

농약의 복합투여가 백서의 혈장 콜린에스테라제 활성도 및 요중 파라-니트로페놀 배설에 미치는 영향

연세대학교 원주의과대학 예방의학교실 및 직업의학연구소

차봉석 · 박정균 · 박종구 · 장세진

=Abstract=

Effects of Multiple Exposures to Pesticides on Plasma Cholinesterase Activity and p-nitrophenol Excretion in Rats

Bong Suk Cha, Jung Gyun Park, Jong Ku Park, Sei Jin Chang

Department of Preventive Medicine and Institute of Occupational Medicine,
Yonsei University Wonju College of Medicine

The effects of multiple exposures to pesticides on plasma cholinesterase(ChE) activities and urinary p-nitrophenol excretion were evaluated in rats. Rats were received single dose i.p. with LD₅₀ / 100(mg / kg) of organophosphorous(OP), organophosphorous-organocholine(OP-OC), organophosphorous-carbamate(OP-CAB), organophosphorous-organoarsenate(OP-OA) pesticides for 4 consecutive days. In repeated administration of pesticides, plasma ChE activities were decreased, but urinary p-nitrophenol were increased after the first injection and then decreased gradually. The recovery rates of ChE activities and p-nitrophenol excretion at 48 hours after the fourth injection were delayed in comparison with the baseline value of 24 hours before the first injection. Statistical significances were found between OP and other groups except OP-OA group after the second injection in plasma ChE activities, but in urinary p-nitrophenol excretion there was statistical significance only between OP and OP-CAB.

Key words: pesticide, plasma cholinesterase, urinary p-nitrophenol

Ⅰ. 서 론

농약은 병충해 방제와 농작물의 생산성 제고를 위한 인류의 끊임없는 노력에 의해 개발되었고 현재 농약제제

로 이용되고 있는 화합물은 전세계적으로 1,200여종이 넘고 시판되는 품목도 30,000여종에 이르고 있으며, 종류별 사용량은 미국을 비롯한 서구 유럽의 경우 제초제가 50~70%로 가장 많지만 아시아권역에서는 살충제

가 45% 이상을 차지하고 제초제는 15% 정도이나 제초제의 사용이 크게 증가되고 있는 추세이다(Rosenberg, 1990; 농약공업협회, 1991).

해방 이후 도입된 DDT와 BHC는 우리나라 농약사용의 시작을 이루었고 1951년에는 유기수은계인 메르크론 제제를 합성하였으며, 현재는 1991년 3월을 기준으로 492개의 고시품목을 생산하여 연간 약 23,000톤(추정)을 사용하고 있다(농약공업협회, 1991). 특히 수도용 살충제의 73%는 주성분이 유기인계와 가바메이트계열이며 이것은 살균제와 제초제 등을 포함한 전체 농약의 약 32%에 해당한다(농약공업협회, 1991).

농약중독은 약제의 종류에 따라 증상발현이 다양하게 나타나는데 전형적으로 알려진 것은 유기인계제와 카바메이트계제에 의한 콜린에스테라제(cholinesterase; 이하 ChE로 약함) 활성도를 억제하는 것이다(ILO, 1983).

콜린에스테라제는 신경계 및 혈액내에 존재하는 체내 효소(enzyme)로서 신경계 말단에 존재하는 것을 아세틸콜린에스테라제(acetylcholinesterase; 이하 AChE로 약함)라 한다. 이 효소는 흡수된 유기인계 농약과 결합하여 복합체를 형성한다. 이 복합체는 인산화 반응을 통해 옥손동족체(oxon analog)로 대사되어 아세틸콜린을 초산과 콜린으로 분해하는 AChE의 기능을 억제하는 것으로 알려져 있다. 활성이 억제된 효소는 탈인산화(dephosphorylation)를 통해 재활성되거나 또는 안정화된 중간대사물로 변화되어 효소기능을 불가역적으로 상실하게 된다(Rosenberg, 1990).

유기인계 농약중독에 대한 임상진단 방법으로 혈액중의 ChE 활성도 측정외에 니트로기(-nitro)를 함유한 농약에 대하여 요중 p-nitrophenol을 분석하는 방법이 있다. p-nitrophenol은 농약의 치온기가 산화반응을 통해 phosphate형의 중간체인 옥손동족체로 대사되고 이것이 ChE에 작용하는 과정에서 생성되는 방향족 알킬기들이 수산화반응을 함으로써 생성되는데, 주로 글루크론산 포합체의 형태로 요를 통해 배설된다(Kanno와 Hukui, 1978; Rosenberg, 1990).

이상에서와 같이 유기인계 농약의 단일노출로 인한 독성의 발현기전과 중독의 사례 연구에 대해서는 이미 잘 알려져 있을 뿐 아니라 많은 연구자들이 관심을 가져왔다. 그러나 농업종사자들은 농약살포 작업을 통해 동시 또는 반복적인 복합노출(multiple exposure)의 위험성을 갖게 되므로(ILO, 1983) 이와 관련된 복합노출

의 특이적인 중독증상들에 관한 지속적인 연구의 필요성이 요구된다.

따라서 이 연구에서는 유기인계 농약에 의한 혈중 ChE의 활성도 억제와 요중 p-nitrophenol의 배설양상이 타계열 농약과 복합노출시켰을 경우 급성중독의 관점에서 체내 효소의 활성과 대사물의 배설변화에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위해 백서를 이용하여 각 실험군 간의 차이를 알아 보았다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

생후 8~10주, 체중 150~250g인 숫컷 Sprague-Dawley 종 백서를 실험동물로 사용하였다. 실험 실시전 3일간 적정한 생육환경(온·습도, 수분 및 영양섭취)에서 순화시킨 다음 논 농사용 농약제제를 중심으로 주로 많이 쓰이고 있는 아래의 실험약제들을 복강내에 주사하였다.

- 유기인계(Metathion : 0,0-dimethyl-0-(3-methyl-4-nitrophenyl) thiophosphate; 살충제, 입말이 나방약)
- 유기염소계(Kelthane : 1,1-bis(p-chlorophenyl)-2,2,2-trichloroethanol; 살충제, 응애약)
- 카바메이트계(BPMC : 2-sec-butyl phenyl methyl carbamate; 살충제, 멸구약)
- 유기비소계(Neozozin : Ammonium salt of ferric methyl arsonic acid; 살균제, 입진무늬마름병약)

2. 실험군 및 투여용량

대상 실험군은 총 4개군으로 유기인계 농약 단독투여 1개군과 타계열 농약과의 복합투여 3개군으로 구성되며 각 실험군 당 10마리씩 총 40마리의 백서를 대상으로 하였다.

투여용량은 농업 종사자의 실제 노출농도를 고려하여 LD₅₀의 1/100로 하였으며(김병희 등, 1990), 투여방법은 24시간 간격으로 매일 1회씩 4일간 연속으로 복강내 주사하였다(Table 1).

3. 실험방법

가. 시료의 채취

시료는 약제 투여 24시간 전에 채취한 혈액과 요를

Table 1. Characteristics of experimental groups

Group#	Number of Rats	Weight(g) (Mean±S.D.)	Dosage (mg / kg BW)
OP	10	210±10	5.03
OP-OC	10	195±35	5.03+ 6.90
OP-CAB	10	225±15	5.03+ 4.17
OP-OA	10	215±20	5.03+10.00

#OP : Organophosphorous pesticide(Metathion)
 OP-OC : Organophosphorous(Metathion) and organochlorine pesticides(Kelthane).
 OP-CAB : Organophosphorous(Metathion) and carbamate pesticides(BPMC).
 OP-OA : Organophosphorous(Metathion) and organoarsenate pesticides(Neoasozin).

기준치로 하고 약제투여 24시간 후에 채취한 혈액과 요를 비교 실험치로 하였다. 시료 요는 24시간 동안의 전뇨를 부패와 증발로 인한 손실을 막기 위해 수시로 채취하여 냉장보관 하였으며, 시료 혈액은 용혈이 일어나지 않도록 자연유출 방법으로 해파린 처리한 시험관에 받아 원심분리하여 혈장을 분리 채취하였다.

나. 혈중 cholinesterase의 분석

혈중 ChE의 분석은 Ellman 등(1961)에 의해 제시된 흡광광도법(colorimetric method)을 변형시켜 사용하였다. 이 방법은 acetylcholine을 기질로 하여 ChE에 의해 생성되는 thiocholine을 nitrobenzoate와 반응시킨 후 발색되는 황색의 2-nitro-5-mercaptobenzoate를 흡광광도계를 사용하여 파장 405nm(25℃)에서 매 30초 간격으로 3회 측정하는 방법으로서 다음의 계산식에 따라 ChE의 활성도를 정량한다.

$$U / L(25^{\circ}C) = 23,460 \times \Delta A_{405nm} / 30sec$$

(ΔA_{405nm} : 450nm에서의 흡광도 변화율)

다. 요중 p-nitrophenol의 분석

요중 p-nitrophenol의 분석은 p-nitrophenol이 o-cresol과 반응(인도페놀 반응)함으로써 나타내는 청색의 흡광도를 측정하는 것으로 Elliot 등(1960)에 의해 제시된 방법을 변형하여 사용하였다.

채취된 시료는 총량을 측정된 다음 2ml를 분취하고 염산을 가해 산성상태로 1시간 이상 가수분해하고 ethylether-benzene(20 : 80)에 추출한 후 무수황산나트륨을 넣어 녹인다. 그리고 20% 가성소다를 가하여 알칼리상태 하에서 불순물의 방해받지 않도록 acetonitrile로 2차 추출한 다음, o-cresol과 반응시켜 발색되는 청색의 흡광도를 흡광광도계를 이용하여 파장 620nm에서

측정한다. 시료의 흡광도는 정확히 제조된 표준용액을 사용하여 시료와 같은 실험과정을 거쳐 얻어진 검량선에 의하여 정량한다.

라. 자료처리

실험을 통하여 얻어진 자료의 통계적인 검정은 비모수 통계분석을 이용하였다. 각각의 실험군에 대한 혈장 ChE 활성도 및 요중 p-nitrophenol 배설량의 약제투여 일차별 비교는 Kruskal-Wallis multi-sample test와 Mann-Whitney U test를 이용하였고 통계량의 유의수준은 0.05로 하였다.

III. 결 과

1. 혈장 콜린에스테라제의 활성도 변화

약제투여 전의 혈장 ChE의 활성도를 측정한 결과 중앙값은 301.1 U/L(범위 : 273.7~344.1 U/L)였으며 각 실험군 간 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

실험약제를 24시간 간격으로 4일간 연속 투여한 결과, 투여일별 혈장 ChE의 활성도 변화는 1차 투여 후의 경우 유기인계 농약 단독투여군은 타계열 농약과의 복합투여군과 차이를 보이지 않았다.

그러나 2차 투여에서는 유기인계 단독투여군 215.1 U/L, 유기염소계 복합투여군 199.4 U/L, 카바메이트계 복합투여군 183.8 U/L 및 유기비소계 복합투여군 219.0 U/L로 나타나 투여 전의 활성도와 비교하여 각각 35.4%, 42.8%, 45.5% 및 38.0%가 억제되었으며, 유기염소계 및 카바메이트계 복합투여군에서 유기인계 단독투여군과 유의한 차이를 보였다. 또한 3차 투여 및 4차 투여에서도 2차 투여의 경우와 같은 양상을 보였

Table 2-1. The effects of pesticides on the plasma ChE activity

* checking time	Median(Range), Unit : U / L				
	total	OP	OP-OC	OP-CAB	OP-OA
D ₀	301.1 (273.7-344.1)	297.2 (293.3-308.9)	310.9 (281.5-344.1)	303.0 (273.7-305.0)	308.9 (293.3-320.6)
D ₁	234.6 (207.2-277.6)	234.6 (226.8-269.8)	234.6 (219.0-250.2)	226.8 (207.2-242.4)	256.1 (230.7-277.6)
D ₂	207.2 (168.1-238.5)	215.1 (205.3-222.9)	199.4* (187.7-226.8)	183.3* (168.1-238.5)	219.0 (203.3-226.8)
D ₃	187.7 (160.3-199.4)	195.5 (187.7-199.4)	183.8* (160.3-195.5)	162.3* (160.3-168.1)	191.6 (187.7-195.5)
D ₄	160.3 (132.9-179.9)	172.0 (164.2-179.9)	156.4* (148.6-176.0)	138.8* (132.9-148.6)	164.2* (160.3-168.1)
D ₅	203.3 (172.0-230.7)	207.2 (203.3-215.1)	203.3* (179.9-211.1)	177.9* (172.0-187.7)	222.9* (215.1-230.7)

*D₀ : before injectionD₁ : 24 hours after the first injectionD₂ : 24 hours after the second injectionD₃ : 24 hours after the third injectionD₄ : 24 hours after the fourth injectionD₅ : 48 hours after the fourth injection

*Statistically significant with OP : P<0.05

Table 2-2. The inhibition rates of plasma ChE activity after the injection of pesticides

checking time	Median(Range), Unit : %				
	total	OP	OP-OC	OP-CAB	OP-OA
D ₀	00.0	00.0	00.0	00.0	00.0
D ₁	21.3 (9.2-31.7)	22.1 (9.2-23.7)	24.0 (13.5-31.7)	23.7 (20.5-27.3)	18.1 (11.3-21.3)
D ₂	31.8 (21.8-44.9)	27.9 (26.7-31.6)	32.8* (28.4-40.9)	35.9* (21.8-44.9)	29.1 (22.7-36.6)
D ₃	39.9 (32.4-46.8)	35.4 (33.3-37.7)	42.8* (32.4-46.3)	45.5* (41.4-46.8)	38.0 (36.0-39.0)
D ₄	47.6 (38.7-56.8)	42.9 (38.7-44.7)	50.0* (39.2-56.8)	52.6* (50.0-55.8)	46.2* (44.0-50.0)
D ₅	33.5 (26.7-43.9)	30.3 (28.6-32.9)	35.4* (27.8-43.9)	40.7* (32.9-43.6)	27.5* (26.7-28.8)

Statistically significant with OP : P<0.05

는데, 유기염소계 복합투여군과 카바메이트계 복합투여군의 최저 활성도는 156.4 U/L와 138.8 U/L로서 투여 전에 50.0%와 52.6%의 억제를 보였다. 그러나 유기비소계 복합투여군은 1차, 2차, 3차 투여에서는 유기인계 단독투여군과 활성도의 차이를 보이지 않았으나 4차 투여에서는 활성도의 유의한 차이를 나타내었다.

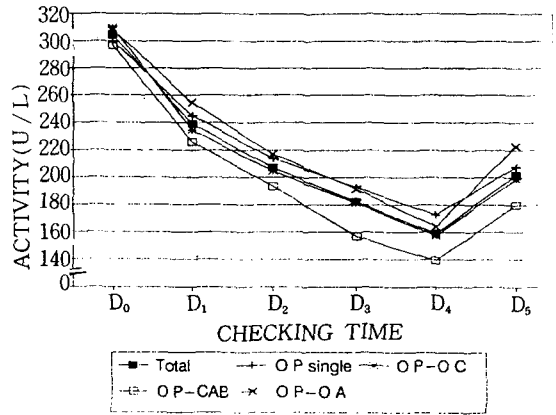
4차투여 후 48시간 경과 뒤의 ChE 활성도를 분석한 결과 유기인계 단독투여군 207.2 U/L, 유기염소계 복합투여군 203.3 U/L, 카바메이트 복합투여군 177.9 U/L 및 유기비소계 복합투여군 222.9 U/L로서 4차 투여에 비해 20.5%, 30.0%, 28.2%, 35.8%의 회복을 보여 복합투여군 모두에서 단독투여군보다 회복률이 더 컸다.

그러나 투여전 활성도에 비교하면 각각 30.3%, 45.4%, 40.7%, 27.5%의 억제율을 보여 유기염소계 및 카바메이트계 복합투여군이 유기인계 단독투여군에 비해 회복률이 더 낮았다 (Table 2-1, 2-2, Figure 2-1, 2-2).

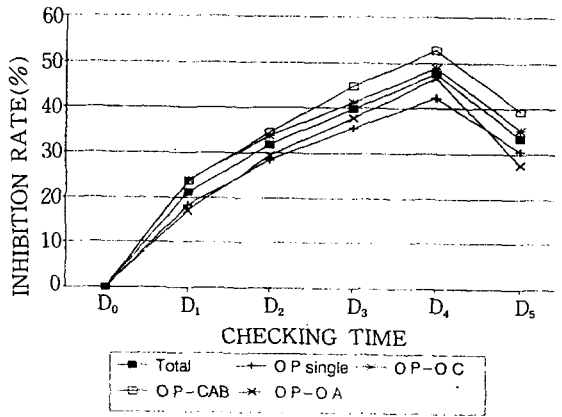
2. 요중 p-nitrophenol의 배설변화

실험군의 약제 투여 전 요중 p-nitrophenol의 배설량은 23.4(16.4~39.8) $\mu\text{g}/24\text{hr}$ 로서 유기인계 단독투여군과 다른 계열 농약의 복합투여군 간에는 유의한 차이가 없었다. 투여일에 따른 배설량의 변화는 1차가 390.4(325.7~437.9 $\mu\text{g}/24\text{hr}$)로서 투여전 배설량의 16.4배로 가장 높았다. 투여 일차가 지속될수록 점차 배설량이 감소하는 경향을 보였다. 실험군 간의 비교에서는 카바메이트계 복합투여군이 전체 투여일에서 유기인계 단독투여군과 유의한 차이를 보인 반면, 유기염소계 복합투여군은 1차와 4차에서만 유의한 차이를 보였고 유기비소계 복합투여군은 전체 투여일에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

4차투여 48시간 후의 회복률에서는 약제투여전 배설량에 비해 유기인계 단독투여군 1.4배(48.8 $\mu\text{g}/24\text{hr}$), 카바메이트계 복합투여군 2.4배(72.8 $\mu\text{g}/24\text{hr}$), 유기염소계 복합투여군 2.3배(49.9 $\mu\text{g}/24\text{hr}$) 및 유기비소계 복합투여군 1.5배(42.1 $\mu\text{g}/24\text{hr}$)로서 카바메이트 복합투여군이 유기인계 단독투여군과 유의한 차이를 보였다.



2-1. The changing patterns of plasma ChE activity by the checking time.



2-2. The inhibition rates of plasma ChE activity by the checking time

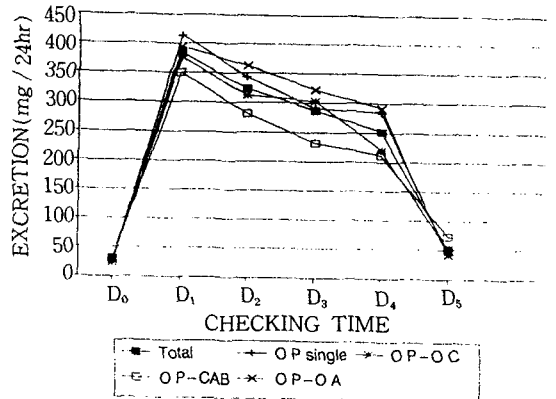


Fig. 3. p-nitrophenol excretion rates by the checking time.

Table 3. Urinary excretion of p-nitrophenol

*checking time	median(range), Unit : $\mu\text{g} / 24\text{hr}$				
	total	OP	OP-OC	OP-CAB	OP-OA
D ₀	23.4 (16.4-39.8)	21.7 (19.9-34.2)	21.9 (16.4-32.4)	30.7 (15.4-39.8)	27.4 (23.1-31.7)
D ₁	390.4 (325.7-437.9)	400.9 (390.4-437.9)	390.4* (345.9-399.6)	349.4* (325.7-373.0)	393.7 (372.0-415.4)
D ₂	326.1 (251.7-400.0)	343.3 (295.9-390.4)	319.9 (251.7-358.2)	281.1* (252.0-310.2)	363.0 (326.1-400.0)
D ₃	285.3 (187.0-359.7)	280.1 (269.7-316.4)	312.1 (250.2-338.7)	231.7* (187.0-276.5)	322.5 (285.3-359.7)
D ₄	248.8 (166.8-306.7)	279.6 (248.8-306.7)	230.5* (166.8-253.2)	211.3* (176.6-246.0)	292.0 (282.8-301.2)
D ₅	48.8 (26.4-88.4)	48.8 (26.4-38.9)	49.9 (31.3-80.6)	72.8* (57.1-88.4)	42.1 (36.1-48.1)

*Statistically significant with OP : $P < 0.05$

IV. 고 찰

유기인계 농약은 낮은 휘발성과 함께 물과 알칼리에 대한 안정성이 매우 높은 특성을 지니고 있으며 방제효과가 탁월하기 때문에 농축에 대한 독성이 강함에도 불구하고 사용이 보편화 되어 있는 약제이다(Guthrie, 1980).

유기인계 농약의 급성중독의 증상은 대부분 ChE의 활성도 억제에 의하여 나타나고, 중독의 정도는 ChE 활성도의 절대치 보다 억제율과 더 높은 상관성을 보이며 노출의 빈도도 또한 중요한 요인이 된다. 실제로 몇주일 간 중등도의 유기인계 농약에 반복적인 노출을 경험한 경우 다양한 콜린성증상(cholinergic effects) 없이도 ChE의 활성도가 70~80%까지 억제된 반면, 노출경험이 없었던 경우는 단시간 동안 고농도에 노출된 후 다양한 중독증상이 발생되었지만 혈장 ChE의 활성도 억제는 30% 정도였다(Coye 등, 1986).

혈중의 ChE 활성도 측정은 적혈구 ChE와 혈장 ChE로 구분되는데, 적혈구 ChE는 활성도 억제 후의 회복률이 적혈구 생성에 의존하므로 1일 1%씩 회복되어 정상치에 도달하는데 60~70일의 장시간이 소요된다. 따라서 비교적 회복속도가 빠른 혈장 ChE에 비해 노출여부

및 회복된 정도를 예측하고 감지하기가 좋으므로 생물학적 노출평가 방법으로는 적혈구 ChE의 측정이 더 유용하다(Coye 등, 1986).

그러나 적혈구 ChE는 실험 편차가 약 40% 정도로 혈장 ChE의 24% 정도에 비해 더 크고 분석의 난점이 많으므로 연구의 특성에 따라 적절한 분석방법을 선택하는 것이 필요하다(Yager 등, 1976).

ChE 활성도는 여러 요인에 의하여 차이를 보일 수 있는데 특히 간기능에 영향을 주어 알부민과 같은 혈청 단백질의 생성을 저해하는 간실질 질환, 신생물, 영양실조, 급성감염증 그리고 일부 빈혈증에 의한 활성도 감소가 유발되며 유기수은 화합물, 이황화탄소, 염화벤즈알코올, 몰핀, 코데인, 지아민, 에테르 와 클로르킨 등의 화학물질에 의해서도 억제될 수 있다. 그러나 신중증후군 같이 혈청단백의 손실을 가져오는 질환은 간단백의 합성증가로 인하여 혈장 ChE 활성도의 증가를 유도할 수도 있다(WHO, 1972 ; Hayes, 1982).

이 연구에서는 간에 인위적인 손상이나 독성물질의 대사과정을 방해할 것으로 예측되는 유기염소계와 유기비소계 농약을 복합 투여한 결과 유기비소계 복합투여군은 유기인계 단독투여군과 ChE 활성도에 유의한 차이가 없었고, 투여일에 따른 결과의 일관성이 없었으며 오히려

독성을 완화시키는 양상을 보이기도 하였다. 그러나 유기염소계 복합투여군의 경우는 투여 초기에는 ChE 활성도 억제 영향요인으로 작용하지 못하였으나 투여일차가 지속될수록 점차 ChE 활성도의 억제가 심화되는 경향을 보였을 뿐 아니라, 투여중단 후 회복률에 있어서도 더 지연되는 양상을 보였다. 카바메이트 복합투여군의 경우는 투여일에 따른 ChE 활성도 억제와 회복률에서 모든 유기인계 단독투여군과 유의한 차이를 보였는데 이는 강력한 ChE 활성도 억제제인 유기인계 농약과 ChE의 활성을 물리적으로 억제하는 카바메이트계 농약을 복합적으로 투여하였기 때문에 상승 또는 상가작용의 영향이 나타난 것으로 추정된다.

유기인계 농약의 노출에 따른 급성중독의 또다른 지표로서 요중 대사산물에 대한 측정이 제한된 범위 내에서 수행되어 왔다. 이 방법은 모든 유기인계 농약의 급성중독의 진단에 크게 기여하지 못하였으나 nitro기를 함유한 농약의 중독평가에 요중 p-nitrophenol을 측정함으로써 혈중 ChE 활성도 측정보다도 더 민감한 진단방법으로 활용될 수 있다는 연구들이 보고 되었다(Arterberry, 1961; Durham 등, 1972). 요중 p-nitrophenol의 분석은 유기인계 농약의 대사물로 측정되는 alkyl phosphate가 특이성과 안정성의 부족으로 생물학적 추적관리가 매우 어려운데 반해, 이것은 그러한 제한성을 충족시킬 수 있는 매우 유용한 방법으로 제시되고 있다(Elliott 등, 1960; Funckes 등, 1963).

요중 p-nitrophenol의 배설은 유기인제에 노출된 기간 및 농도와 밀접한 관련을 갖는다. 실제로 파라치온 살포자를 대상으로 한 조사에서 배설량은 0.15mg/hr (2.4ppm)로서 노출 후 4시간에서 10시간 사이에 최고치를 보인 다음 급격히 감소하였으나 노출후 48시간에서 길게는 4~5일간 배설이 지속되었고 혈중 ChE 활성도와 임상증상의 발현에는 유의한 차이가 없었다(Durham, 1972).

Hayes 등(1964)의 연구에서는 파라치온을 피부에 노출시켰을 때 적혈구 ChE의 활성도 변화는 정상치를 벗어나지 않았으나 혈장 ChE는 24시간 후에 기준치의 44%가 억제되었고 요중 p-nitrophenol의 배설량은 0.25 mg/hr 인 것으로 조사되었다. Alterberry 등(1961)은 파라치온 농약을 사용한 살포자의 요중 p-nitrophenol의 최고치가 3.0ppm(평균 1.6ppm)인 것으로

보고 하였으나 혈중 ChE 활성도 억제와 요중 p-nitrophenol의 배설, 그리고 특정한 중독증상의 발현 사이에는 나름대로 명확한 상관성이 있으므로 이를 기준으로 활용 목적을 구분하는 것이 필요하다고 제시하였다.

이 연구에서는 요중 p-nitrophenol의 측정결과 Hayes 등(1964)의 연구결과와 유사하게 투여 횟수가 증가함에 따라 배설량이 점차 감소되는 경향을 보였다. 1차 투여(390.4 μ g/24h)가 가장 높았고 4차 투여시(248.8 μ g/24h)가 가장 낮아 36.3%의 큰 차이를 보였으며, 카바메이트계 복합투여군만이 배설량과 변화율에서 모두 유기인계 단독투여군과 유의한 차이를 보였다. 유기염소계 복합투여군은 전체 투여일에서 일관성 있는 결과를 얻지 못했고 유기비소계 복합투여군은 전체 투여일에서 유기인계 단독투여군과 유의한 차이가 없었다. 4차투여 48시간 후의 회복률은 카바메이트계 및 유기염소계 복합투여군이 투여전 배설량의 2.2배~2.3배로 유기인계 단독투여군의 1.4배에 비해 회복이 현저히 지연되는 양상을 보였으나 카바메이트계 복합투여군만이 통계적인 유의성이 있었다.

이것은 체내에 흡수된 농약이 대사되는 과정 중 약제 성분 자체나 또는 대사과정에서 약제로부터 유리된 성분이 간의 대사 또는 해독기능에 영향을 주어 p-nitrophenol의 배설경로를 방해함으로써 나타난 결과로 예상할 수 있다(Yamamoto 등; 1978, Kanno와 Hukui; 1981). 또한 카바메이트계 농약과 같이 ChE 활성도를 억제하는 경우 흡수된 유기인계 농약과 효소(ChE)의 결합을 장기간 지속시켜 흡수된 유기인계 약제 성분으로부터 니트로기(-NO₂)의 해리를 방해하기 때문에 배설량의 심한 감소를 초래할 수 있다. 이런 결과는 유기인계 농약이 서로간의 mixed function oxidase(이하 MFO라 약함)에 의하여 대사되며, 유기염소계 농약은 이 MFO system의 유도체(inducer)로 작용하여 유기인계 농약의 독성을 완화시키는 것으로 보고되고 있기 때문에 (Triola and Coon, 1966; Dubois and Kinoshita, 1968; Sultatos, 1986) 이 실험에서 나타난 독성의 증가와 대사의 지연양상은 이런 흐름에 상반되는 결과이다.

그러나 간에서의 MFO 활성도 변화가 유기인계 농약의 독성발현에 대하여 영향인자로 작용하지 못한다는 최근의 연구(Kim 등, 1988)와 유기인계 농약의 독성을 유발하는 약제를 투여한 결과 세포내 대사의 변화와

독성의 변화는 일치하지 않았다는 연구결과(Chapman과 Liebman, 1971)를 고려해 볼 때 유기인계 농약의 독성 평가에서 간이 밝혀지지 않은 여러 경로를 통해 중요한 기능을 수행하고 있다는 점을 확인할 수 있으므로 향후 농약의 급성중독으로 인한 생화학적 가중작용이나 방어기전에 대해서도 지속적인 연구의 수행이 필요하다.

이상에서 유기인계 농약의 노출로 인하여 나타나는 혈중 ChE의 활성도 억제와 요중 p-nitrophenol 배설량의 증가에 대하여 각각의 변화양상을 비교하였다. 여러 측면의 결과를 종합해 볼 때 요중 p-nitrophenol은 혈중 ChE 활성도가 정상범위에 있는 상태에서도 배설량의 변화가 나타날 뿐 아니라 다양한 종류의 유기인계 농약에 복합적으로 노출된 경우 nitro기를 함유한 농약을 선별적으로 분석할 수 있기 때문에 경우에 따라 혈중 ChE 활성도 측정보다 노출평가에 더 민감한 지표로 활용될 수 있다. 요중 p-nitrophenol은 노출을 중단한 후 배설량이 급격히 변화하여 지표로서의 지속 시간이 짧고 특정한 중독증상들과의 관련성이 낮은 반면, 혈중 ChE 활성도는 유기인계제 노출에 기인된 특정한 중독증상들의 발현과 높은 상관성을 보일 뿐 아니라 노출로 인한 활성도 억제의 회복에 비교적 장시간이 필요하므로 노출시점의 예측과 임상적 진단이 가능한 특성을 갖는다(Durham, 1972). 이 연구에 의하면 요중 p-nitrophenol의 분석은 nitro기를 함유한 유기인계제의 노출평가에 대한 상세한 연구결과가 확립되기까지 진단의 보조자료로서 활용하고 중독유무의 판정에는 혈중 ChE 활성도 측정을 임상적 진단기준으로 활용토록 하는 것이 바람직하다고 할 수 있으며 이 결과는 Hayes(1982)의 지적과 일치한다고 하겠다. 특히 향후 농약사용자에 대한 혈장 ChE의 활성도 및 요중 p-nitrophenol 배설량의 상관성 평가를 통하여 요중 p-nitrophenol의 예방적 지표로서의 활용가능성과 이들 변수와 복합 농약중독 증상발현 사이의 관련성에 대해 더 심도 있는 연구의 수행이 필요할 것으로 판단된다.

이상의 결과를 통하여 나타난 바와 같이 단기간동안 5약의 반복적인 노출은 중독을 심화시킬 뿐 아니라 회복을 지연시키는 요인이 될 수 있다. 따라서 농약의 사용빈도가 많고 노출되는 농약의 종류가 다양한 우리나라 농촌의 현실을 고려해 볼 때 농약의 복합적인 노출은 중독의 진단시 혈중 ChE와 요중 p-nitrophenol 같은

독성지표를 분석하는데 오류를 유발하는 요인이 될 수 있으므로 향후 이 문제에 대한 폭넓은 연구와 함께 농약 사용자에 대한 교육 및 홍보가 필요할 것으로 판단된다.

V. 결 론

유기인계 농약에 의한 혈장 cholinesterase의 활성도 및 요중 p-nitrophenol의 배설량이 타 계열 농약과 복합적으로 노출될 경우 나타나는 변화양상과 상관성을 알아 보기 위해 백서를 이용한 실험을 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈장 ChE의 약제투여 전 활성도는 301.1(273.70~34.1) U/L로서 유기인계 단독투여군과 다른 계열농약과의 복합투여군이 유의한 차이가 없었고, 투여 횟수가 증가될수록 활성도가 억제되는 경향을 보였다.
2. 실험군간 ChE 활성도의 비교에서 카바메이트계 복합투여군과 유기염소계 복합투여군이 2차 투여부터 유기인계 단독투여군에 비해 유의하게 감소하였다.
3. 4차투여 후 48시간 경과 후의 ChE 활성도는 유기인계 단독투여군 207.2 U/L, 유기염소계 복합투여군 203.3 U/L, 카바메이트계 복합투여군 177.9 U/L 및 유기비소계 복합투여군 222.9 U/L로서 노출중단 후 회복 속도는 더 빠르나 지연효과는 더 컸다.
4. 약제투여 전 요중 p-nitrophenol의 배설량은 23.4 (16.4~39.8) $\mu\text{g}/24\text{h}$ 로서 유기인계 단독투여군과 다른 계열과의 복합투여군 간에 유의한 차이는 없었으며, 투여일별 비교에서는 1차 투여가 390.4(325.7~437.9) $\mu\text{g}/24\text{h}$ 로 가장 높았으며 투여 횟수가 증가될수록 배설량은 점차 감소하였다.
5. 실험군 간 요중 p-nitrophenol의 배설량은 카바메이트계 복합투여군만 전체 투여일에서 유기인계 단독투여군과 유의한 차이를 보였다.
6. 4차투여 48시간 후의 요중 p-nitrophenol 배설량은 약제 투여 전의 배설량과 비교하여 카바메이트계 및 유기염소계 복합투여군이 2.2배, 2.3배로 유기인계 단독투여군의 1.4배에 비해 높았으나 카바메이트계 복합투여군 만이 통계적인 유의성이 있었다.

참고문헌

- 김병희, 김용식, 최진수. 일본 농촌지역에서의 Carbamate 농약 폭로도의 추정. 예방의학회지 1990 ; 23(2) : 201-206
- 농약공업협회. 농약과 식물보호. 1991 ; 12(1) : 37-43
- 농약공업협회. 농약과 식물보호. 1991 ; 12(2) : 9-17
- 농약공업협회. 농약과 식물보호. 1991 ; 12(3) : 104
- Alterberry JD, Durham WF, Elliott JW, et al. Exposure to parathion-Measured by blood cholinesterase level and urinary p-nitrophenol. Arch Environ Health 1961 ; 3 : 112-121
- Coye MJ, Lowe JA, Maddy KT. Biological monitoring of agriculture workers exposed to pesticides— I. Cholinesterase activity determinations. J Occup Med 1986 ; 28(8) : 619-627
- Dubois KP and Kinoshita F. Influence of induction of hepatic microsomal enzymes by phenobarbital on toxicity of organic phosphate insecticides. Proc Soc Exp Bio Med 1968 ; 129 : 699-702
- Durham WF, Wolfe HR, Elliott JW, and Wash W. Absorption and excretion of parathion by spraymen. Arch Environ Health 1972 ; 24 : 381-387
- Elliott JW, Walker KC, Penick AE, et al. Insecticide exposure-A sensitive procedure for urinary p-nitrophenol determination as a measure of exposure to parathion. J Agr Food Chem 1960 ; 8 : 111-113
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol 1961 ; 7 : 88
- Funckes AJ, Hayes GR, Hartwell WV. Urinary excretion of p-nitrophenol by volunteers following dermal exposure to parathion at different ambient temperature. J Agr Food Chem 1963 ; 11 : 455-457
- Guthrie FE. Pesticides in human : In introduction to environmental toxicology. New York, Elsevier north Holland Inc., 1980. pp299
- Hayes GR, Funckes AJ, Hartwell WV. Dermal exposure of human volunteers to parathion. Arch Environ Health 1964 ; 8 : 829-833
- Hayes WJ. Toxicology of pesticides. Baltimore, Williams and Wilkins Co., 1975. pp20-21, 184-185, 354
- Hayes WJ. Pesticides studied in man. Baltimore, The William and Wilkins Co., 1982
- ILO. Encyclopaedia of occupational health and safety. 3rd ed Geneva, ILO, 1983, pp 1616-1646
- Kanno saburou, Hukui shyoju. 薬毒物の 衛生化学. Tokyo Hirokawa publishing Co., 1981 ; pp 152-156
- Kim young chul, Choi jae hwa, Lim hye kyung. The effect of altering the hepatic drug metabolizing enzyme activity on the acute toxicity of diethyl-4-nitrophenyl phosphorothioate (parathion) in female rats. Korea J toxicol 1988 ; 4 : 107-115
- Rider JA, Hodges JL, Swader J, et al. Plasma and red cell cholinesterase in 800 "healthy" blood donors. J Lab Clin Med 1957 ; 50 : 376
- Rosenberg J. Occupational medicine, Section IV occupational exposure(pesticides). Connecticut, Prentice Hall publishing division, 1990 ; pp401-402, 408-417
- Sultatos LG, Minor LD, Murphy SD. Metabolic activation of phosphorothioate insecticides : Role of the liver. J Pharmacol Exp Ther 1985 ; 232 : 624-628
- Triola AJ and Coon MJ. Toxicologic interactions of chlorinated hydrocarbon and organophosphate insecticides. J Agr Food Chem 1966 ; 14 : 549-555
- WHO Permanent Commission and International Association on Occupational Health, Subcommittee on Pesticide. Epidemiological toxicology of pesticide exposure-International workshop. Arch. Environ. Health 1972 ; 25 : 339-405
- Yager J, Mclean H, Hudes M, et al. Components of variability in blood cholinesterase assay results. J Occup Med 1971 ; 18(4) : 242
- Yamamoto ikuo, Tsukada sirou, Matsumoto hisao. 産業労働衛生学. Tokyo, Hirokawa publishing Co., 1978 ; pp256-258