

흰쥐에 있어서 톨루엔 흡입노출이 시간경과에 따른 혈중 톨루엔농도 및 행동변화에 미치는 영향

백승경* · 노일협*

국립과학수사연구소, *숙명여자대학교 약학대학

(Received February 22, 1996)

The Effects of Toluene Inhalation on Blood Toluene Concentration in Time Sequence and Behavioral Change in Rats

Seung-Kyung Baek* and Ihl-Hyeob Ro*

National Institute of Scientific Investigation, Seoul 158-090, Korea

*College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

Abstract — Male Sprague-Dawley rats were exposed to the toluene at $3,000 \pm 200$ ppm via inhalation for two hours in the single inhalation group and three weeks by two hours per day, six days per week in the repeated inhalation group. The blood toluene concentration in the repeated inhalation group was significantly lower than that in the single inhalation group after 210 and 240 minutes of exposure. The peak concentration of blood toluene was 58.13 ± 4.63 $\mu\text{g/ml}$ in the single inhalation group and 54.24 ± 6.87 $\mu\text{g/ml}$ in the repeated at the end of 120 minutes of the exposure. The behavioral change of rats for the initial 30 minutes of the toluene inhalation showed mildly increased movement and excitement but remained calm and inhibitory behaviors after that period; more inhibitory behaviors in the single inhalation group compared with the repeated inhalation group. In open-field test, after the termination of the toluene inhalation, no difference had been statistically observed between the toluene inhalation group and the control group in ambulation, rearing, preening and grooming.

Keywords □ Toluene, inhalation, behavior, rat.

최근 청소년들 사이에서 환각물질의 흡입이 크게 증가되고 있으며 이는 각종 범죄를 유발시키고 있어 사회적 물의를 야기시키고 있다. 특히 접착제류등의 환각물질은 누구든 손쉽게 입수할 수 있고, 간편한 방법으로 사용할 수 있어 호기심이 많은 10대 청소년층에서 죄의식없이 남용되어지고 있는 실정이다.¹⁾ 접착제류의 흡입 남용에 있어서는 접착제류의 주 용제로 사용되고 있는 톨루엔이 가장 문제가 되고 있으며²⁾, 톨루엔은 휘발성이 매우 강한 산업용 유기용매이므로 작업장에서도 또한 문제화되고 있는 물질로 잘 알려져 있다.³⁾ 톨루엔의

중독작용은 졸음, 두통과 운동성의 감소등 중추신경계에 영향을 미친다고 보고되어 있지만, 톨루엔의 중추신경계에 미치는 작용기전은 그리 명확하게 밝혀져 있지 않다.

혈중 톨루엔의 농도에 대하여는 많은 보고가 있으나 다양한 실험조건과 실험동물의 종류등에 따라서 혈중 농도에 많은 차이를 나타내고 있다.⁴⁻⁵⁾ 톨루엔 흡입노출시의 행동변화에 대한 실험으로는 주로 백서에서의 자발 운동량에 대한 문헌들이며, 보고들마다 서로 상이한 결과를 나타내고 있으나⁶⁻⁷⁾, 일반적으로 급성투여시 운동량은 증가되지만, 아급성으로 반복투여시에는 감소된다고 하여 톨루엔의 투여용량 및 기간에 따라 biphasic effect를 나타낼 가능성을 제시하고 있다.⁸⁾ 따

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-600-2304 (팩스) 02-600-2333

라서, 본 실험에서는 백서를 대상으로하여 톨루엔을 3,000±200 ppm의 농도로 각각 1회 및 3주간 반복흡입 부여후, 시간경과에 따른 혈중톨루엔의 농도변화 및 행동변화를 측정함으로써 톨루엔의 흡입노출시 백서에 미치는 영향을 연구하고자 본 실험을 실시하였다.

실험방법

사용약물 및 시약 - Toluene analytical standard, dioxane은 Sigma사 제품을 사용하였고, halothane 및 생리식염수는 국내 제약회사 제품을 사용하였으며, 기타 시약은 시판 1급 또는 특급을 사용하였다.

실험기기 및 기구 - Gas chromatograph (Hewlett Packard 3600: GC), toluene vaporizer (FLUOTEC MK III: serial No. 316353, Cyprane Ltd., Keighky, England)등의 기기와 catheter (polyethylene tubing 10)등의 기구를 사용하였다.

실험동물 - 평균체중 280~300 g의 건강한 웅성 Sprague-Dawley계 백서를 일주일이상 사육환경에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

실험군 - 일반공기와 산소를 흡입투여한 군을 대조군(CO군)으로, 3,000 ppm의 톨루엔과 산소(톨루엔증기)를 2시간 동안 흡입투여한 군을 1회흡입군(A1군)으로, 톨루엔증기를 1일 2시간, 1주 6일간씩 3주동안 반복흡입투여한 군을 반복흡입군(C3군)으로 하였다.

톨루엔 기화기 - Fluotec MK III를 사용하였다.

톨루엔 흡입챔버 - 흡입챔버는 42×26×20 cm 크기의 아크릴 챔버를 사용하였고, 상부는 비닐로 밀폐시켰으며, 기체주입구는 기화기에 연결시켰고, 기체 배출구 및 검체 채취구를 두었다.

흡입방법 및 흡입챔버내 톨루엔 농도의 모니터링 - 기화기속에 톨루엔을 넣고, 산소를 2 l/min의 속도로 기화기내로 통과시켜, 포화증기압을 유지하면서 톨루엔과 산소의 혼합가스를 일정하게 흡입챔버내로 주입시켰다. 챔버내 농도는 챔버내 증기를 검체 채취구에서 gas-tight syringe로 400 µl를 취한후 GC에 주입하여 측정하였으며, 챔버내 농도가 3,000±200 ppm으로 일정하게 유지되는 20분후에 백서를 넣고 2시간 동안 흡입시켰고, 흡입투여시간 동안에는 매 20분 간격으로 계속적으로 GC를 이용하여 챔버내 농도를 모니터링하여 일정하게 유지됨을 확인하였다. 단, 흡입시간은 14:00~16:00까지 항상 일정한 시간에 흡입투여를 실시하였다.

혈액 채취 - 백서를 99% 산소기류중(2 l/min)에서 1.5~2% 할로탄으로 흡입마취하여 실험동물을 앙와위로 한 상태에서 우측 서혜부의 피부를 절개한 후 대퇴동맥과 정맥을 찾아 카테터를 삽입하는 삼관술을 실시하였다. 수술후 실험동물을 고정장치에 고정시키고 할로탄 제거목적으로 할로탄의 공급을 중지하여 제거시키고 1시간 경과후부터 마스크를 통하여 톨루엔을 흡입시켰으며, 헤파린 처리된 주사기를 사용하여 약 220 µl씩 채혈하여 밀봉한 다음 4°C에 냉장보관한 후 48시간 이내에 GC로 측정하였다. 채혈시간은 1회흡입군 및 반복흡입군에서는 흡입직후부터 흡입중단후 2시간까지는 30분 간격으로 그 이후부터 4시간 동안은 1시간 간격으로 총 8시간 동안 연속적으로 채혈하였다.

혈중 톨루엔의 농도측정 - 혈중 톨루엔 농도의 측정은 Gill 등⁹⁾의 방법을 수정하여 사용하였으며, GC를 이용하여 head space법으로 측정였고, 내부표준물질로 디옥산을 사용하였다. 혈중농도의 분석방법은 혈액 200 µl를 10 ml 유리 바이알에 넣고 내부표준물질로 500 ppm의 디옥산 100µl를 가하고 포화 염화나트륨용액 200 µl를 가한 다음, 밀봉후 혼합하였다. 65°C의 수욕상에서 약 30분간 접촉방치시킨 후 기상부를 1,000 µl gas-tight syringe로 500 µl를 취하여 GC에 주입하여 분석하였다.

흡입중의 행동변화 관찰법 - Beatty 등¹⁰⁾의 방법을 수정하여 사용하였으며, 흡입시작 직후부터 10분 간격으로 3분간씩 흡입중 2시간 동안의 행동변화를 관찰하였고, 수면(asleep), 활동성(activity), 세안동작(pre-ening), 세신동작(grooming), 직립동작(rearing), 흡입동작(sniffing), 갉는동작(gnawing), 핥는동작(licking) 등의 행동을 관찰점으로 하여 대조군과 비교하였다.

흡입중단후의 행동변화 측정 - Kim 등¹¹⁾의 방법을 수정하여 대조군과 반복흡입군에서 3일 간격으로 3주 동안 개방공간실험(open-field test)을 실시하였다. 개방공간은 하부지름 56 cm, 상부지름 83 cm, 높이 52 cm의 벽으로 둘러싸인 회색 양철로 된 공간이며, 하부 바닥에는 중앙에 원형 구역을 중심으로 백색실선을 그어 총 19개 구역으로 나누었고, 개방공간 바닥의 밝기는 200룩스로 고정하였다. 개방공간실험은 2시간 동안의 톨루엔 흡입을 마친 백서를 측정전 약 1시간 동안 측정환경에 충분히 적응시킨후 한마리씩 공간바닥의 중앙 원형구역에 조용히 놓고나서 3분간 백서가 움직이는

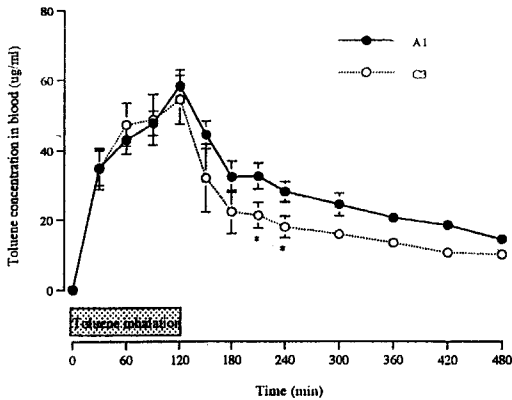


Fig. 1—The change of toluene concentration in blood during and after the toluene inhalation(3,000 ppm) in rats. Vertical lines indicate S.E.(n=10) * P<0.05 C3 vs. A1
A1: Toluene(3,000 ppm) single inhalation group(for 2 hrs).
C3: Toluene(3,000 ppm) repeated inhalation group(2 hrs/day, 6 days/week ×3 weeks).

양상을 관찰하는 것으로 공간하부의 원안에 그려진 실선과 백서의 발자국과 만나는점의 숫자를 이행동작(ambulation), 앞다리를 들고 주위를 경계하는 행동을 직립동작(rearing), 얼굴을 쓰다듬고 몸을 핥는 행동을 세안 및 세신동작(preening & grooming)으로 하여 그 횟수를 기록하였다. 또한, 실험중에는 갑작스런 소음이 나지않도록 주의하였다.

통계처리 - 모든 수치는 산술평균±표준오차로 표시하였고, 통계처리는 Fisher's PLSD 및 ANOVA test를 이용하여 분석하였으며, 전 항목에 대하여 5% (p<0.05)의 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

혈중 톨루엔의 농도변화 - 1회 및 반복흡입군에 대한 혈중 톨루엔농도의 측정은 흡입 직후부터 흡입중단 후 2시간까지는 30분 간격으로 그 이후부터 4시간 동안은 1시간간격으로 총 8시간에 걸쳐 연속적으로 측정한다. 결과, 혈중 최고농도는 두 군 모두 흡입중단 직전인 흡입 2시간대에 나타났으며, 농도는 1회흡입군이 58.13±4.63 μg/ml, 반복흡입군이 54.24±6.87μg/ml이었다. 또한, 혈중 톨루엔의 농도는 반복흡입군이 1회흡입군에 비하여 전반적으로 낮은 농도를 보였고, 특히 흡입중단후 90분과 120분에서 유의하게 낮은 농도를 나

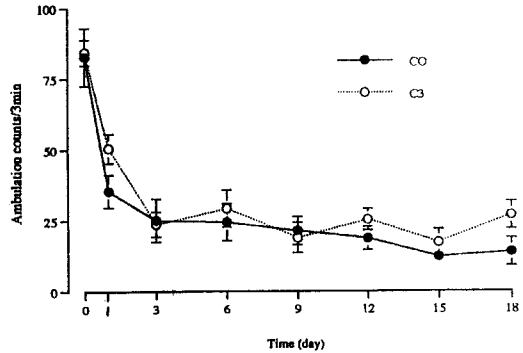


Fig. 2—The change of ambulation in the toluene inhaled rats. Vertical lines indicate S.E.(n=10) CO: Control group. C3: Toluene(3,000 ppm) repeated inhalation group(2 hrs/day, 6 days/week ×3 weeks).

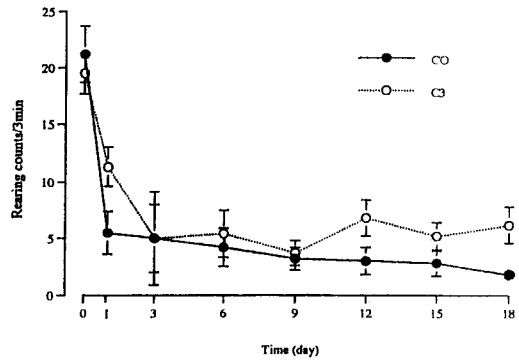


Fig. 3—The change of rearing in the toluene inhaled rats. Vertical lines indicate S.E.(n=10) CO: Control group. C3: Toluene(3,000 ppm) repeated inhalation group(2 hrs/day, 6 days/week ×3 weeks).

타내었다(P<0.05)(Fig. 1). 이는 Stumph 등¹²⁾이 2,500 ppm 농도의 톨루엔을 하루에 3시간씩 1회 및 3주 동안 반복흡입 투여한 결과 3주 반복흡입군이 1회흡입군에 비하여 혈중농도가 감소되었다는 보고와 일치하고 있다. Reas 등¹³⁾ 및 Himan¹⁴⁾은 이러한 현상이 간내 복합기능 산화효소의 유도등에 의해 나타나는 것으로 보고한 바 있다.

흡입중의 행동변화 - 흡입중의 행동변화에서 흡입군은 톨루엔 흡입투여 직후부터 약 10분동안은 비교적 정상적인 행동을 보였으나, 흡입 10분경부터 약 30분 사이에는 챔버안을 돌아다니는 불안한 행동 즉 대조군에 비하여 stereotyped sniffing, gnawing, licking등의 self destructive behavior 및 약간의 과운동성을 보였

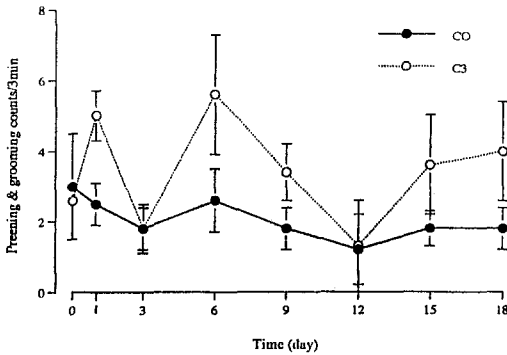


Fig. 4—The change of preening and grooming in the toluene inhaled rats.

Vertical lines indicate S.E.(n=10) CO: Control group. C3: Toluene(3,000 ppm) repeated inhalation group(2hrs/day, 6 days/week ×3 weeks).

고, 흡입투여 30분경 부터 저운동성을 나타내면서, asleep, stationary state로 흡입투여 중단시까지 거의 움직이지 않는 기면상태를 유지하였으며 이러한 억제적인 행동은 1회흡입군이 반복흡입군에 비하여 좀 더 심한 경향을 나타내었다.

흡입중단후의 행동변화 - 자발운동량을 나타내는 이 행동작(ambulation)은 대조군에 비하여 흡입 3일 이후 부터 약간 증가하는 경향을 나타내었고(Fig. 2), 직립동작(rearing)도 반복흡입군이 약간 증가하였다(Fig. 3). 또한, 세안 및 세신동작(preening & grooming)은 반복 흡입군과 대조군간에 통계학적 유의성은 보이지 않았다(Fig. 4).

이상의 결과에서, 흡입중의 행동변화는 흡입 약 30분 이후부터 저운동성을 나타내면서 흡입중단시까지 기면 상태를 유지하였으나 1회흡입군이 반복흡입군에 비하여 좀 억제적인 행동을 나타내었으며, 흡입 중단후 30분에 실시하였던 개방공간실험에서 유의한 차이를 나타내지 않은 것으로 보아 톨루엔 흡입투여에 따른 행동변화는 혈중 톨루엔의 농도 및 내성과 관련이 있을 것으로 사료되나, 추후에는 톨루엔의 흡입투여에 따른 뇌 신경전달물질의 변화 등의 연구와도 관련지어 종합적인 판단이 되어야 할 것으로 생각된다. 톨루엔 흡입투여시 행동변화에 대한 연구로서 Himnan⁸⁾은 톨루엔을 고농도로 단시간 노출하였을 때 운동량이 증가되고, 아 급성으로 반복 투여시에는 감소되는 biphasic effect를 나타낸다고 보고한 반면, Lee 등¹⁵⁾은 저농도에서는 운동성의 증가를 보이나 고농도에서는 운동성이 오히려

감소하였다고 하였다.

결 론

3,000±200 ppm의 농도로 톨루엔을 1회 및 반복흡입 투여한 백서에서 시간경과에 따른 혈중 톨루엔의 농도변화 행동변화에 대하여 실험한 결과는 다음과 같다.

1) 혈중 톨루엔의 농도는 210 및 240분에서 반복흡입군이 1회흡입군에 비하여 낮았다. 혈중 최고농도는 두 군 모두 흡입중단 직전인 흡입 120분대에 나타났고, 농도는 1회흡입군이 58.13±4.63 µg/ml, 반복흡입군이 54.24±6.87 µg/ml이었다.

2) 흡입중의 행동변화는 톨루엔 흡입 직후부터 약 30분 동안은 약간의 운동량의 증가와 흥분된 행동을 나타내었으나, 흡입 30분 이후부터는 조용히 잠자는 듯한 억제적인 행동이 지속되었으며, 1회 흡입군이 반복흡입군에 비하여 억제적인 행동을 나타내었다.

3) 흡입중단후 개방공간실험의 결과는 이행동작(ambulation), 직립동작(rearing), 세안 및 세신동작(preening & grooming)이 대조군과 실험군간에 유의한 차이를 나타내지 않았다.

문 헌

- 1) 痲藥類犯罪白書, 大檢察廳, pp 93-103 (1994).
- 2) Cohr, K. J. and Stokholm, J. : Toluene, a toxicological review. *J. Work Environ. Health* 2, 71 (1979).
- 3) Apostoli, P. F. and Brugnone, L. P. : Biomonitoring of occupational toluene exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 50, 153 (1982).
- 4) Arito, H., Tsuruta, H. and Nakagaki, K. : Changes in sleep and wakefulness following single and repeated exposures to toluene vapor in rats. *Arch. Toxicol.* 62(1), 76-80 (1988).
- 5) Benignus, V. A. : Toluene levels in blood and brain of rats as a function of toluene level in inspired air. *Environ. Res.* 33(1), 39-46 (1984).
- 6) Bushnell, P. J., Evans, H. L., Hugh, L. I. and Palmes, E. D. : Effects of toluene inhalation on carbon dioxide production and locomotor activity in mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 5, 971-977 (1985).

- 7) Ghosh, T. K., Copeland, R. L., Gear, J. C. and Pradhan, S. N. : Effects of toluene exposure on the spontaneous cortical activity in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **32(4)** 987-992 (1989).
- 8) Himnan, D. J. : Biphasic dose-response relationship activity. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **26**, 65-69 (1987).
- 9) Gill, R., Hatchett, E. and Osselton, M. D. : Sample handling and storage for the quantitative analysis of volatile compounds in blood : The determination of toluene by headspace gas-chromatography. *J. Anal. Toxicol.* **12**, 141-146 (1988).
- 10) Beatty, A. A. and Holzer, G. A. : Sex differences in stereotyped behavior in the rat. *Pharm. Biochem. Behav.* **9**, 777 (1978).
- 11) Kim, H. K., Jeong, Y. I. and Park, K. H. : Behavioral change as index of the effects of nimodipine on forebrain-ischemic rats. *J. Pusan Med. Assoc.* **29(5)**, 189-280 (1993).
- 12) Stumph, M. J., Weir, F. W. and Noall, M. W. : Comparison of blood and brain toluene concentrations and circulating triglyceride levels resulting from acute and repeated exposure in rats. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **46(5)**, 244-250 (1985).
- 13) Reas, D. C., Wood, R. W., McCormick, J. P. and Cox, C. : Toxicokinetics of toluene in the rat. *Scand. J. Work Environ. Health* **11**, 301-306 (1985).
- 14) Himnan, D. J. : Toluene and reverse tolerance to toluene inhalation : effects of on open-field behavior. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **21**, 625-631 (1984).
- 15) Lee, S. H., Shin, D. S., Chang, Y. M., Kim, H. S., Lee, J. K., Kim, D. B., Kim, P. Y., Hong, Y. T. and Shin, S. G. : Studies on the effects of toluene in the nervous system(I)-the relationship between the effects of toluene on spontaneous locomotor activities and the pharmacokinetics of toluene-. *The Report of Nat'1 Inst. Safty Res.* **4**, 83-100 (1991).