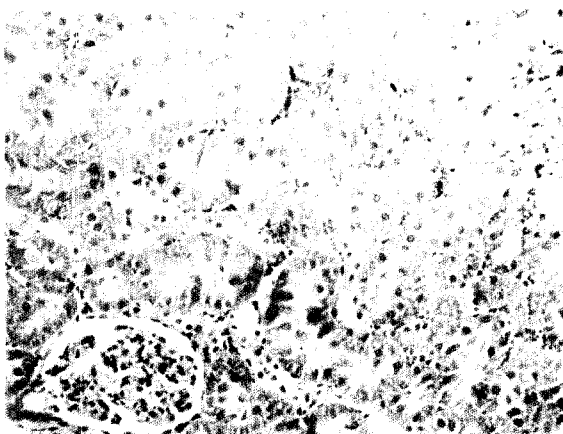


Fig. 5

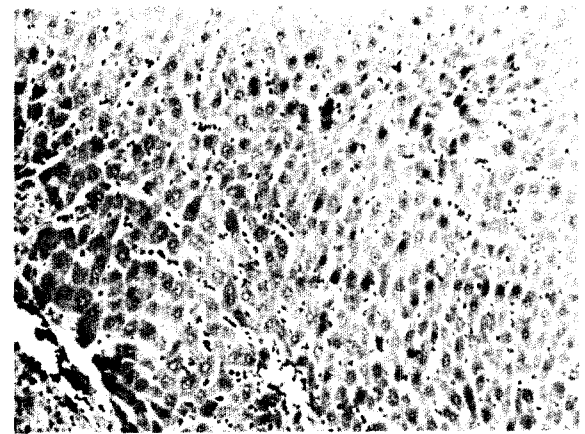


Fig. 6

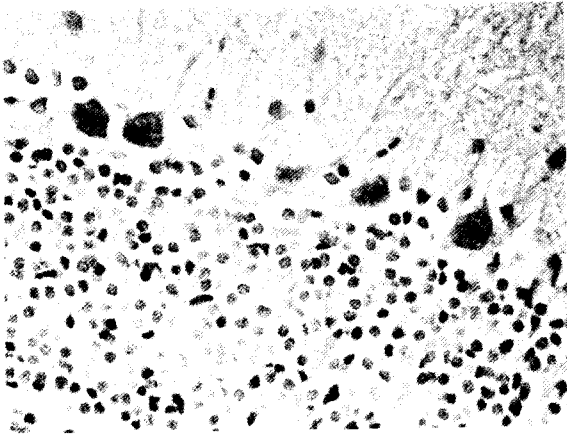


Fig. 7

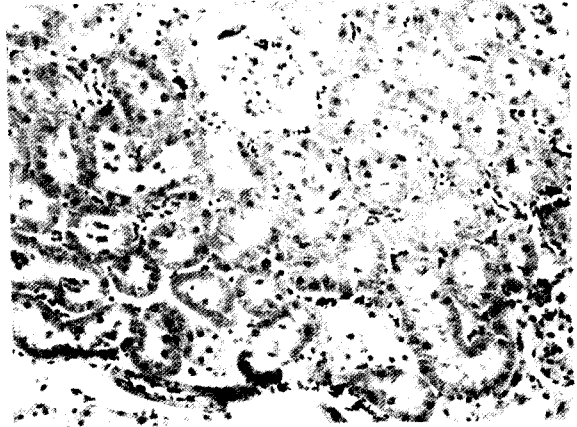


Fig. 8

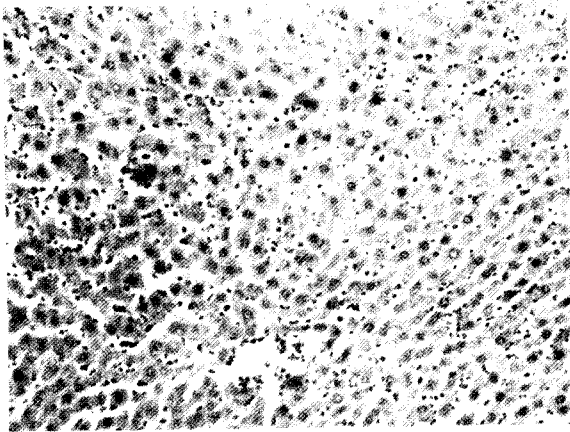


Fig. 9

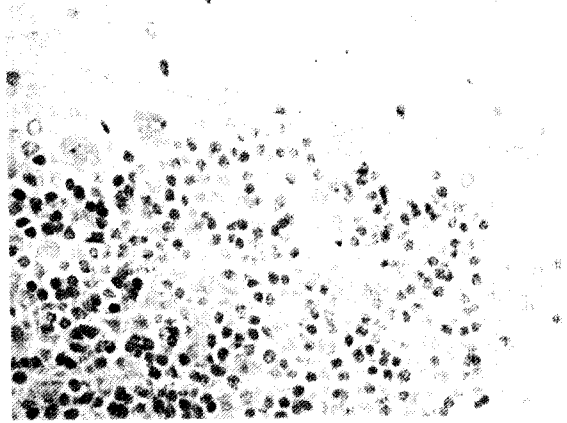


Fig. 10

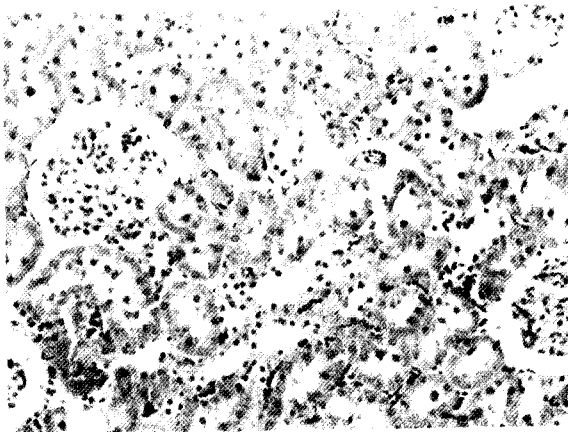


Fig. 11

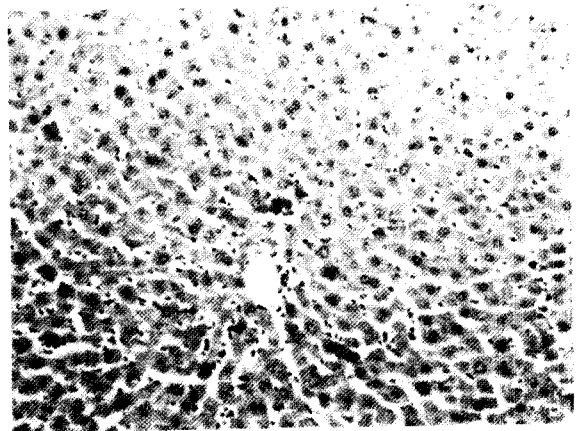


Fig. 12

般的인 paraffin包埋 過程을 거쳐 5-7 μ 薄片을 만들어 hematoxylin-eosin으로 染色한 다음 그 組織學的 變化樣相을 檢鏡¹²⁾하였다 (Table 2 參照).

III. 結果 및 考察

正常群의 경우와 같이 thiamine (40 γ) 單獨投與群에 있어서도 腦組織의 Purkinje細胞는 正常所見을 보였고(Fig. 1 參照), 腎臟尿管細管 및 腎小體 역시 正常構造를 나타내었으며(Fig. 2 參照), 肝細胞의 細胞索 및 肝洞樣構造 또한 모두 正常狀態를 보였다(Fig. 3 參照).

그러나 水銀과 thiamine (20 γ) 同時投與群의 경우는 腦의 Purkinje細胞에 뚜렷한 變性 및 壞死現象이 있었고(Fig. 4 參照), 腎近位尿管은 混濁腫脹과 현저한 壞死가 나타났으며 尿管腔內圓柱(tubular casts)가 뚜렷하게 보였고(Fig. 5 參照), 多數의 肝細胞가 變性 및 壞死現象이 눈에 띄게 나타나 있었다(Fig. 6 參照).

有機水銀化合物中 methyl mercury는 代表的인 低級 alkyl mercury로 어떠한 攝取經路에 依해서도 매우 吸收되기 쉽다고 알려졌다.⁵⁾ methyl mercury의 消化管에서의 吸收率은 實驗動物이나 人體에서 거의 100%에 가까우며 ethyl mercury도 이와 거의 비슷하나 phenyl mercury의 경우는 以上の 것들에 비해 낮아 그 吸收率은 50% 정도라고 밝혀진 바 있다.⁵⁾

Alkyl mercury의 尿中排泄은 극히 微量이며 그 대부분은 膽汁을 經由해서 消化管으로 排出되고 또한 쉽게 消化管에서 再吸收된다. 膽汁中の methyl mercury는 대부분이 cysteine 또는 glutathion에 結合한 형이라고 알려져 있으며, cysteine에 結合한 methyl mercury는 특히 腸管에서 再吸收가 容易하므로

-SH基가 있는 不溶性인 樹脂를 經口的으로 投與해서 再吸收를 妨害하게 한다면 結果的으로 methyl mercury의 體內에서의 吸收의 減少를 빠르게 할 수 있다는 事實이 밝혀진 바 있다.⁴⁾

Phenyl mercury는 體內에서 쉽게 分解하여 無機水銀으로 되므로 排出의 樣相은 無機이온型 水銀과 類似하다고 알려졌다. 水銀의 濃度가 어느정도 높아지면 腎臟機能不全을 誘發하게 된다고 하겠다.

有害重金屬이 어느정도 體內에 移行되면 宿主側의 條件即 性別, 年齡, 營養狀態, 妊娠 및 疾病等에 따라 그 미치는 影響이 各기 다르게 나타난다는 事實은 이미 잘 알려져 있다.

一般的으로 有害物質이 體內에 吸收되면 肝臟에서 代謝된 다음 親和性이 있는 各臟器에 移行하게 된다.

水銀은 黃(S)에 對한 親和力¹³⁾이 다른 重金屬 보다는 작으나 -SH基와 結合할 수 있기 때문에 -SH基를 억제함으로써 그 毒性을 나타내는 것으로 알려졌다.

水銀에 依한 各臟器組織의 病變에 對한 治療 내지 豫防效果를 期待하고 黃含有化合物인 thiamine을 濃度別로 投與하여 그 結果를 觀察하였다. 그러나 thiamine은 黃(S)의 結合狀態가 鎖狀이 아닌 環狀構造中の -S-形態¹⁴⁾로 있는 化合物이라는 點을 감안할때 -SH基나 -S-S-形態로 이루어진 마늘의 精油性分인 diallyl disulfide, propylallyl disulfide 및 diallyl trisulfide나 그 分解物質인 alicin, cystine, cysteine, hemocysteine 및 glutathion 以外에 thiolactic acid¹⁰⁾ 等과는 그 效果에 있어 어느 程度 劣等한 結果가 나타나리라는 點을 짐작케 한다.

이러한 事實로 미루어 보아 水銀과 thiamine 20 γ 投與의 경우는 水銀被害에 防禦效果가 그다지 作用하지 못한 結果를 나타내

있다고 할 수 있겠다.

水銀과 thiamine (40r) 同時投與群에서는 腦의 Purkinje 細胞가 中等程度의 變性 및 壞死를 나타냈고(Fig. 7 參照), 腎臟近位尿管 역시 中等程度의 混濁腫脹 및 壞死現象 및 약간의 尿管腔內圓柱가 나타났으며(Fig. 8 參照), 肝細胞에서는 多少의 變性 및 壞死가 있었다(Fig. 9 參照).

그러나 여기서 水銀과 thiamine (20r) 投與의 경우와 比較해 볼 때 腦의 Purkinje 細胞, 腎臟近位尿管 및 尿管腔內圓柱 그리고 肝細胞에 中等程度의 變性 및 壞死는 현저한 防禦作用을 가져 왔다고 認定되었는데, 이는 黃化合物中 環狀黃含有 物質인 thiamine도 水銀이 -SH基나 -S- 또는 -S-S-와의 結合에 依한 蛋白質合成阻害作用에 對한 保護作用이 있다는 White¹⁵⁾나 金¹⁶⁾의 報告와 거의 같다는 事實을 알아볼 수 있었다.

外國에서 phenyl mercury와 BAL同時投與에 依한 肝臟과 腎臟內 水銀의 蓄積量이 減少되었으나 腦에 있어서는 그렇지 않았다는 Berlinx Rylander⁸⁾의 報告 또한 이와 類似한 結果라고 할 수 있겠다.

한편 水銀과 thiamine (80r) 同時投與群에 있어서는 全體的으로 良好한 現象을 보여주고 있다. 即 腦의 Purkinje 細胞가 輕度の 變性만 있었으며(Fig. 10 參照), 腎近位尿管 역시 가벼운 정도의 混濁腫脹이 나타났고 尿管腔內圓柱 역시 약간 나타나는 경향을 보였다(Fig. 11 參照). 그리고 肝細胞의 變性 및 腔內壞死現象은 가벼운 정도로 나타나 있었다.

以上の 結果와 考察에서 본바와 같이 여하는 thiol 化合物, -SH基化合物이 水銀과 結合하여 黃配位化合物을 形成함으로써 水銀中毒에 對한 解毒作用을 나타낸다는 事實은 明確하나 體內 各臟器에 對한 選擇的 防禦機

轉究明과 鎖狀黃化合物과는 달리 本實驗에서 사용한 thiamine 같은 環狀黃化合物이 서로 어느 程度의 防禦效果面에서 差異가 있는가에 對한 疑問이 提起되는바 이 두가지 문제는 앞으로 더욱 發展된 研究가 있어야 할 것으로 믿는다.

IV. 結 論

Phenyl mercury 中毒에 對한 thiamine의 解毒作用 程度를 알아보기 위하여 白鼠66마리를 使用하여 正常群, thiamine40r 投與群, phenyl mercury 6ppm 投與群, 그리고 phenyl mercury 6ppm 投與에 thiamine을 各各 20r, 40r 및 80r를 同時投與한 3個群, 合計 6個群으로 區分하여 12週間 飼育하여 腦, 肝 및 腎臟의 病理組織學的變化를 觀察한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. thiamin (40r) 單獨投與群에서의 腦, 肝 및 腎臟의 組織은 正常構造를 보였다.
2. 水銀單獨投與群과 水銀 및 thiamine(20r) 同時投與群에서는 共히 小腦의 多數 Purkinje 細胞가 高度의 變性 및 壞死를 보였고, 肝臟에서도 變性 및 壞死된 細胞가 多數 發見되었으며 腎臟의 경우에도 近位尿管上皮가 極히 심한 混濁腫脹 및 壞死現象을 나타냈다.
3. 水銀과 thiamine(40r) 投與群에서는 小腦의 Purkinje 細胞가 中等程度의 變性 및 壞死를 보였고, 肝의 경우는 그 정도가 약간 나타났으며 腎臟의 近位尿管上皮는 中等程度의 腫脹 및 壞死를 보였으며 尿管腔內圓柱가 相當量 차 있었다.
4. 水銀과 thiamine(80r) 投與群에 있어서는 小腦의 Purkinje 細胞가 輕度の 變性만 보였고 肝臟에서는 약간, 腎臟의 近位尿管上皮 역시 輕症을 보였으며 尿管腔內에는 少量의 圓柱가 들어 있었다.

參考文獻

1. Frank E. G. and Jerome J. P. : Introduction to Environmental Toxicology, pp. 161-162, Elsevier, New York, 1980.
2. 車喆煥 : 公害와 疾病, pp. 299-300, 最新醫學社, 1974.
3. 曹圭常 : 産業保健學, pp. 171-172, 修文社, 1985.
4. Manahan, S. E. : Environmental chemistry, 2nd ed., pp. 182-85, Willard Grand Press, Boston, Massachusetts, 1975.
5. 洪思澳 : 最新衛生化學, pp. 466-68, 綠地社, 1983.
6. Parameggiani, L. : Encyclopaedia of occupational health and safety, 3rd ed., p. 1336, International Labour Office, Geneva, 1983.
7. Longcope, W. T. et al. : The use of BAL (British anti-lewisite) in the treatment of the injurious effects of arsenic, mercury and other metallic poisons, Annals of Internal Medicine, Vol. 31, No. 4, p. 545, 1949.
8. Berlin, M. & Rylander, R. : Increased brain uptake of mercury induced by 2, 3-dimercaptopropanol(BAL) in mice exposed to phenylmercuric acetate, J. pharmacol. exp. ther. Vol. 146, pp. 236-240, 1964.
9. Ishihara, N. et al. : Selective enhancement of urinary organic mercury excretion by D-penicillamine, British Journal of Industrial Medicine, 31, pp. 245-49, 1974.
10. 朴在純, 車喆煥 : 마늘이 白鼠의 水銀中毒에 미치는 影響에 關한 研究, 高麗大學校醫科大學論文集, 第 21 卷, 第 3 號, pp. 49-55, 1984.
11. 金成基, 車喆煥 : 마늘이 白鼠의 카드中毒에 미치는 影響, 高大醫大雜誌, 21 : 65, 1984.
12. 金箕洪, 吳根英 : 病理組織學實技, 新光出版社, 서울, 1983.
13. 石黑正恒 : SH 基의 化學修飾, 生物化學實驗法 8, pp. 27-29, 學會出版センタ, 1981.
14. 金俊平 : 生化學 p. 192, 集賢社, 1977.
15. White, J. F. & Rothstein, A. : The interaction of methylmercury with erythrocyts, Toxicol. Appl. Pharma., 26 : 370, 1973.
16. 金南一, 黃祐翊 : 水銀劑와 methionine 添加食餌가 白鼠體內 酵素活性에 미치는 影響, 高大醫大雜誌, 9 : 255, 1972.