

## Squalene이 항암제를 투여한 흰쥐의 간에 미치는 효과

김 정 상 · 김 중 세\*

동신대학교 한의과대학 해부학교실, \*조선대학교 생물학과

### Effects of Squalene on the Rat Liver Treated with a Anticancer Agent

Kim Jeong Sang and Jong Se Kim\*

Dept. of Oriental Medicine, Dongshin University

\*Dept. of Biology, Chosun University

(Received November 25, 1995)

#### ABSTRACT

This paper aims to probe the effect of SQ in the rat liver which pretreated with CP was examined by transmission electron microscope.

In the A group, the difference between the normal and the treated groups were not detected at 24 hours, but the few mitochondria were expanded at the 72 hours.

In the B group, the cisternae of rough-surfaced endoplasmic reticulum were partially destructed and attached ribosomes were remarkably decreased at 24 hours. A number of the mitochondria were dilated and increased in number, the filamentous materials also detected at 72 hours.

These results suggest that SQ is not only concerned with construction of the membrane of the cell organelles but also decreased the cellular toxicity in the hepatic cells.

**Key words** : Squalene, Cyclophosphamide, Hepatic cells

#### 서 론

Squalene (hexamethyltetracosahexane,  $C_{30}H_{50}$ )은 심해상어 (*Centropristis striata* Garman, spiny dogfish)의 간에서 추출되는데 cholesterol 합성

과정중 mevalonate의 인산화과정후 farnesyl pyrophosphate를 거쳐 합성되고, squalene epoxide와 lanosterol을 거쳐 콜레스테롤이 합성되어지는데 탄소수 사슬들이 이중결합을 갖고 있어 불안정하며 쉽게 산화할 수 있다 (Saint-Leger 등, 1986). 간에 가장 많은 squalene (이하 SQ라 함)를 함유하고 있는 심해상어는 수심

\* 이 논문은 1995년도 조선대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

이 500~1000 m의 깊이에서 주로 서식하며 수서식물, 프랑크톤, 미네랄 등을 섭식한다. 이들의 서식 환경은 광선이 도달하지 않고 무거운 수압으로 인한 불리한 환경 조건이지만 생존이 가능한 것은 SQ를 함유한 간 때문인 것으로 밝혀지고 있다. SQ은 여러 식물에서도 합성되며 특히 olive유는 많은 양을 함유하고 있다. 동물에서는 주로 간에서 합성이 이루어지며 피부, 피하 지방조직, 복부 지방조직, 림프절 및 심장근 등에 다량 포함되어 있다 (Liu 등, 1976). 한편 SQ은 6개의 이중결합이 있어 산소이온과 쉽게 결합할 수 있기 때문에 유해한 산소를 제거할 수 있다. SQ은 상처 치유, 심장활동력의 증가, 혈관의 확장, 동맥경화의 억제 작용을 하기 때문에 건강식품으로 사용 되어지고 있다 (Budiarsio, 1990).

Cyclophosphamide (이하 CP라 함)는 alkylating agent로써 alkyl화 반응에 의한 세포의 분열과 성장 및 대사기능을 억제하기 때문에 종양세포의 치료제로 사용되지만 (Novack와 Pearson, 1971; Genka 등, 1990) 정상세포에도 독성을 야기시키는 것으로 알려져 있는데, Koss (1967)에 의하면 CP를 생쥐에 투여하였을 때 간 세포에서 세포괴사 현상이 나타난다고 하였으며, 서와 김 (1987)은 항암제가 생쥐의 간의 세포소기관에서 심한 부작용을 보여주었다고 하였다. Leibovici 등 (1989)은 흰쥐에 CP를 투여하였을 때 림프구, 과립백혈구 및 단핵구가 현저히 감소한다고 하였다.

한편 Storm 등 (1993)은 생쥐에 2% SQ을 혼합하여 먹인 후 방사선을 조사하였을 경우 대조군보다 훨씬 오래 생존 하였다고 하였다.

Kostas 등 (1993)은 흰쥐의 간세포에서 SQ 합성효소의 위치가 소포체이고 섭취하는 음식의 종류에 따라서 SQ의 양은 조절된다고 하였다. Jacob 등 (1995)과 Krisans 등 (1994)은 SQ합성은 microsome 뿐만 아니라 과산화소체에서도 합성된다고 보고하는 등 현재의 연구 방향은 SQ의 합성장소와 합성량에 관하여 활발히 진행되고 있는 실정이다. 한편, Lohner 등 (1993)에 의하면 SQ은 모델 인지질막에서 비-이중막구조 (non-bilayer structures)의 형성을 촉진시킨다고 하였다.

전술한 바와 같이 SQ에 관한 연구는 SQ합성효소의 위치나 작용에 대한 생화학적 연구가 주를 이루고 있으며 SQ을 섭취하였을 경우 간세포에서의 작용에 대한 연구는 소수에 지나지 않는다. 특히 항암제인 CP를 투여하였을

때 전처치한 SQ의 방어기전에 대한 연구는 아직까지 이루어지고 있지 않은 실정이다. 따라서 본 실험에서는 SQ 전처치가 CP의 세포독성에 미치는 효과를 흰쥐의 간을 실험재료로 하여 밝히고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

체중이 약 250 g인 흰쥐 (Sprague Dawley계)의 건강한 수컷을 사용하였다. 실험동물은 대조군과 실험군으로 나누었으며, 실험군은 SQ을 2일간 전처치 한 후 3일째 SQ과 CP를 동시 투여한 군 (이하 A군이라 함)과 CP만 투여한 군 (이하 B군이라 함)으로 나누었다. SQ는 세모 (주), CP는 중외제약 제품을 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) SQ와 CP 투여

A군은 SQ (150 mg/kg)을 24시간 간격으로 2일간 복강 투여로 전처치한 후 3일째 동량의 SQ과 CP (100 mg/kg)를 동시 복강 투여 하였으며, B군은 전처치를 하지 않고 CP (100 mg/kg)만 투여 하였다. 각 실험군은 투여 후 48시간, 72시간, 120시간 경과 후 단두대를 이용하여 단두한 후 곧 바로 간조직을 적출 하였다.

#### 2) 전자현미경 관찰

적출한 간조직을 2.5% glutaraldehyde용액 (pH 7.4, 0.1 M cacodylate 완충액으로 희석, 4°C) 속에서 1 mm<sup>3</sup>로 신속히 세절한 후 동일 용액에서 2시간 동안 전고정 한 후 완충액 (cacodylate 완충액, 4°C)으로 3회 세척 하였다. 세척 후 1% OsO<sub>4</sub> (pH 7.4, 0.1 M cacodylate 완충액으로 희석, 4°C)로 2시간 후 고정한 다음 동일 완충액으로 3회 세척하고 알콜 상승 농도 순으로 무수 알콜까지 탈수하여 propylene oxide로 치환한 후 Epon mixture로 포매하였다. 포매된 조직은 35°C에서 12시간, 45°C에서 12시간, 60°C에서 24시간 동안 중합시킨 다음 초박절편기 (ultramicrotome LKV-V)을 사용하여 1 μm 두께로 절편을 제작한 후 1% toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰대상 부위를 확인 하였다. 확인된 부위를 60 nm의 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 JEM 100 CX-II 투과형 전자현미경 (80 KV)으로 관찰

하였다.

## 결 과

대조군의 간세포는 비교적 등근 핵이 세포의 중앙에 위치하며 핵소체를 하나 또는 둘을 갖고 있었다. 조면소포체는 층판구조를 이루고 있으며 소관의 양끝이 약간 팽대되어 있는 대체로 발달된 구조를 이루고 있었다. 활면소포체는 소관들이 분지되어 있거나 문합된 상태로 나타나는 데 주변세포질에서는 당원과립들이 집적되어 있었다. 골지복합체는 담세관 주변에서 주로 관찰되었는데 다수의 골지소포체들과 함께 나타났다. 미토콘드리아는 구형 또는 간상형으로 세포질 전반에 걸쳐 고르게 나타날 뿐만 아니라 기질이 층판되어 있고 cristae가 발달되어 있었다 (Fig. 1).

24시간 A군은 핵의 핵막이 둥글고 염색질은 진정염색질과 이질염색질이 비교적 고르게 나타나 대조군과 유사한 소견을 보여 주었다. 조면소포체는 층판구조를 이루고 있었으며 비교적 발달되어 있었다. 골지복합체는 담세관에 인접하여 흔히 나타났다. 미토콘드리아는 대조군에서 처럼 원형 또는 난원형으로 관찰되었을 뿐만 아니라 cristae가 발달되어 있고 기질 또한 층판되어 있었다. 활면소포체 지역에서는 소수의 당원과립과 유리 리보솜체들이 관찰되었다. 한편 세포질에서는 다수의 1차 용해소체들이 나타났다 (Fig. 2). B군은 핵의 핵막이 불규칙할 뿐만 아니라 내막과 외막의 구분이 뚜렷하지 않고 염색질이 고르지 못한 파괴 양상을 보여주었다. 조면소포체의 일부는 층판구조를 이루고 있긴 하나 대부분 절단되었거나 아주 불규칙한 형태를 이루고 있었으며 부착리보솜체의 수는 현저하게 감소하였다. 미토콘드리아는 다수 관찰되었지만 대부분 내강이 약 2배 정도 팽대되어 원형을 이루고 있었을 뿐만 아니라 cristae는 거의 관찰되지 않았으며 기질 또한 전자밀도가 매우 낮게 나타났다. 한편 세포질에서는 커다란 공포들이 나타나는 세포질 파괴 현상이 시작되었다 (Fig. 3).

72시간 A군은 핵의 핵막이 비교적 둥글고 염색질은 비교적 고르게 나타났다. 조면소포체는 전형적인 층판구조를 이루고 있는 것과 미토콘드리아 사이에서 3~4층의 층판구조를 이루고 있는 것으로 관찰되었는데 대부분 내강이 약간 팽대되어 나타났다. 미토콘드리아는 대조

군에서 처럼 다수 관찰되었으나 일부는 내강이 약 2배 정도 팽창되어 있고 일부는 내막과 외막이 분리되거나 파괴된 양상을 보여주었다. 활면소포체는 매우 팽대되어 나타났다. 소수의 일차 용해소체들이 나타났다 (Fig. 4). B군은 핵의 핵막은 불규칙할 뿐만 아니라 염색질의 전자밀도가 고르지 못한 괴사의 양상을 보여주었다. 미토콘드리아들의 수가 증가하여 세포질의 대부분을 차지하고 있었는데 거의 모두가 팽창되어 24시간 B군에서 처럼 대조군에 비하여 약 2배 정도 크기의 등근형으로 나타났으며 cristae는 극히 소수의 미토콘드리아에서만 관찰되었다. 조면소포체는 이들 미토콘드리아들 사이에서 관찰되었지만 층판구조를 이루고 있는 것은 거의 관찰할 수 없었고 부착 리보솜체도 매우 드물게 결합되어 있었다. 세포막에 인접한 세포질에서는 간혹 섬유질들이 관찰되기도 하였다 (Fig. 5).

120시간 A군은 핵의 핵막이 비교적 둥글고 염색질이 비교적 고르게 나타났다. 조면소포체는 5~15층의 전형적인 층판구조를 이루고 있었으나 부착리보솜체는 드물게 관찰되었다. 미토콘드리아는 대부분 원형으로 관찰되고 기질이 대조군과 유사한 소견을 보여 주었으나 전반적으로 약간 팽대되어 있고 소수의 미토콘드리아들은 외막이 파괴되기도 하였다. 골지복합체와 활면소포체는 비교적 발달되어 있었고 당원과립들도 비교적 층판되어 있었다 (Fig. 6). B군의 핵은 핵의 핵막이 비교적 둥글고 이종막이 뚜렷하게 관찰되기는 하였지만 핵소체는 매우 응축되어 있었다. 미토콘드리아들은 대부분 정상적인 형태를 보여 주었으나 일부는 내막과 외막이 분리되거나 파괴된 양상을 보여 주었다. 핵막 주변부의 활면소포체는 비교적 발달되어 있었으나 당원과립들은 A군에 비하여 현저하게 적게 나타났다 (Fig. 7).

## 고 찰

SQ는 아주 효과적으로 산소를 배출하는 능력을 갖는 불포화 탄화수소로서 Squalidae (sharks) 科의 간에서 많은 양을 추출할 수 있다. 생화학적으로는 스테로이드 경로에서 콜레스테롤 고리 생합성효소의 중요 분자이다 (Saint-Lenger, 1986)

Yaminishi 등 (1978)에 의하면 혈청내 SQ는 급성간염, 만성활동성 간염, 간경화증 환자에서는 변하지 않았

고, 담즙분비 장애 환자에서는 현저히 감소하며, 콜레스테롤과 SQ의 비율은 급성 및 만성감염 환자에서는 정상적이었으나 간경화 환자에서는 약간 감소한다고 하였다.

간은 지방, 탄수화물, 단백질, 비타민 등 음식물의 모든 주요 물질을 처리하고 저장하기도 하며 몸에 불필요한 물질은 제거한다. 또한, 지질대사 과정에 관여하여 지질을 지단백으로 만들어 혈중으로 내 보낸다. 이와 같은 작용을 하는 간은 소화관의 정맥계통에 위치하기 때문에 흡수된 독성물질에 의해서 쉽게 손상을 받는다. 간세포의 소포체는 호르몬 투여, 산소결핍, 감염, 방사선조사 그리고 ethionine, dinitrophenol, dimethylnitrosamin 같은 약물을 투여 했을 때 물이 소포체 내강으로 유입됨으로써 확장되거나 소낭을 형성한다고 하였다 (David, 1964).

Rodriguez와 Acosta Jr (1995)에 의하면 진행성 전립선암의 항암제로 사용되는 ketoconazole은 배양중인 흰쥐의 간세포에서 심한 간소엽 괴사현상을 보였다고 하였고, Koss (1967)는 CP를 생쥐에 투여하였을 때 간세포에서 활면소포체와 조면소포체의 비정상적인 확장과 내강의 팽대 및 절단 등을 보이며 세포의 전반적인 괴사현상이 나타난다고 하였다.

본 실험에서도 A군에서 24시간째와 72시간째에서 조면소포체의 층판구조의 파괴현상 및 소관의 절단이 두드러지게 관찰되었을 뿐만 아니라 활면소포체도 절단되거나 분리된 현상이 나타나 전반적으로 세포의 파괴현상이 두드러졌다.

Ghadially (1985)에 의하면 미토콘드리아의 내강이 확장되거나 내막과 외막이 분리되는 것은 삼투압의 변화에 따른것으로 물이 내강으로 유입됨으로서 일어난 결과라고 하였다. 그 결과 그들의 호흡능력이 정상세포의 미토콘드리아보다 떨어지게 되는데, 본 실험에서도 B군의 24시간 째에서 미토콘드리아의 팽대 및 파괴현상이 두드러지기 시작하였으며 72시간 째에는 미토콘드리아의 세포가 매우 증가하여 세포질 대부분을 차지하는 결과를 보여 주었다.

Tilvis와 Miettinen (1983)는 1%의 squalene이 함유된 사료를 흰쥐에 투여 하였을 때 혈청 인지질단백질계와 장점막, 간 및 지방조직에서 SQ의 축적정도가 현저하게 증가하였으며, 혈청초저비중지단백 (very low density lipoprotein, VLDL)의 콜레스테롤 농도 또한 증가

하였고, 혈청 저비중지단백 (low-density lipoprotein, LDL) 뿐만 아니라 분 (糞)에서는 담즙산이 콜레스테롤을 에스터화 하였다고 하였는데, 이와 같은 결과는 식이에 의한 SQ의 흡수는 지방조직의 SQ 함량과 관계를 갖고있다고 보이며 전반적인 콜레스테롤 합성을 효과적으로 증가시켰음을 의미한다고 본다.

Strandberg 등 (1990)은 사람에게 SQ (900 mg/day)를 7~30일 동안 투여한 결과 약 60%가 흡수되었으며 혈청 SQ농도는 17배 증가하였으나 혈청내 중성지방이나 콜레스테롤의 함량은 변하지 않았다고 보고하였다. Keller와 Fleisler (1990)에 의하면 SQ는 개구리의 시세포 중 망막세포의 바깥쪽 막의 내재성 구성물질이라고 하였다. Palamarchuk VI (1990)는 전리방사선은 저혈조직의 높은 방사선감수성에 따라 적혈구막에서의 sterol과 SQ의 함량에 상당한 변화의 원인이 된다고 하였다. 방사선 조사 후 이들은 증가한다고 하였는데 이것은 sterol 구조와 적혈구막의 특성 사이에 관련성이 있다고 보고하였다. Kostas 등 (1993)은 흰쥐의 간세포에서 SQ의 합성효소는 소포체와 과산화소체들에 위치하며 섭취하는 음식물의 종류에 따라서 SQ 합성량이 조절된다고 하였다. 또한 Lohner (1993)는 SQ가 비이중막 구조의 형성을 촉진시킨다고 하였으며, Stamellos 등 (1993)에 의하면 SQ 합성효소는 소포체에 위치해 있으며 흰쥐에서는 간의 과산화소체들에는 없다고 하였다.

본 실험의 A군에서는 24시간 째에서는 대조군과 유사한 세포소견을 보여 주었을 뿐만 아니라 일차 용해소체들이 증가하는 것으로 보아 CP의 독성에 대한 기전으로 보이며, 72시간 째에서는 CP의 독성에 의하여 다소 상해를 입은 미토콘드리아들이 나타나기 시작하였으나 B군에 비하여 현저하게 낮게 관찰되었다. 이와 같은 결과로 보아 SQ는 전반적으로 CP의 세포독성을 떨어뜨리는 작용을 하므로 SQ 전처치군이 무처치군보다 세포소기관의 손상정도가 낮게 나타나고 특히 미토콘드리아의 손상정도가 무처치군에 비하여 현저히 낮게 나타나는 것은 SQ가 세포소기관의 막계 형성에 관여하기 때문이라 사료된다.

## 결 론

CP의 세포독성에 대한 SQ의 효과를 규명하기 위하여

흰쥐에 SQ를 전처치한 다음 CP를 투여하고 간조직을 전자현미경으로 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

A군은 24시간에서 대조군과 유사한 소견을 보여주었으나, 72시간에서 소수의 마이토콘드리아들은 내강이 팽대되어 나타났다. 120시간에서는 조면소포체가 정상적인 층판구조로 관찰되었으나 당원과립의 축적은 대조군보다 낮게 나타났다. B군은 24시간에서 조면소포체의 구조가 일부 절단되었을 뿐만 아니라 부착리보솜체의 수가 현저하게 감소하였으며, 72시간에서는 마이토콘드리아가 매우 팽대되었고 그 수가 증가하였으며 또한 세사성물질들이 관찰되었다. 120시간에서는 핵소체가 매우 응축되었으며, 마이토콘드리아의 일부는 내막과 외막이 분리되어 나타났다.

이와 같은 결과로 보아 SQ은 세포소기관의 막계형성에 관여할 뿐만 아니라 간에 미치는 세포독성을 약화시키는 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- 서정국, 김완석, 1987. Daunomycin이 mouse 간세포의 소기관에 미치는 영향에 관한 전자현미경적 연구, J. Han-yang Med. Coll. 7, 17-25
- Budiarso IT, 1990. Fish oil versus olive oil, The Lancet. 336, 1313-1314
- David H, 1964. Submicroscopic and pathomorphology of the liver, Pergamon Press, New York, Macmillian
- Genka S, Deutsch J, Stahle PL, Shetty UH, John V, Robinson C, Rapoport SI, Greig NH, 1990. Brain and plasma pharmacokinetics and anti-cancer activities of cyclophosphamide and phosphoramidate mustard in the rat, Cancer, Chemother. Pharmacol. 27(1), 1-7
- Ghadially FN, 1985. Diagnostic electron microscopy of tumors, 2nd edition, London, Butterworths
- Jacob G, Olsson JM, Dallner G, 1995. Estimation of dolichol and cholesterol synthesis in microsome and peroxosomes isolated from rat liver, FEBS-lett. 358, 230-232
- Keller RK, Fleieser SJ, 1990. Incorporation of squalene into rod outer segments, J. Biol. Chem. 265(23), 13709-13712
- Koss LG, 1967. A light and electron microscopic study of the effects of a single dose of cyclophosphamide on various organs of the rat, Lab-ort. Invest. 16, 44-65
- Kostas DS, Shackelford JE, Shechter I, Jing G, Conrad D, Keller GA, Krisans SK, 1993. Sub-cellular localization of squalene synthase in rat hepatic cells, J. Biol. Chem. 268(17), 12825-12836
- Krisans SK, Erixsson J, Edwards PA, Keller GA, 1994. Farnesyl-diphosphate synthase is localized in peroxisome, J. Biol. Chem. 269(19), 14165-14169
- Leivovici J, Siegal A, Kopel S, Davidai G, Yavetz H, 1989. Effect of cyclophosphamide and levan treatment on bone marrow and peripheral blood cells in B16-F10 melanoma-bearing mice, Int. J. Immunopharmac. 11(2), 133-147
- Liu GCK, Ahrens Jr. EH, Screibman PH, Crouse JR, 1976. Measurement of squalene in human tissues and plasma, J. Lipid Res. 17(1), 38-45
- Lohner K, Degovics G, Langgner P, Gnamusch E, Paltauf F, 1993. Squalene promotes the formation of non-bilayer structures in phospholipid model membrane, Biochim. Biophysics. Acta. 1152(1), 69-77
- Novack SN, Pearson CM, 1971. Cyclophosphamide therapy in Wegner's granulomatosis, New Engl. J. Med., 284, 938
- Palamarchuk VI, 1990. Characteristics of the radiation-induced changes in the content of sterols and squalene on the lymphoid system tissues and erythrocyte of rats, Radiobiologia 30(3), 321-327
- Rodriguez RJ, Daniel Jr. A, 1995. Comparison of ketoconazole- and fluconazole-induced hepatotoxicity in a primary culture system of rat hepatocytes, Toxicology 96, 83-92
- Saint-Leger, Bague DA, Coheu E, Chivot M, 1986. A possible role for squalene in the pathogenesis of acne, British J. of Dermatology 114, 535-542
- Stamellos KD, Shackelford JE, Shechter I, Jiang

- G, Conrad D, Keller GA, Krisand SK, 1993. Subcellular localization of squalene synthase in rat hepatic cells, *J. Biol. Chem.* 268(17), 12825-12836
- Storm HM, Oh SY, Kuner BF, Norton S, 1993. Radioprotection of mice by dietary squalene, *Lipids* 28(6), 555-559
- Strandberg TE, Tilvis RS, Miettinen TA, 1990. Metabolic variables of cholesterol during squalene feeding in humans: comparison with cholestyramine treatment, *J. Lipid. Res.* 31(9), 1637-1643
- Tilvis RS, Miettinen TA, 1983. Dietary squalene increases tissue sterols and fecal bile acids in the rat, *Lipids* 18, 32-36
- Yamanishi A, Ikawa S, Mirayama C, 1978. Serum squalene levels in hepatobiliary disease, *Clinica Chimica Acta.* 88, 105-110

### FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** An electron micrograph of two hepatocytes showing a number of mitochondria and well developed rough-surfaced endoplasmic reticulum in the control rat. N, nucleus. Bar indicate 1  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 2.** Electron micrograph of the hepatic cells after 24-hours treated with squalene and cyclophosphamide. A primary lysosomes (Ly) are more increased than control group N. nucleus; rER, rough-surfaced endoplasmic reticulum. Bar indicate 1  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 3.** Electron micrograph of the two hepatic cells after 24-hours treated with cyclophosphamide. A number of mitochondria (M) are dilated. N, nucleus. Bar indicated 1  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 4.** Electron micrograph of the hepatocytes after 72-hours treated with squalene and cyclophosphamide. The half number of mitochondria are destructed. M, mitochondria; N, nucleus; rER, rough-surfaced endoplasmic reticulum. Bar indicate 1  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 5.** Electron micrograph of the hepatocytes after 72-hour treated with cyclophosphamide. Electron micrograph showing the destruction of the mitochondrial inner membrane. F, fibrous material; M, mitochondria; N, nucleus. Bar indicate 1  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 6.** Electron micrograph of the hepatocyte after 120-hour treated with squalene and cyclophosphamide. A number of lysosomes (Ly) are observed. G. Golgi complexes; M, mitochondria; N, nucleus; sER, smooth endoplasmic reticulum. Bar indicates 1  $\mu\text{m}$ .
- Fig. 7.** Electron micrograph of the hepatocytes after 120-hour treated with cyclophosphamide. L, lipid droplet; M, mitochondria; NO, nucleolus; sER, smooth endoplasmic reticulum. Bar indicate 1  $\mu\text{m}$ .







