

白鼠에서 乳糖과 칼슘이 急性 납中毒에 미치는 影響

金鍾雨·李容旭

서울대학교 보건대학원

The Effect of Lactose and Calcium on the Acute Lead Poisoning in Rats

Jong Woo Kim · Yong Wook Lee

School of Public Health, Seoul National University

Abstract

This study was performed to investigate the effect of lactose in 4 different concentrations against the protective effect of calcium on the acute lead poisoning in rats after 4 weeks treatment.

In this animal experiment, 70 albino male weanling rats (50-70g of body weight) of Sprague-Dawley strain were used.

Lead was dissolved in the distilled water and intubated at the dose of 400mg lead (as acetate)/kg of body weight/day. Calcium and lactose were administered in drinking water *ad libitum* dissolved with the solution of 0.7% calcium gluconate mixed with 40, 80, 160 and 320mM lactose respectively.

The results obtained were summarized as follows:

1. The rate of body weight gain in all treated groups turned out to be lower than that in the control group during 4 weeks treatment. The slow-down of body weight gain was the most significantly observed in the group treated with lead only ($p < 0.05$).
2. The relative spleen weight in lead only treated group was significantly lower than that of lead + calcium, lead + calcium + 80mM lactose treated group ($p < 0.05$).
3. The value of RBC, WBC, Hb and Hct showed a decreasing tendency in the group treated with lead only ($p < 0.05$), however, a significant decrease was not observed in the group treated with lead + calcium. On the other hand, the protective effect of calcium was deteriorated in the group treated with lead + calcium + lactose.

4. The activity of δ -aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALAD activity) showed the same tendency as No. 2.
5. The lead concentration in the blood (PbB) showed an increasing tendency and the inter-relation among the different groups was also identical with No. 2.
6. With a statistical approach, it was found out that the activity of δ -ALAD and the lead concentration in the blood show a relation of inverse proportion ($r = -0.7301$). The diagram was interpreted with the logarithmic equation $\ln Y = 5.5357 - 0.0251X$ (X: PbB, Y: δ -ALAD activity).
7. In the histopathological findings of the kidney, the protective effect of calcium was observed. However, the protective effect of calcium was restricted in the group treated with lead + calcium + lactose.

As a conclusion, the intensity of the acute ingested lead poisoning was obviously reduced by calcium, however, the protective effect of calcium was deteriorated in proportion with the concentration of the lactose to be administered.

On the other hand, it was also noted that the deterioration was lightly restrained in the group treated with the physiological concentration of 80mM lactose than the results shown in the groups treated with lactose of other concentrations.

I. 緒 論

납은 약 3000년전부터 기구, 용기 등에 다양하게 사용되어 온 중요한 重金屬의 일종이다.¹⁾ 특히 산업혁명 이후 자동차 휘발유에 4알킬납을 첨가하는 것을 비롯하여 축전지, 페인트, 화학공업, 인쇄업, 케이블공업 등에서 사용되어지는 등 최근 그 용도가 더욱 다양해지고, 납, 아연 등의 제련공장에서 납배출량이 늘어나 환경 중에 납농도가 증가되고 있는 실정이다.²⁾

우리나라에서도 급속한 경제·산업발전과 도심권 인구 집중현상으로 인하여 자동차의 수가 날이 증가 일로에 있고 일상 금속제품이나 용기, 안료, 음식을 통한 납폭로기회가 더욱 흔해졌다. 이에 따라 납의 체내 축적 可能性도 높아져 國民保健上 重要문제로 대두되고 있다.³⁾

자연환경중의 납농도에 대한 WHO의 보고에

의하면 文明으로 오염되지 않은 지역의 대기중에 $0.0001 \sim 0.001 \mu\text{g}/\text{m}^3$, 토양중에 $5 \sim 25 \text{mg}/\text{kg}$, 목초중에 $1.0 \text{mg}/\text{kg}$, 채소류와 곡물중에 $0.1 \sim 10 \text{mg}/\text{kg}$ 의 납을 함유하고 있는 것으로 나타났다.⁴⁾ 그러나 인공적인 납배출량은 자연에서 배출되는 납배출량에 비해 훨씬 많은 양이고 그 중 납이 첨가된 휘발유가 자동차 연소 과정에서 생성되는 것이 납오염의 주종을 이루고 있다.⁵⁾

납의 인체내 흡수는 經口, 經氣道, 經皮의 3가지 經路가 있으며 음식물로 섭취되는 납의 약 15%와 공기를 통하여 흡입되는 납의 약 50%가 각각 혈중에 흡수되어 일부는 잔류하고 나머지는 배설물, 객담, 땀, 손뿔 등을 통하여 체외로 배출된다.^{4), 5)} 납은 주로 十二指腸에서 흡수되며,⁶⁾ 납이 축적되는 主要臟器는 骨, 腎臟, 肝臟, 腦의 순으로 이루어 진다고 하였다.⁷⁾ 한편 曹등³⁾의 보고에 의하면 도시 및 농촌지역의

두발 중 납함량의 평균치는 각각 7.5 ± 5.72 ppm, 8.03 ± 5.97 ppm 으로 나타났다.

납의 주요한 섭취원은 식품이며, 성인의 경우에는 약 $100 \sim 500 \mu\text{g}/\text{day}$ 정도의 납을 섭취한다고 보고되어 있다.²⁾ 식품을 통한 1일 섭취량에 대하여 외국의 경우 Friburg⁸⁾는 $200 \sim 300 \mu\text{g}/\text{day}$, Piotrowski⁹⁾는 $100 \sim 500 \mu\text{g}/\text{day}$ 로 보고하였고, 국내에서는 曠 등¹⁰⁾이 $256 \mu\text{g}/\text{day}$ 로 보고하였다. FAO/WHO의 1일 섭취 허용기준은 $430 \mu\text{g}/\text{day}$ 로 보고 되어 있다.¹¹⁾

납중독은 주로 중추 및 말초신경장애,¹²⁾ 조혈 기능장애,¹³⁾ 신장기능장애,¹⁴⁾ 생식기능장애¹⁵⁾를 유발시킨다고 알려져 있다. 어린이에 대한 주된 납오염원은 器物이나 施設物에 塗裝된 페인트의 落下物과 먼지 등이며 手脂衛生이 이들의 혈중 납농도와 연관이 있다고 한다.²⁾ 특히 어린이들은 성인에 비해 납에 대한 감수성이 높으며 빈혈증, 정신신경장애 및 지능저하증상을 나타낸다.¹⁶⁾

납과 다른 물질과의 상관관계에 대한 보고에서 철,¹⁷⁾ 칼슘,¹⁸⁾ 인,¹⁹⁾ 구리,²⁰⁾ 아연,²¹⁾ 단백질,²²⁾ 주석,²³⁾ 비타민 B₁,^{24, 25)} 등은 납의 흡수와 축적을 증가시키는 것으로 보고 되었다.

한편 1970년대 이전까지는 牛乳가 납중독에 대한 해독작용을 할 것으로 인식되어 왔었다.²⁶⁾ 그러나 우유중 주요성분인 유당이 납의 흡수와 축적을 증가시키는 주요인으로 알려진 후 납중독시 우유의 방어효과에 대한 否定的 測面에서 많은 논란이 되어 왔다.²⁹⁻³¹⁾ Bushnell (1983년) 등에 의하면 rat milk에서 乳糖을 生理的 濃度인 80mM 수준으로 공급할 경우 유당이 腎臟과 骨에서 납의 흡수와 축적을 오히려 감소 시켰다고 보고 하였다.³²⁾

따라서 본 연구에서는 白鼠에서 유당의 농도 변화에 따른 急性 납 中毒에 미치는 影響을 평가하기 위하여, 납 中毒時 예방효과가 있다고

알려진 칼슘을 공급하면서 유당과 납을 투여하여 血液學的 變化, 血中 납濃度, δ -aminolevulinic acid dehydratase 活性度 및 病理組織學的 檢査 등을 실시하였다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗動物

3 주령의 Sprague-Dawley系 雄性離乳期 白鼠를 구입하여 동물실험실에서 일주일동안에 비 사육한 후 건강한 50~70g에 도달하는 白鼠를 본 실험에 사용하였다. 실험기간 중 동물 실험실의 환경은 실내의 자연채광하에서 온도 $23 \sim 26^\circ\text{C}$, 습도 55~60%가 유지되도록 하였으며 사육케이지는 polycarbonate 재질의 일반케이지를 사용하였다. 供試動物은 사육케이지당 5 마리씩 넣어 飼料와 飲水를 자유로이 섭취하게 하였다.

2. 實驗方法

1) 實驗群 및 藥物投與

실험군은 Table 1과 같이 대조군, 납 단독 투여군, 납+칼슘 복합투여군, 유당의 농도변화에 따른 납+칼슘+유당 복합투여군, 총 7군으로 하였으며 각 군당 10마리의 실험동물을 無作為로 배치하여 70마리의 白鼠를 대상으로 4 주동안 약물을 투여하였다.

약물투여는 납의 경우 $400\text{mg}/\text{kg b. w.}/\text{day}$ 가 되도록 강제 經口 投與 하였으며, 칼슘과 유당은 멸균한 수돗물에 용해시켜 음수로 자유급여시켰다. 모든 약물의 투여와 음수의 교체는 1일 1회 오전 중에 실시하였다.

본 실험에서는 납, 칼슘, 유당의 공급을 위해 特級試藥用 lead acetate, calcium gluconate, 乳糖을 구입하여 사용하였다.

2) 採血 및 臟器重量의 測定

각 실험군당 10마리를 주 6회씩 4 주동안

Table 1. Dosage of each compound during 4 weeks treatment

Group	Number of animal	Compound		
		Lead acetate* (mg/kg body weight /day)	Calcium gluconate*(%)	Lactose* (mM)
Control	10	—	—	—
Pb only	10	400	—	—
Pb + Ca	10	400	0.7	—
Pb + Ca + 40mM lactose	10	400	0.7	40
Pb + Ca + 80mM lactose	10	400	0.7	80
Pb + Ca + 160mM lactose	10	400	0.7	160
Pb + Ca + 320mM lactose	10	400	0.7	320

* Lead acetate was administered orally, and calcium gluconate and lactose were given with drinking water *ad libitum*.

약물투여하고 최종 투여 후 16시간 絶食시킨 다음 체중을 측정하였다.

Thiopental sodium 50mg/kg을腹腔에 주사하였으며, 마취된 동물의 腹部正中線을 절개한 후 심장에서부터 혈액을 채취하여 그 일부는 CBC-bottle에 담아 혈액학적 분석에 사용하였고 나머지 중 3ml를 헤파린을 처리하여 적혈구내 δ -aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALAD) 활성도와 혈중 납농도(PbB) 분석에 사용하였다.

혈액을 채취한 다음 肝臟, 脾臟, 腎臟을 여과지상에 적출하여 절대장기중량을 측정 한 후 체중과 비교하여 상대장기중량을 계산하였다.

3) 血液學的 分析

Sodium-EDTA로 처리된 CBC-bottle에 들어있는 혈액을 blood cell counter (Contraves digisell 3100)를 사용하여 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), hemoglobin(Hb)치, hematocrit(Hct)치를 측정하였다. 분석에 사용할 혈액은 냉장고에 보관하였으며 채취 후 24시간 이내에 사용하였다.

4) 赤血球內 δ -aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALAD) 活性度 測定

헤파린으로 처리된 혈액 0.5ml을 取해서 증류수 3.25ml를 가하여 용혈시킨 후 1.5ml를 취하여 Nikkanen등³³⁾의 방법에 의해서 0.02M aminolevulinic acid를 가한 다음 37°C에서 1시간 반응시켜 10% trichloroacetic acid로 반응 정지시킨 후, 생성된 porphobilinogen (PBG)를 Ehrlich 시약으로 發色시켜 555nm에서 spectrophoter (Hitachi, Model 200-20)을 사용하여 吸光度를 측정하였다. δ -ALAD活性도는 아래 식에 의거하여 산출하였다.

$$\delta\text{-ALAD activity} = \frac{\text{absorbance (pH 6.8)}}{\text{hematocrit}} \times 109.4$$

(μ moles PBG/hr/l of RBC)

5) 血中 鉛濃度(PbB)의 測定

혈액 0.25ml를 취하여 증류수 1ml로 용혈시킨 후 Baselt³⁴⁾의 방법에 따라 10% trichloroacetic acid를 가하여 1시간 동안 방치한 다음 원심분리하여 상층액을 取하였다. 남

은 침전물을 0.1% bromphenol blue 용액 한 방울이 포함된 5% trichloroacetic acid 로 세척하여 재원심분리하여 상층액을 취한 후 pH 를 6.5~7.0으로 조정 한 다음, sodium diethyldithiocarbonate 0.2ml로 chelation시키고 methylisobutylketone (MIBK)로 分劃하여 MIBK 층을 취하여 납분석 시료로 사용하였다. 납의 분석은 air : acetylene = 1 : 3, 파장 283.3 nm, slit width 0.7nm 조건하에서 원자흡광계(Perkin Elmer Model 372)를 사용하였다.

6) 肝臟, 脾臟, 腎臟의 病理組織學的 檢査
肝臟, 脾臟, 腎臟을 摘出하여 重量을 측정 한 후 phosphate buffered 10% formaline 용액(0.02M, pH=7.0)에 固定하였다. 固定된 組織을 alcohol로 脫水시켜 paraffin으로 包埋한 후 組織切片器로 薄層切片(2~5 μ)을 제작하여 hematoxylin-eosin 染色을 한 다음 장기의 變化를 光學顯微鏡으로 관찰하였다.

7) 分析 및 統計處理方法

모든 실험자료는 Duncan procedure (multiple comparison test)에 의하여 각 군 사이의 차이를 檢證하였다.

III. 實驗結果 및 考察

본 實驗에서 납의 經口投與量을 400mg/kg of b.w./day로 설정한 것은 4주 동안의 예비실험을 통해 急性 납中毒時 Hct치가 유의한 감소를 보이는 最低限界值였기 때문이다. 이것은 白鼠에서 납의 급성독성이 발현되기 위해서는 납의 농도가 200mg/kg of b.w./day 이상이 되어야 한다는 Zmudzki 등³⁵⁾의 보고와 비슷한 結果이었다.

칼슘투여에 있어서 제공된 0.7% calcium gluconate는 Six와 Goyer의³⁶⁾ 보고를 근거로 하여 설정하였다. 乳糖의 농도는 rat milk

의 生理的 濃度인 80mM을 기준으로 하여 1/2배 2배 및 4배로 농도변화를 주어 관찰하였다.

1. 體重增加의 變化

4주 동안 약물투여를 하면서 관찰한 체중의 변화는 Fig.1에서 나타낸 바와 같다.

납 단독투여군은 대조군에 비해 약 2주 후부터 體重增加率이 鈍化되는 推移를 나타내었으며 마지막 약물투여 직전의 體重은 대조군에 비해 有意하게 체중증가의 둔화를 보였다(p < 0.05): 이것은 납+칼슘+유당 복합투여군에서도 비슷한 양상을 보였는데 이는 Bushnell 등³²⁾의 결과와 일치하였다. 그러나 납+칼슘 복합투여군은 대조군에 비해서 체중증가율의 둔화는 보였지만 有意한 差를 나타내지는 않았

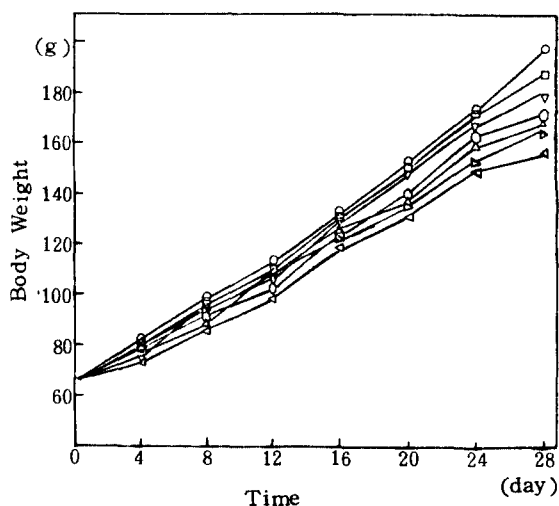


Fig. 1. Comparison of body weight between treatment group.

- Control
- Pb + Ca
- ▽ Pb + Ca + 80mM lactose
- ◇ Pb + Ca + 160mM lactose
- △ Pb + Ca + 40mM lactose
- ▷ Pb + Ca + 320mM lactose
- ◁ Pb only

Table 2. The relative organ weight of each group after 4 weeks treatment

		(Mean + S. D.)					
Group Item	Control	Pb only	Pb + Ca	Pb + Ca + 40 mM lactose	Pb + Ca + 80 mM lactose	Pb + Ca + 160 mM lactose	Pb + Ca + 320 mM lactose
Liver	4.09 ± 0.66	3.60 ± 0.35	4.05 ± 0.37	3.94 ± 0.70	4.32 ± 0.72	3.72 ± 0.46	3.82 ± 0.37
Spleen	0.99 ± 0.16 ^{b,d,g}	0.76 ± 0.10 ^{a,c,e}	1.00 ± 0.11 ^{b,d,g}	0.72 ± 0.18 ^{a,c,e}	1.09 ± 0.13 ^{b,d,f,g}	0.81 ± 0.14	0.73 ± 0.07 ^{a,c,e}
Kidney	0.57 ± 0.11	0.54 ± 0.04	0.60 ± 0.05	0.56 ± 0.08	0.58 ± 0.06	0.55 ± 0.03	0.56 ± 0.07

- The unit of relative organ weight is g/100g body weight.
- Pb was dissolved in the distilled water and intubated with 400mg Pb (as acetate) /kg body weight.
- Calcium and lactose were given at 0.7% calcium gluconate and 400 mM, 80 mM, 160 mM, and 320 mM lactose respectively in the drinking water *ad libitum*.
- A is significantly different from control, b from Pb only treated group, c from Pb + Ca treated group, d from Pb + Ca + 40 mM lactose, e from Pb + Ca + 80 mM lactose, f from Pb + Ca + 160 mM lactose, and g from Pb + Ca + 320 mM lactose ($p < 0.05$).

다. 납투여에 의한 체중증가율의 둔화는 Aungst³⁷⁾와 Deluca 등³⁸⁾의 보고에서와 같이 납이 생체에 필수적인 무기질의腸管内 흡수를抑制하며 臟器內 납축적을 일으켜 病理現象을 유발하여 대사작용을 저해시켜 사료 섭취량을 감소시키기 때문이라 思料된다.

2. 臟器重量의 變化

약물투여를 종료하고 16 시간 絶食시킨 후 剖檢하여 臟器重量을 측정하였고 체중당 백분율로 표시된 相對臟器重量의 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. 肝臟, 腎臟의 상대장기중량은 대조군과 실험군들 간에는 有意한 差가 없었다. 다만 肝臟에서 납+칼슘+80 mM 유당 복합투여군이 대조군보다 상대장기중량이 증가함을 보였으며, 腎臟에서는 납+칼슘 복합투여군과 납+칼슘+80 mM 유당 복합투여군이 다소 증가하였음을 보였다. 납 단독투여에 의한 脾臟의 상대장기중량이 有意하게 감소하였는데

($p < 0.05$), Miller 등³⁹⁾의 보고에 의하면 白鼠에 납투여시 腎臟과 腸管에서의 납 잔류량은 높았으나 肝臟과 脾臟에서는 臟器內의 납 잔류량이 낮았으며, 이것과 상대장기중량 변화와의 상관관계는 찾아 볼 수 없다고 하였다. 그러나 납을 長期間 투여했을 때에는 脾臟의 중량이 감소한다고 보고 하였는데, 이것은 본 실험의 결과와 일치하였다. 납+칼슘 복합투여군과 납+칼슘+80 mM 유당 복합투여군에서는 대조군과 같이 脾臟의 상대장기중량 감소를 보이지 않았는데, 이는 납 단독투여에 의한 脾臟의 상대장기중량 감소를 칼슘이 억제하여 납중독에 대한 칼슘의 방어효과를 간접적으로 보여주는 결과이며, 乳糖을 生理的 濃度인 80 mM을 투여할 때는 납의 生體內 臟器蓄積을 억제시켜 준다는 Bushnell³²⁾의 보고와 일치하는 것으로 思料되나 이를 밝히기 위해서는 臟器內 납함량 측정을 행해야 할 것으로 생각된다. 그외의 납+칼슘+유당 복합투여군에 있어서 상대장기중

량은 납 단독투여군에서와 같이 감소하였는데, 이것은 生理的 乳糖濃度가 아닌 다른 乳糖濃度에서는 칼슘의 腸內 흡수가 감소된다는 Pansu 등⁴⁰⁾의 보고와 밀접한 관계가 있는 것으로 思料된다.

3. 血液學的 變化

血液을 採取하여 血液學的 變化를 분석한 結果를 Table 3에 나타내었다. 납 단독투여군에서 WBC, RBC, Hb 및 Hct 치가 대조군에 비해 현저히 감소하였는데($p < 0.05$), 이는 납 중독시 低血球性, 低色素性 貧血이 일어난다는 Klauder 등⁴¹⁾의 보고와 일치하였다. 납 중독시에는 지속적으로 網狀赤血球 增加症이 일어나며 납이 적혈구막에서 Na-K-ATPase를 억제하여 細胞膜의 完全성을 상실케 함으로 溶血性 貧血이 일어난다⁴²⁾ 骨髓機能이 심하게

파괴되는 再生不良性 貧血期에 도달하면 적혈구 造血因子의 자극저해로 세포수가 급격히 감소된다.⁴³⁾ 따라서 본 실험에서도 관찰된 적혈구의 감소현상은 납에 의한 骨髓機能低下로, 앞에서 언급한 脾臟의 상대장기중량 감소와도 관계가 있다고 생각된다.

한편 납+칼슘 복합투여군에서는 납 단독투여군보다 혈액학적 변화가 완화되는 傾向을 보였는데 이는 칼슘의 방어효과에 기인한다고 생각된다. 80 mM 유당투여군을 제외한 납+칼슘+유당 복합투여군은 납 단독투여군보다 혈액학적 변화가 완화되었지만 납+칼슘 복합투여군에서 보다는 변화가 심하였다. 유당농도별투여군중 80 mM 유당을 투여한 군이 다른 농도별 유당 투여군보다 양호한 상태의 血液狀을 보였다. 80 mM 유당을 제외한 유당 농도별투여군들은 유당 농도가 증가함에 따라 혈액학적

Table 3. The comparison of hematological changes of each group after 4 weeks treatment

		(Mean \pm S. D.)					
Group Item	Control	Pb only	Pb + Ca	Pb + Ca + 40 mM lactose	Pb + Ca + 80 mM lactose	Pb + Ca + 160mM lactose	Pb + Ca + 320mM lactose
WBC ($10^3/mm^3$)	15.90 \pm 0.67 ^{b,c,d,e,f,g}	5.44 \pm 1.06 ^{a,e,g}	6.02 \pm 0.39 ^{a,e,g}	7.20 \pm 0.99 ^{a,e}	10.14 \pm 3.52 ^{a,b,c,d}	7.63 \pm 1.31 ^a	9.30 \pm 2.25 ^{a,b,c}
RBC ($10^9/mm^3$)	7.62 \pm 1.09 ^{b,f}	5.68 \pm 0.12 ^{a,c,d,e}	7.23 \pm 0.90 ^b	6.94 \pm 0.91 ^b	6.94 \pm 0.49 ^b	6.35 \pm 0.43 ^a	6.60 \pm 0.52
Hb (g/dl)	14.30 \pm 0.25 ^{b,c,d,e,f,g}	11.34 \pm 0.50 ^{a,d}	11.05 \pm 0.51 ^{a,d}	12.65 \pm 0.81 ^{a,b,c,f}	11.95 \pm 0.88 ^a	11.12 \pm 1.16 ^{a,d}	11.70 \pm 0.42 ^a
Hct (%)	53.35 \pm 2.98 ^{b,c,d,e,f,g}	36.60 \pm 1.65 ^{a,c,e}	46.13 \pm 7.07 ^{a,b,g}	40.40 \pm 3.97 ^a	44.98 \pm 1.28 ^{a,b}	39.74 \pm 2.49 ^{a,c}	40.78 \pm 6.25 ^a
MCV (μ^3)	69.33 \pm 3.21	64.40 \pm 3.51	63.50 \pm 4.04	63.50 \pm 2.81	65.40 \pm 3.91	62.00 \pm 2.35	65.00 \pm 3.00

- Pb was dissolved in the distilled water and intubated with 400mg Pb (as acetate) /kg body weight.
- Calcium and lactose were given at 0.7% calcium gluconate and 40mM, 80mM, 160mM, and 320mM lactose respectively in the drinking water ad libitum.
- A is significantly different from control, b from Pb only treated group, c from Pb + Ca treated group, d from Pb + Ca + 40mM lactose, e from Pb + Ca + 80mM lactose, f from Pb + Ca + 160mM lactose and g from Pb + Ca + 320mM latose ($p < 0.05$).

변화가 惡化되는 경향을 나타내었다.

4. 赤血球内 δ -aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALAD) 活性度 및 血中 납濃度 (PbB)

赤血球内 δ -ALAD 活性度の 변화와 血中 납濃度の 변화를 분석하여 Table 4에 나타내었다.

납은 Hb의 生成에 필수적인 heme 합성을 저해할 뿐 아니라 Hb의 生成에 관여하는 여러 종류의 필수효소의 기능을 저해한다. 납의 효소기능 억제에 가장 민감하게 반응하는 효소중의 하나는 δ -aminolevulinic acid로부터 porphobilinogen를 형성하는데 관여하는 δ -aminolevulinic acid dehydratase이다.

본 실험에서 납 단독투여시 δ -ALAD의 활성도는 대조군보다 有意하게 감소하였으며($p < 0.05$), δ -ALAD 활성도의 억제율은 88.05%이었다. 이것은 Bell 등⁴⁴⁾과 Zmudzki 등³⁵⁾이 보고한 결과와 유사하였다.

한편 칼슘을 투여했을 때에는 납에 대한 δ -ALAD 활성도 변화를 감소시켜 준다는 Florian⁴⁵⁾의 보고와 같이 본 실험에 있어서도 납+칼슘 복합투여군에서는 납 단독투여시 δ -ALAD 활성도의 억제율 88.05%에 비해 억제율은 75.64%를 나타내어 납중독에 대한 칼슘의 방어효과를 認定할 수 있었다. 그러나 납+칼슘+유당 복합투여군에서는 납+칼슘 복합투여군보다 δ -ALAD 활성도가 더욱 감소하였으며($p < 0.05$), 80 mM 유당 복합투여군을 제외

Table 4. The comparison of δ -aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) activity in the erythrocyte and lead concentration in the blood (PbB) after 4 weeks treatment

(Mean \pm S. D.)

Group Item	Control	Pb only	Pb + Ca	Pb + Ca + 40mM lactose	Pb + Ca + 80mM lactose	Pb + Ca + 160mM lactose	Pb + Ca + 320mM lactose
δ -ALAD activity (1)	507.30 \pm 35.66 ^{a,b,c,d,e,f,g}	60.62 \pm 7.50 ^{a,c}	123.60 \pm 42.68 ^{a,b,d,e,f,g}	58.95 \pm 10.31 ^{a,c}	70.97 \pm 12.57 ^{a,c}	66.16 \pm 21.69 ^{a,c}	67.42 \pm 15.21 ^{a,c}
Inhibition (%) of δ -ALAD activity (2)	0	88.05	75.64	88.38	86.01	86.96	86.71
PbB (3)	3.90 \pm 1.29 ^{b,c,d,e,f,g}	80.08 \pm 15.67 ^{a,c,d,e,f,g}	30.00 4.08 ^{a,b,f}	36.66 \pm 8.16 ^{a,b}	28.33 \pm 7.53 ^{a,b,f,g}	44.40 \pm 9.18 ^{a,b,c,e}	45.00 \pm 11.13 ^{a,b,c}

(1) μ moles PBG/hr/l of RBC

$$(2) \text{ Inhibition (\%)} = \frac{507.30 - x}{507.30}$$

(3) μ g/100ml of blood

- Pb was dissolved in the distilled water and intubated with 400mg Pb(as acetate)/kg body weight.
- Calcium and lactose were given at 0.7% calcium gluconate and 40mM, 80mM, 160mM, 320mM lactose respectively in the drinking water ad libitum.
- A is significantly different from control, b from Pb only terated group, c from Pb + Ca treated group, d from Pb + Ca + 40mM lactose, e from Pb + Ca + 80mM lactose, f from Pb + Ca + 160mM lactose, and g from Pb + Ca + 320mM lactose ($p < 0.05$).

하고는 유당 농도가 증가할수록 적혈구내 δ -ALAD 활성도는 감소하는 경향을 보였으나 有意한 差는 없었다.

혈중 납농도(PbB)가 생화학적 변화에 관한 직접적인 지표가 되는 것은 아니라 할지라도 이것은 여러해 동안 납흡수 정도를 나타내는 대표적인 지표로 간주되어 왔다. 腸管內에서 흡수된 납은 혈액과 함께 운반되어 조직에 축적되므로 혈중 납농도는 납에 폭로된 시점에 있어서의 납의 動的平衡狀態를 反映해 준다. Lerner⁴⁶⁾는 혈중 납농도의 意義에 대해서 납의 폭로 정도를 확정하고 납에 대한 생체의 영향을 평가해 주는 점에서 그 가치가 크다고 보고 하였다.

본 실험에서 납 단독투여군의 혈중 납농도는 $80.08 \pm 15.67 \mu\text{g}/100\text{ml}$ 로 나타나 대조군의 $3.90 \pm 1.29 \mu\text{g}/100\text{ml}$ 보다 매우 높게 검출되었다. 납+칼슘 복합투여군에서는 $30.00 \pm 4.08 \mu\text{g}/100\text{ml}$ 가 검출되어 납 단독투여군보다 有意하게 감소하였다($p < 0.05$). 납+칼슘+80mM 유당 복합투여군의 혈중 납농도는 $28.33 \pm 7.53 \mu\text{g}/100\text{ml}$ 으로 나타나 납+칼슘 복합투여군보다 적은 양이 검출되었다. Bell 등⁴⁴⁾의 보고에 의하면 유당이 함유된 우유를 납과 복합투여 했을때 정상적인 사료와 납을 투여했을 때 보다 혈중 납농도가 높다고 하였는데 본 실험에서도 80 mM 유당투여군을 제외한 납+칼슘+유당 복합투여군들에서 납+칼슘 복합투여군보다 有意하게 높게 나타나 유당에 의해 납의 흡수가 증가되었음을 확인할 수 있었다.

赤血球內 δ -ALAD 활성도와 혈중 납농도(PbB)와의 상관관계를 Fig.2에 나타내었다. 이들 간에는 逆相關關係를 보였으며($r = -0.7301$) 相關式은 $\ln Y = 5.537 - 0.0251 X$ (X : PbB, Y : δ -ALAD activity)

Zielhuis⁴⁷⁾는 기존 발표된 문헌을 통해 납 흡수 및 납중독을 평가하는데 사용되는 모든

지수간의 상관관계를 고찰한 바 납흡수 증가에 따라 납중독 지수들이 동시에 변화하기는 하지만 상관의 정도나 특성 등에 관한 정보는 학자간에 차이가 있었다고 보고 하였다. 그러나 혈중 납농도가 $50 \sim 60 \mu\text{g}/100\text{ml}$ 수준에 이르기까지는 δ -ALAD 活性도와 혈중 납농도 간에는 밀접한 상관관계를 갖는다고 알려져 있다.⁴⁸⁾

본 실험에서 혈중 납농도와 赤血球內 δ -ALAD 活性도의 상관성을 조사한 결과 상관계수 $r = -0.7301$ 로 나타났다. 이러한 상관성은 낮은 농도의 납에 폭로되었을 때는 약해지고 과량의 납에 폭로되었을 때에는 강해진다고 추동⁴⁹⁾이 보고하였던 바, 본 실험에서도 강한 상관관계를 나타낸 것은 납의 過量暴露로 인한 것으로 思料된다.

5. 病理組織學的 檢査

납 단독투여군, 납+칼슘 복합투여군, 납+칼슘+유당 복합투여군에서는 대조군과 달리 proximal tubule을 이루고 있는 세포질의 混

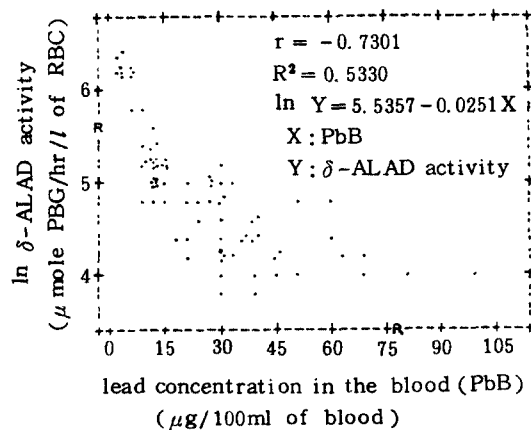


Fig. 2. Correlation between $\ln \delta$ -ALAD activity in the erythrocyte and lead concentration in the blood (PbB) after 4 weeks treatment. Logarithmic scale on the ordinate.

濁腫脹과 tubule의 脫落과 壞死 등을 관찰할 수 있었으며 또한 核의 肥大와 血管周圍에 有核白血球의 출현과 上皮細胞의 腫大현상을 관찰할 수 있었다.

납 단독투여군에서는 다른 실험군에 비하여 tubule의 壞死를 비롯한 세포질의 混濁腫脹이 심하게 나타났다. 신사구체의 tuft가 드물게 소실되고 외막도 파괴되어 병변이 나타나는 부위도 있었고 특히 核封入體를 確認할 수 있었다(Fig.3). 일부 tubule의 內腔에서는 硝子形의 凝固物과 巨大한 核을 가진 脫落細胞들이 곳곳에서 관찰되었다(Fig.4). 이러한 腎細尿管의 上皮細胞는 退行性 變化가 심하여 세포질이 불규칙하게 염색되었으며 납+칼슘 복합투여군에서는 다소 완화된 所見을 나타내었다(Fig.5). 또한 납+칼슘+유당 복합투여군에서도

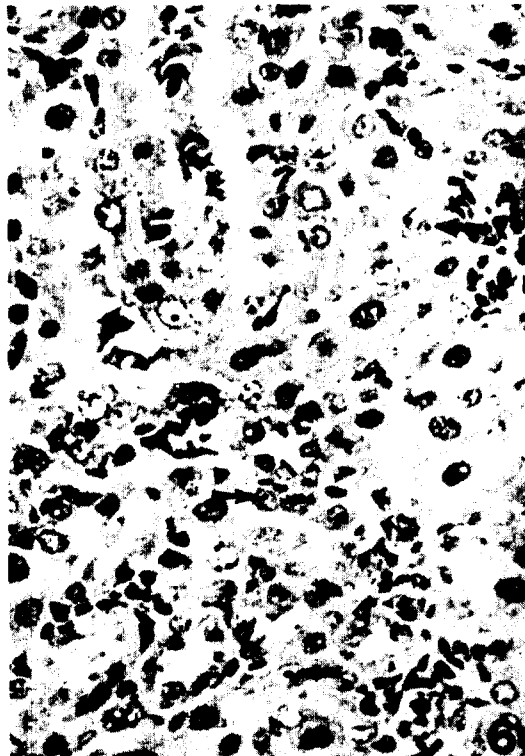
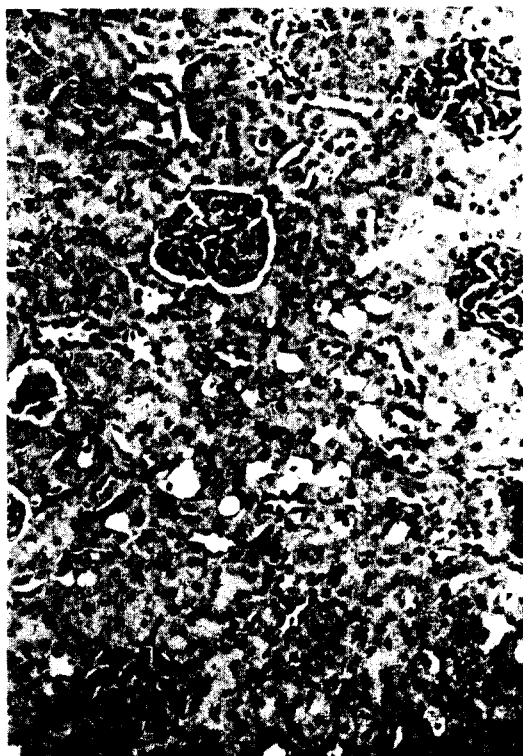
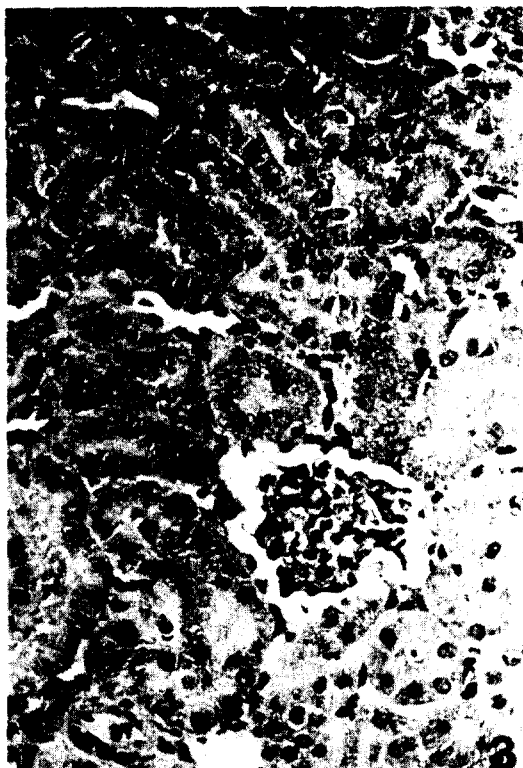
납 단독투여군보다는 완화된 所見을 보였으나 유당농도가 증가함에 따라 심한 병변상태를 관찰할 수 있었다(Fig.6),

한편 肝臟의 병변은 모든 군에서 큰 차이가 없었으며 脾臟에서는 대조군에 비해 실험군에서 혈액의 congestion이 심하였다.

Goyer 등⁵⁰⁾은 납중독시 核封入體가 사람, 토끼, 개 등에서는 肝臟과 腎臟에서 모두 형성되지만 白鼠에서는 단지 腎臟에서만 형성된다고 보고한 바 본 실험에서도 동일한 결과를 얻었다. 이 核封入體를 형성하는 단백질은 정상적인 白鼠에서는 발견할 수 없고 납의 영향에 의해 세포막내에서 형성되는 것으로 알려져 있으며,⁵¹⁾ 核封入體는 납의 受容體로서 작용하여 細胞小器官들에 대한 損傷을 감소시켜 주는 역할을 하는 것으로 보고 되었다.^{51, 52)}

Legends for Figures

- Fig. 3. Lead only treatment group. Eosinophilic intranuclear inclusion bodies were seen through all proximal tubules. Tubular cells showed cloudy swelling. Glomerules lost tuft and outer membrane was disrupted. Hematoxylin and Eosin stain, x 50.
- Fig. 4. Lead only treatment group. Tubular cells of proximal tubule showed cloudy swelling (CS) and the size of nuclei were enlarged. Some of tubules lost their own shape. Eosinophilic intranuclear inclusion body was seen. H. E. stain, x 160.
- Fig. 5. Lead + Ca treatment group. Glomeruli were intact, but some of the cells in proximal tubule showed slight cloudy swelling. H. E. Stain, x 40.
- Fig. 6. Lead + Ca + lactose (160mM) treatment group. Some of the tubules lost their own shape and tubular cells showed cloudy swelling. Nuclei of some cells increased their size and necrotic renal tubular cell were found. Eosinophilic intranuclear inclusion bodies were scattered through all tubules (Arrow). H. E. stain, x 60.



IV. 要約 및 結論

급성 납중독시 칼슘의 방어효과에 대한 유당 농도별 변화에 따른 영향을 평가하고자 雄性 離乳期 白鼠(50~70g of b.w.)에 납 400mg/kg b.w./day를 강제 經口投與하고 calcium gluconate 0.7%, 유당 40mM, 80mM, 160mM, 320mM을 각각 음수로 복합투여 하였다.

실험군은 대조군, 납 단독투여군, 납+칼슘 복합투여군, 유당 농도별 납+칼슘+유당 복합투여군, 총 7군으로 群당 10마리의 실험동물을 배치하여 4주간 실험하였다. 실험기간 중 體重의 變化, 肝臟, 腎臟, 脾臟의 臟器重量, 血液學的 變化, 赤血球內 δ -aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALAD) 活性度, 血中 鉛濃度 및 病理組織學的 檢査 등을 실시하였으며 結果는 아래와 같다.

1. 납+칼슘 복합투여군 및 납+칼슘+유당 복합투여군에서는 대조군에 비해 모두 劣等한 體重增加率을 보였고, 납 단독투여시에는 가장 현저한 體重增加率 鈍化가 관찰되었다($p < 0.05$).

2. 납 단독투여시 대조군, 납+칼슘 복합투여군, 납+칼슘+80mM 유당 복합투여군에 비해 脾臟의 相對重量이 유의하게 감소하였다. ($p < 0.05$).

3. RBC, WBC, Hb, Hct 치는 납 단독투여시 有意한 감소를 보였으나($p < 0.05$), 납+칼슘 복합투여시 혈액학적 변화가 완화되었다. 그러나 납+칼슘+유당 복합투여시 납중독에 대한 칼슘의 방어효과는 억제되었다.

4. 赤血球內 δ -aminolevulinic acid dehydratase 活性度는 납 단독투여시 현저히 低下 되었으며($p < 0.05$), 납+칼슘 복합투여시 그 효과는 緩和되었지만 유당 농도별 납+칼슘+유당 복합투여시 그 효과는 감소되는 경향을

보였다.

5. 血中 鉛濃度는 납 단독투여시 현저히 增加 되었으며($p < 0.05$), 납+칼슘 복합투여시 그 효과는 緩和 되었지만 유당 농도별 납+칼슘+유당 복합투여시 그 효과는 감소되는 경향을 보였다.

6. 赤血球內 δ -aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALAD) 活性度와 血中 鉛濃度 間에는 逆相關關係를 보였으며($r = -0.7301$), 相關式은 $\ln Y = 5.5357 - 0.0251 X (X : PbB, Y : \delta\text{-ALAD activity})$ 로 나타났다.

7. 腎臟의 病理組織所見 檢査시 납+칼슘 복합투여군에서 납 단독투여군보다 양호한 所見이 관찰되었으며, 유당 농도별 납+칼슘+유당 복합투여군에서는 납+칼슘 복합투여군보다 惡化되는 所見이 나타났다.

以上을 綜合하여 보면 납中毒時 칼슘의 防禦效果가 認定 되었으며 rat milk의 生理的 濃度인 80mM 유당 투여시에는 다른 유당 농도 투여군(40mM, 160mM, 320mM)보다 칼슘의 防禦效果를 減少시켰지만 全般的으로 유당의 농도가 증가할수록 납中毒에 대한 칼슘의 防禦效果는 減少하는 傾向을 보였다.

參考文獻

1. Ratcliffe, J.M.: Lead in man and the environment, Ellis Horwood Ltd., 9, 1981.
2. 曹允承, 崔光洙, 李禹錫, 沈應基, 車喆煥, 廉容泰: 環境性 疾病의 醫學的 診斷에 關한 調查研究(III), 國立環境研究院報, 제 8 권, 289-304, 1986.
3. 朴在柱, 鄭盛雄, 崔光洙, 李禹錫, 車喆煥, 廉容泰: 大都市 住民의 毛髮中 微量金屬含量에 關한 調查研究, 國立環境研究院報, 제 6 권, 239~249, 1984.
4. World Health Organization: Environment-

- al health criteria 3, Lead, Geneva, Chapter 3, and 6, 1977.
5. Harrison, R.M., Laxen, D.P.H., Lead pollution causes and control, 1st ed., Chapman and Hall Ltd., London and New York, Chapter 2 and 7, 1981.
 6. Henning, S.J., Leeper, L.L.: Duodenal uptake of lead by suckling and weanling rats, *Biol. Neonate*, 46, 27-35, 1984.
 7. Kelle, C.A., and Doherty, R.A.: Effect of dose on lead retention and distribution in suckling and adult female mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 52, 285, 1980.
 8. Friberg, L.: *Toxicology of metals*, Vol. II EPA-600/I-77-022, 1977.
 9. Piotrowski, J.K.: Environmental hazards of heavy metals, MARC Report No. 20, 1980.
 10. 曹允承, 李禹錫, 朴在柱, 鄭盛雄, 趙幸弘, 張益善: 特定有害物質에 對한 生體暴露度의 調査研究(II), 國立環境研究院報, 제 8 권, 305~316, 1986.
 11. Food and Agriculture Organization/World Health Organization: Evaluation of certain food additives and the contaminants mercury, lead and cadmium, FAO nutrition meeting report series, No. 51, 1972.
 12. Lefauconnier, J.M., Hauw, J.J. and Bernard, G.: Regressive or lethal lead encephalopathy in the suckling rat. *J. Neuro-pathol. Exp. Neurol.*, 42, 177, 1983.
 13. Stofen, D.: Environmental lead and the heart. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 6, 285, 1974.
 14. Chisolm, J.J.: Amino acid urea as a manifestation of renal tubular injury in lead intoxication and a comparison with patterns of amino acid urea seen in other disease, *J. Pediat.*, 60, 1, 1962.
 15. Kenney, G., Arnold, D., Keplinger, M.L. and Calendra, J.C.: Mutagenic and tetraatogenic studies with lead acetate and tetraethyl lead. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 19, 370, 1971.
 16. Ziegler, E.E., Edwards, B.B., Jensen, R.L., Mahaffey, K.R. and Foam, S.: Absorption and retent of lead by infants. *Pediat. Res.*, 12, 29, 1978.
 17. Six, K.M., Goyer, R.A.: The influence of iron deficiency on tissue content and toxicity of intested lead in the rat, *J. Lab. Clin. Med.*, Vol. 39, No. 1, 128-136, 1972.
 18. Barton, J.C., Conrad, M.E., Harrison, L. and Nuby, S.: Effects on calcium on the absorption and retention of lead., *J. Lab. Clin. Med.*, 91, 366, 1978.
 19. Barton, J., Conrad, M.: Effect of phosphate on the absorption and retention of lead in the rat, *Am. J. Clin. Nutr.*, 34, 2192-2198, 1981.
 20. Klaader, D.S., et al.: Anemia of lead intoxication: A role for copper., *J. Nutr.*, 107, 1779-1785, 1977.
 21. Conrad, M.E., and Barton, J.C.: Factors affect in the absorption and excretion of lead in the rat, *Gastroenterology*, 74, 731-740, 1978.
 22. Mylroie, A., Moore, L., Erogbogbo, U.: Influence of dietary factors on blood and tissue lead concentrations and lead concentrations and lead toxicity, *Toxicol. Appl. Pharm.* 41, 361-367, 1977.
 23. Vander, A.J., Mouw, D.R., Cox, J. and

- Johnson, B.: Lead transport by renal slices and its inhibition by tin, *Am. J. Physiol.*, 236, 373, 1979.
24. 姜鍾求 : 랫트에서 납중독에 대한 Thiamin (Vitamin B₁)의 효과에 관한 연구, 서울대학교 수의과대학 석사학위논문, 1985.
 25. Bratton, G.R., Zmudzki, J., Bell, M.C., Warnock, L.G.: Thiamine(vitamin B₁) effects on lead intoxication and deposition of lead in tissue: Therapeutic potential, *Toxicol. Appl. Pharm.* 59, 164-172, 1981.
 26. DeLuca, J., Hardy, C.A., Burrigh, R.G., Donovick, P.J., Tuggy, R.L.: The effect of dietary fat and lead ingestion on blood lead levels in mice, *J. of Toxicology and Environmental Health*, 10, 441-447, 1982.
 27. Hart, M.H. and Smith, J.L.: Effect vitamin D and low dietary calcium on lead uptake and retention in rats, *J. Nutr.*, 111, 694-698, 1981.
 28. Stephens, R. and Waldron, H.A.: The influence of milk and related dietary constituents on lead metabolism, *Food Cosmet. Toxicol.* 13, 1975.
 29. Bushnell, P.J. and DeLuca, H.F.: Lactose facilitates the intestinal absorption of lead in weanling rats, *Science*. vol. 211, 61-63, 1981.
 30. Lengemann, F.W., Lomar, C.L., Wasserman, R.H.: Absorption of calcium and strontium from milk and non milk diets, *J. Nutr.* 61, 571-583, 1957.
 31. Kello, D. and Kostial, K.: The effect of milk diet on lead metabolism in rats, *Environmental research* 6, 355-360, 1973.
 32. Bushnell, P.J. and DeLuca, H.F.: The effects of lactose on the absorption and retention of dietary lead, *J. Nutr.* 113, 365-378, 1983.
 33. Nikkanen, J., Hernberg, S., Tola, S.: Modification of the delta-aminolevulinic acid dehydratase test and their significance for assessing different intensities of lead exposure, *Environ. Health*, 9, 46-52, 1972.
 34. Baselt, R.C.: Biological monitoring methods for industrial chemicals, Biomedical Publications, 1980.
 35. Zmudzki, J., Bratton, G.R., Womac, C. and Rowe, L.D.: The influence of milk diet, grain diet and method of dosing lead toxicity in young calves, *Toxicol. Appl. Pharm.* 76, 490, 1984.
 36. Six, K.M. and Goyer, R.A.: Experimental enhancement of lead toxicity by low dietary calcium, *J. Lab. Clin. Me.*, 76, 933, 1970.
 37. Aungst, B.J., Fung H.L.: Kinetic characterization of in vitro lead transport across the rat small intestine. Mechanism of intestinal lead transport, *Toxicol. Appl. Pharm.* 61, 39-47, 1981.
 38. DeLuca, J., Hardy, C.A., Burrigh, R.G., Donorick, P.J. and Tuggy, R.L.: The effects of dietary fat and lead ingestion on blood lead levels in mice, *J. of Toxicology and Environ. Health*, 10, 441-447, 1982.
 39. Miller, G.D., Reddy, C.C., Massaro, T.F. and Massaro, E.J.: Tissue distribution of lead in neonatal rats, *Toxicologist*, 2910, 81, 1982.
 40. Pansu, B.: Effect of lactose on duodenal

- calcium binding protein and calcium absorption, *J. Nutr.*, 109, 508-512, 1979.
41. Klauder, D.S., Petering, H.G.: Anemia of lead intoxication: A role for copper. *J. Nutr.*, 107, 1779, 1977.
 42. Hasan, J., Hernberg, S.: Deficient red cell membrane. $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase in lead poisoning. *Arch. Environ. Health*, 14, 313, 1967.
 43. Benjamine, M.M.: Outline of veterinary clinical pathology, 3rd ed., The Iowa State Univ. Press, Iowa, 10, 1978.
 44. Bell, R.R. and Spickett, J.T.: The influence of milk in the diet on the toxicity of orally ingested lead in rats, *Food Cosmet. Toxicol.* vol. 19, 429-436, 1981.
 45. Florian, L.C., Richard, M.F.: Influence of dietary zinc on lead toxicity in the rat, *J. Nutr.*, 106, 680-696, 1976.
 46. Lerner, S.: Health maintenance of workers exposed to inorganic lead, Lead Industries Association, Inc., New York, 1977.
 47. Zielhuis, R.L.: Interrelationship of biochemical response to the absorption of inorganic lead, *Arch. Environ. Health* 23, 299-311, 1971.
 48. Tomokuni, K.: Aminolevulinic acid dehydratase test for lead exposure, *Arch. Environ. Health*, 29, 274, 1974.
 49. Lee, B.K.: Occupational lead exposure of storage battery workers in Korea. Thesis for MSs in occupational medicine, London school of Hygiene and tropical medicine, Univ. of London, 1981.
 50. Goyer, R.A., May, P., Kafes, M.M., Krigmann, M.R.: Lead and protein content of isolated intranuclear inclusion bodies from kidneys of lead-poisoned rats.; *Lab. Invest.* 22(3) 245-251, 1970a.
 51. Shelton, K.R., Egel, P.M.: The Proteins of lead induced intranuclear inclusion bodies., *J. Biol. Chem.*, 257, 11802-11807, 1982.
 52. Goyer, R.A., Leonard, D.L., Moore, J.F., Rhyne, B., Krigmann, M.R., Hill, C.: Lead dosage and the role of the intranuclear inclusion body, *Arch. Environ. Health*, 20, 705-711, 1970b.