

## Carbofuran이 NIH 3T3섬유모세포와 흰쥐의 신장에 미치는 영향과 Phenobarbital sodium의 보상효과에 관한 연구

한두석<sup>1</sup> · 임요섭\* · 한성수\*

원광대학교 치과대학 구강해부학교실, \*농과대학 농화학과

### Effects of Carbofuran and Compensation of Phenobarbital sodium in the NIH 3T3 Fibroblast and Rat Kidney

Du Seok Han, Yo-Sup Rim\* and Seong-Soo Han\*

Department of Oral Anatomy, School of Dentistry

\*Department of Agricultural Chemistry, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

(Received March 19, 1997)

(Accepted April 6, 1997)

**ABSTRACT:** This study was carried out to investigate toxicity of insecticide carbofuran and compensatory effects of phenobarbital sodium (PB) in vivo and in vitro. Sprague Dawley male rats were used as experimental animals and divided into carbofuran only administered group and simultaneous application group of carbofuran and PB. At 30 min and 1, 3, 6, 12, 24, 48 and 96 hrs after each treatment, the animals were sacrificed by decapitation. Kidney were immediately removed, immersed in fixatives, and processed with routine method for light microscopic study. Paraffin sections were stained with H-E, PAM and PAS.  $5.0 \times 10^4$  cell/ml of NIH 3T3 fibroblast in each well of 24 multidish were cultured. After 24 hours, the cells were treated with solution of six groups; control group cultured in media only, carbofuran  $MTT_{50}$  or  $NR_{50}$  group cultured in the media containing carbofuran  $MTT_{50}$  or  $NR_{50}$  and four experimental groups cultured in the media containing carbofuran  $NR_{50}$  plus various concentrations of PB. After the NIH 3T3 fibroblast of all groups were cultured in same condition for 48 hours, Tetrazolium MTT (MTT) and NR (neutral red) assay were performed to evaluate the cytotoxicity of cell organelles. Under the light microscope, atrophic change of renal corpuscles were frequently observed in 1 and 2 days after carbofuran treatment. The increase of the mesangium was apparent in 1 and 2 days after carbofuran treatment. Necrotic changes of the epithelium and loss of brush border of proximal tubules were most severe at 2 and 3 days after carbofuran treatment, respectively. In contrast, there were no evidences of the toxic effects on renal tissues at 48hrs in carbofuran-PB treated groups. Carbofuran  $MTT_{50}$  and  $NR_{50}$  were  $78 \mu M$ ,  $82.5 \mu M$  respectively. MTT and NR quantities were significantly increased in carbofuran-PB  $100 \mu M$  treatment group and carbofuran-PB  $100 \mu M$  treatment group. On the basis of these results, it is obvious that PB has compensatory effects against carbofuran toxicity.

**Key Words:** Carbofuran, Phenobarbital sodium, PAM stain, NIH 3T3 fibroblast

## I. 서 론

Carbofuran과 같은 살충제를 사용하면 주위 환경에 잔류하기도 하지만 인체와 동물체에 직접 접촉되거나 흡입되기도 하고 food chain을 통하여 생체에 유입하므로 급성중독을 유발하기 때문에 인체와 동물체에 대한 안전성 평가의 기초자료를 확립하기 위하여 많은

연구들이 이루어지고 있으며(이 등, 1984; 양 등, 1986; 류 등, 1990; 임과 한, 1995) 이러한 노력들은 앞으로도 계속되어야 할 것이다.

Carbofuran이 인체나 동물체에 독성을 유발하는 기전에 대하여는 주로 신경계와 효소를 중심으로 밝혀지고 있으며 carbamate계 살충제의 독성은 신경계의 어떤 신경연접에서 acetylcholinesterase(AChE)의 억제에 기인하거나(Goodman and Gilman, 1980) 세포의 효소활성의 억제에 기인한다고 한다(한 등, 1996). 항 콜린

<sup>1</sup>Author for correspondence.

에스테라제가 무력할 만큼 carbofuran을 투여한 동물은 타액분비, 낙루, 배뇨, 배변, 동공의 수축, 근육경련, 피로 및 전신의 간헐성 경련등이 일어난다. 일반적으로 죽음은 간헐성 경련에 의하여 진행되는데 호흡기이상 질식이 죽음의 일차적 원인이며 그 기전은 명확하지 않지만 기관지의 수축, 저혈압, 호흡기계 근육의 신경근마비등이 복합적으로 작용하거나 뇌의 호흡기계 중추의 이상이 원인일 것으로 추측한다(Ronald and Dorough, 1976a). 일반적으로 경구투여한 carbofuran의 65-75%는 24시간내에 뇨로 분비하게 되는데 흰쥐의 경우는 45%가 뇨로, 30%가 탄산가스상태로 배출된다고 한다(Knaak *et al.*, 1965). 인체나 동물체에 독성을 유발하는 중금속이나 살충제와 같은 독성물질은 대부분 간과 신장에 심한 손상을 일으키기 때문에 이들 장기의 형태학적 변화와 효소활성에 대하여 연구가 많다(Cueto and hayes, 1967; Lidman *et al.*, 1976; Hayoka and Danterman, 1983; 최, 1996).

Phenobarbital sodium(PB)은 barbiturate유도체인 항경련제로서 인체에 경구투여하면 약 70-80%가 위장관에서 흡수되고 직장에 투여하면 결장에서 빠르게 흡수되며 경구투여후 혈중농도는 8-12시간 후에 최고에 달하고 혈액내 잔류기간은 2-6시간이며 oxidative hydroxylation에 의하여 간을 경유하여 *p*-hydroxyphenobarbital로 대사된다. PB의 약 25%는 변화되지 않은 상태로 뇨로 배출된다(Ronald and Dorough, 1976b). Hana와 Atallah 및 Szeicz 등은 1970년대 초에 methylcarbamate 살충제의 해독제로서 Atrophine과 tetraethylammonium chloride (TEAC)를 흰쥐의 피하와 복강내에 주사하면 LD<sub>50</sub>값이 상승한다고 보고한 바 있다.

이에 저자는 carbofuran 또는 carbofuran과 PB를 조합으로 흰쥐에 경구투여한 후 혈중농도가 최고에 달하는 8-12시간과 잔류기간을 고려하여 30분-96시간에 신장의 조직 병리학적 변화를 관찰하고 신장조직의 골격(framework)유지에 관여하는 배양NIH 3T3섬유모세포에 적용하여 세포독성과 보상효과를 MTT분석법과 NR분석법으로 측정하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 생체내 실험(In vivo)

#### 1) 실험동물

본 실험에 사용된 실험동물은 대한실험동물센터(충북, 음성)에서 번식사육한 80~100 g의 SPF albino rat (웅성 Sprague Dawley계)를 구입하여 실험실 조건으로

2주간 순화시킨(체중 180~200 g) 후 공시하였으며 무처리군과 3개의 실험군 즉 carbofuran 3.8 mg/kg(LD<sub>25</sub>) 투여군, PB 60 mg/kg 투여군, carbofuran과 PB동시투여군으로 나누었다. 대조군 및 각 실험군의 뇌의 세포변화를 경시적으로(0.5, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 96시간) 조사하기 위하여 각 실험군당 8마리씩 3반복으로 배정하여 총 150마리의 흰쥐를 사용하였다. Carbofuran만을 처리한 실험군에서의 치사된 쥐는 즉시 제거한 후 생존한 쥐만을 실험에 사용하였고 실험실 조건은 온도 23±1°C, 습도 55~60%, 광도는 인공조명으로 명암을 각각 12시간으로 조절하였으며 먹이와 물은 삼양식품 흰쥐용 사료(제322-4호)와 1차 증류수를 일정량씩 공급하여 자유로이 섭식할 수 있도록 하였고 깔집은 3일을 주기로 교체하여 분비물로 인한 스트레스를 방지하였다.

#### 2) 공시약제 및 시약

본 실험에 사용된 공시약제인 carbamate계 살충제 carbofuran(2,3-dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranol methyl carbamate, 순도: 99.9%)은 국립보건원에서 분양받았으며, phenobarbital sodium[5-ethyl-5-phenyl-2,4,6(1H,3H,5H)-pyrimidinetrione monosodium salt, 순도: 97.5%]은 Sigma chemical co.(U.S.A)에서 구입하여 실험을 수행하였고 나머지 시약은 특급시약을 구입하여 사용하였다.

#### 3) 약물투여

본 실험에 사용된 공시약제인 carbofuran 3.8 mg/kg은 dimethylsulfoxide(DMSO) 0.5 ml에, PB 60 mg/kg은 saline 0.5 ml에, 각각 상기 약량만큼 용해시킨 stock solution을 투여직전 조제하여 사용하였으며, carbofuran, PB 단독투여군은 각각 0.5 ml의 상기약량만을 경구투여용 주사기로 1회 경구투여 하였고 병용투여군은 carbofuran 투여 30분 후 PB를 각각 0.5 ml씩 1회 재투여하여 경시적으로 조사하였다.

#### 4) 표본제작

공시약제 투여 후 각 실험군의 동물을 경시적으로 chloroform으로 마취 시킨후 흰쥐의 복벽을 절개하여 신장을 적출한 다음 4°C의 10% NBF(neutral buffered formalin)고정액에 48시간 고정후 흐르는 물에 48시간 수세하였다. 수세한 조직은 50% 알콜용액으로부터 농도 상승순으로 100% 알콜용액까지 탈수하였고 xylylene을 거쳐 paraffin에 포매하였다. 포매된 조직은 microtome(leitz)을 이용 6 µm의 두께로 박절하고 얻어

진 조직절편은 H-E염색과 PAM염색 및 PAS염색을 시행하여 광학 현미경(Olympus)으로 관찰하였다.

## 2. 시험관내 실험(In Vitro)

### 1) 섬유모세포배양

백서의 미부에서 분리한 NIH 섬유모세포를 배양용기(25 cm<sup>2</sup> Flask, Nunc.)에서 stock culture한 후 3-4회 계대배양하여 사용하였다. 세포배양액은 Eagle's minimum essential medium(EMEM, Gibco)에 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco)과 penicillin G(25 unit/ml), streptomycin(25 µg/ml) 및 fungizone(0.25 µg/ml)을 혼합하여 사용하였다. 세포는 37°C, 5% CO<sub>2</sub>로 조정된 항온기내에서 배양하였으며, 배양액은 3일마다 교환하였다. 세포수는 trypsin-EDTA로 세포를 부유시킨 후, 0.2% trypan blue로 염색하여 hemocytometer로 산정하였다.

### 2) IC<sub>50</sub> 결정과 수복효과 측정

배양 중인 NIH 3T3 섬유모세포를 각 well에 여러농도의 carbofuran을 첨가하여 48시간 배양한 후 MTT정량과 NR정량을 실시하여 각각의 IC<sub>50</sub>을 구하였으며 IC<sub>50</sub>농도와 여러농도의 PB를 배양액에 첨가하여 48시간 배양한 후 MTT정량과 NR정량을 실시하여 보상효과를 측정하였다.

### 3) MTT(Tetrazolium MTT)정량

Mosmann(1983)의 방법에 따라 MTT량을 정량하였으며, 실험은 6군으로 구분하였는데, 배양액만으로 배양한 군을 대조군, 각각의 MTT<sub>50</sub>량의 carbofuran을 첨가한 배양액으로 배양한 군을 MTT<sub>50</sub>군, MTT<sub>50</sub>량의 carbofuran과 여러농도(1, 25, 50, 100 µM)의 PB를 각각 배양액에 넣어 배양한 군을 실험군으로 하여 48시간 배양하였다. 배양 후 분석 당일 조제한 MTT(Sigma) 50 µg/ml가 포함된 배양액을 well당 1 ml씩 넣어 3시간 배양하였다. 배양 완료 후 배양액을 버리고 dimethylsulfoxide(DMSO)를 2 ml/well씩 넣어 5분간 실온 방치한 후 용해된 MTT formazan을 Elisa reader (ETY-96, Japan)를 사용하여 550 nm에서 optical density(O.D)를 측정하여 대조군과 비교하였다.

### 4) NR(Neutral red) 정량

Borenfreund와 Puerner(1984)방법에 의하여 세포를 배양용기당 2.0×10<sup>4</sup> cell/ml이 되도록 24 well multishield에 분주하여 24시간 배양 후, 1 µM, 25 µM, 50

µM 및 100 µM농도의 carbofuran이 포함된 배양액으로 교환하고, 48시간 동안 배양한 다음 50 µg/ml의 neutral red(Sigma)가 포함된 배양액을 37°C 어두운 곳에서 overnight 시킨 후, well당 1 ml씩 넣어 3시간 동안 배양하였다. 배양 완료 후 배양액을 버리고 phosphate buffered saline(PBS)으로 2-3회 세척하여 1% formaldehyde-1% CaCl<sub>2</sub>를 넣어 실온에 방치하여 3시간 동안 용해소체내에 축적된 NR을 용출하였다. 용출된 NR의 흡광도를 Elisa reader(550 nm)로 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

### 5) 통계처리

실험결과의 통계처리는 student's t-test에 준하였고, P-value가 0.05미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

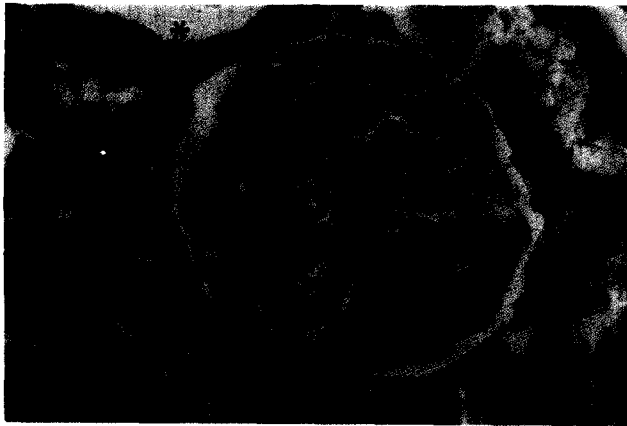
## III. 결 과

### 1. 생체내 실험결과

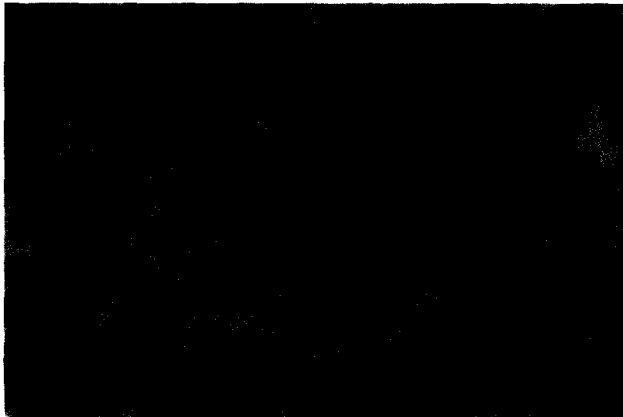
흰쥐의 생체에 carbofuran을 투여한 후 나타나는 독성과 carbofuran독성에 대한 독성경감효과를 조직병리학적으로 관찰하기 위하여 carbofuran단독 또는 carbofuran과 PB를 동시에 투여한 후 PB가 혈중최고농도에 달하는 8-12시간과 잔류기간을 고려하여 경시적(0, 5, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 96시간)으로 신장을 적출하여 H-E염색, PAM염색 및 PAS염색을 시행하여 광학현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 1-9와 같다.

#### 1) H-E염색표본에서 대조군

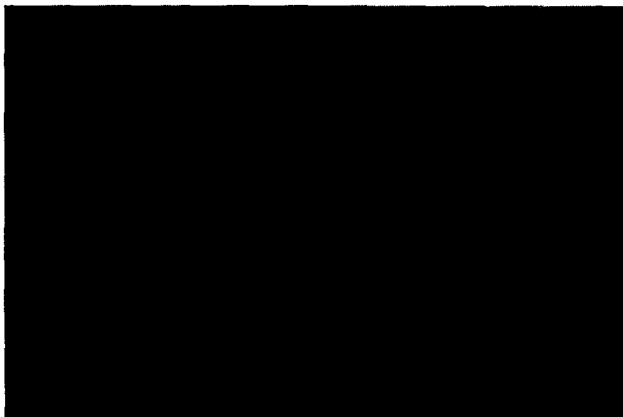
신장소체(renal corpuscle)는 여러 피질미로(cortical labyrinth) 사이에 분포하고 약 100 µm 정도의 구형이었으며, 사구체 주머니(Bowman's capsule)와 주머니내강으로 이루어져 있었다(Fig. 1). 사구체내 혈관사이조직(mesangium)은 잘 식별되지 않았으나 PAM 염색에서는 쉽게 식별할 수 있었다(Fig. 4). 세뇨관(renal tubules)은 근위곱슬세관이 원위곱슬세관보다 많이 관찰되었는데 근위곱슬세관의 상피는 단층원주상피로서 동근핵이 세포 중앙에 위치하고 있었고 세포질은 비교적 밝고 유리면쪽에는 많은 솔모양 가장자리(brush border)가 있었으며 이로 인하여 세관의 내벽이 매끈하지 못하였다(Fig. 1, 4, 7). 원위곱슬세관의 상피는 단층입방상피로서 근위곱슬세관의 내강에 비하여 매끈하고 넓게 관찰되었다(Fig. 1). PAS염색표본에서는 근위곱슬세관의 솔모양 가장자리가 PAS양성반응을 띠었다(Fig. 7).



**Fig. 1.** Light micrograph of the control group. One renal corpuscle is surrounded by proximal and distal tubules. Luminal surface of distal tubules (asterisk) is more smooth than that of proximal tubules. H-E stain,  $\times 400$ .



**Fig. 2.** Light micrograph of 1 day after carbofuran administration. Note that the glomerulus is shrunk as compared with that of control group (Fig. 1). Some vacuolizations (arrows) are shown in the epithelial cells of proximal tubules. H-E stain,  $\times 400$ .



**Fig. 3.** Light micrograph of 2 days after carbofuran+PB administration. The glomerulus and proximal tubules were similar to control groups (Fig. 1). H-E stain,  $\times 400$ .

2) Carbofuran 단독투여군

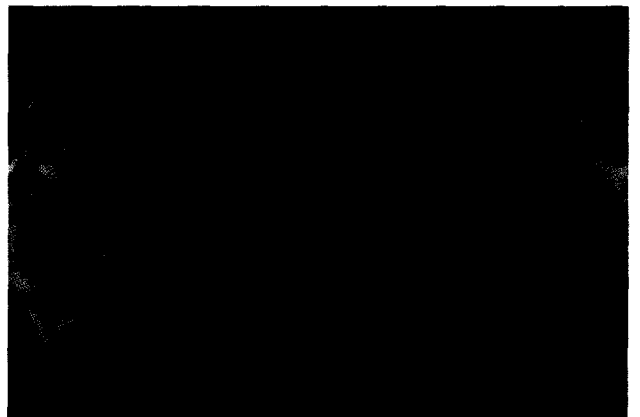
H-E염색표본에서 신장소체는 12시간째까지 대조군



**Fig. 4.** Light micrograph of control group. The mesangium in the glomerulus was dark brown (asterisks). PAM stain,  $\times 400$ .



**Fig. 5.** Light micrograph of 1 day after carbofuran administration. Note that the amount of the mesangium was increased in comparison with that of control group (Fig. 4). PAM stain,  $\times 400$ .



**Fig. 6.** Light micrograph of 2 days after carbofuran+PB administration. The mesangium in the glomerulus was similar to control group (Fig. 4). PAM stain,  $\times 400$ .

에 비해 특이한 조직변화를 관찰할 수 없었으나 24시간째에 이르러 신장소체가 다소 위축되고 모양이 변형

되었으며(Fig. 2), 48시간째에는 주머니 내강이 없거나 주머니 내강이 넓어지는 낭포성 변화등 심한 조직학적 변화가 관찰되었다.

PAM염색표본에서 24시간째의 신장소체는 혈관사이조직이 증가하였으며(Fig. 5), 시간이 경과함에 따라 더욱 증가하였다. PAS염색표본에서는 24시간째에 PAS양성반응을 거의 볼 수 없었다. 또한 carbofuran 투여 후 24시간째에 근위곱슬세관의 상피세포내에 약간의 공포가 관찰되었으며(Fig. 1), 시간이 경과할수록 핵응축 및 괴사된 상피세포가 나타났다.

3) Carbofuran과 PB병용 투여군

H-E염색표본에서 carbofuran과 PB를 동시에 투여한 후 30분째의 신장소체와 세뇨관은 carbofuran 단독투여 후 30분째의 소견과 유사하였으나 시간이 경과함에 따라 carbofuran 단독투여군에 비하여 재생현상이 뚜렷하



Fig. 7. Light micrograph of control group. Proximal tubules showed strongly PAS-positive brush borde. PAS stain, ×400.

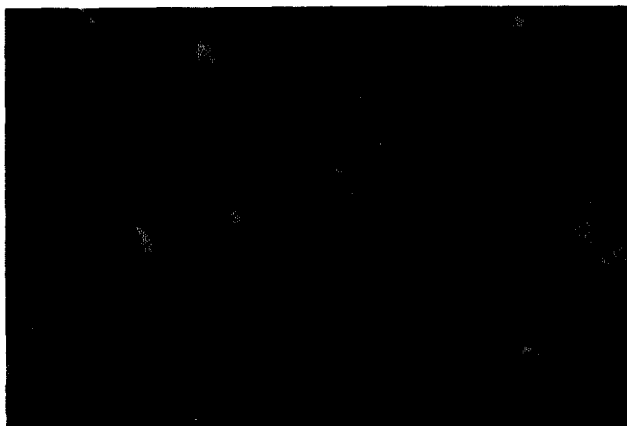


Fig. 8. Light micrograph of 1 day after carbofuran administration. The PAS-reactivity of brush border of renal tubules was extremely reduced as compared with that of control group (Fig. 7). PAS stain, ×400.

였으며 48시간째에는 대조군의 구조와 유사하였다(Fig. 3). PAM염색에서는 혈관사이조직이 48시간째에는 현저히 감소하여 대조군(Fig. 4)과 유사하였으며(Fig. 6), PAS염색에서도 곱슬세관의 솔모양가장자리가 48시간째에는 대조군과 유사하게 PAS양성반응을 나타냈다(Fig. 9).

2. 시험관내 실험결과

신장조직의 골격(framework)유지에 관여하는 세포인 NIH 3T3섬유모세포에 미치는 carbofuran의 세포독성과 세포독성에 대한 PB의 독성경감효과를 조사하기 위하여 MTT분석법과 NR분석법을 실시한 결과는 Table 1, 2와 같다.

1) 세포독성

배양 NIH 3T3 섬유모세포에 carbofuran을 량적으로 증가시키면서 세포독성을 측정 한 결과 IC<sub>50</sub>(inhibitory concentration)은 Table 1에 나타난 바와 같이 MTT<sub>50</sub>이



Fig. 9. Light micrograph of 2 days after carbofuran+PB administration. PAS-positive brush border of renal tubules were similar to control group (Fig. 7). PAS stain, ×400.

Table 1. The cytotoxicity of carbofuran on cultured NIH 3T3 fibroblast

Group (concentration)	NIH 3T3 fibroblast	
	MTT quantity	NR quantity
Control	1.731 ± 0.04(100)	1.922 ± 0.059(100)
Carbofuran		
1 μM	1.778 ± 0.05(102.7)	1.942 ± 0.046(101)
25 μM	1.772 ± 0.06(102.4)	1.879 ± 0.107(97.8)
50 μM	0.481 ± 0.07(28.8)***	1.985 ± 0.025(103.3)
100 μM	0.268 ± 0.05(15.5)***	0.407 ± 0.175(21.2)**
IC <sub>50</sub>	78 μM	82.5 μM

The date are mean ± S.D(%)  
Significantly different from the control : \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

**Table 2.** Antitoxic effects of phenobarbital sodium (PB) on cultured NIH 3T3 fibroblast

Group (concentration)	Phenobarbital sodium	
	MTT quantity	NR quantity
Control	1.70±0.066(100)	1.96±0.069(100)
IC <sub>50</sub>	1.19±0.003(69.9)	1.06±0.073(53.9)
IC <sub>50</sub> +PB		
1 μM	1.16±0.005(68.2)	0.97±0.123(49.6)
25 μM	1.08±0.003(63.5)	0.93±0.11(47.3)
50 μM	1.06±0.003(62.3)	1.28±0.312(65.1)
100 μM	1.41±0.034(82.9)**	1.52±0.365(77.5)**

The data are mean±S.D.(%)

\*\*Significantly different from the control: P<0.01

78 μM, NR<sub>50</sub>이 82.5 μM이었다.

## 2) PB의 독성경감효과

배양 NIH 3T3섬유모세포에 carbofuran IC<sub>50</sub>량과 PB를 량적으로 증가시키면서 PB의 독성경감효과를 측정 한 결과 Table 2에서 보는 바와같이 PB 100 μM농도에서 MTT분석법과 NR분석법 모두 유의한 독성경감효과를 나타냈다.

## IV. 고 찰

포유류의 신장은 피질이 대부분을 차지하고 영양혈액을 받아들이기 때문에 혈중의 독성물질이 신장에 들어오게 되면 대부분이 피질부에 유입되어 피질부의 구성요소인 신장소체 및 세뇨관에 독성을 나타내게 된다(Ross *et al.*, 1995). 신장은 기능적으로 다량의 물과 전해질을 여과하고 재흡수하는 특수한 생리적 기능 때문에 중금속이나 농약과 같은 신장독소가 다른 장기보다 쉽게 농축되며, 생체내 해독과정의 결과도 생성되는 전자친화제(electrophile) 및 유리기(free radical)등 중간체는 세포의 거대분자에 공유결합하여 정상적인 세포기능을 방해한다고 한다(Brenner와 Rector, 1986).

일반적으로 경구투여한 carbofuran의 65-75%는 24시간내에 뇨로 배출하게 되는데 이 과정에서 신장피질의 구성요소인 신장소체와 세뇨관은 심하게 손상을 받는 것으로 생각된다. Carbofuran단독투여 후 24시간째부터 신장의 육안적 소견은 짙은 갈색 또는 노란색으로 변색되었으며 신장피막에 점상출혈이 나타났는데 이는 각종 독성물질인 수은, 카드뮴, 비소 및 Tellurium등에 의하여 유발되는 급성세뇨관괴사에 관한 보고(Zager, 1988; Emeigh Hart *et al.*, 1991; 최 등, 1996)와 일치하는 소견으로 신장에 대한 carbofuran과 독성이 매우 빠르고 강하다는 것을 시사한다.

Carbofuran단독투여 후 H-E염색표본에서 24시간째에 신장소체가 다소 위축되고 모양이 변형되었는데 이는 사구체 모세혈관을 수축시키는 carbofuran의 독성에 따른 조직학적 변화로 생각되며, PAM염색에서는 혈관사이 조직이 증가하였는데 이는 혈관사이 세포가 혈관사이 기질을 합성하고 이물질을 포식하며, 자체적인 수축작용으로 사구체여과기능을 조절한다는 보고(Bulger and Dobyan, 1987)를 고려할때 생체의 방어기전의 하나로서 혈관사이 세포가 손상된 여과장벽을 복구하는 일종의 생체반응으로 생각된다. 최 등(1996)의 보고에서는 혈관사이조직이 실험 5-20일 군에서 증식이 더욱 뚜렷하다고 하였다.

Carbofuran과 PB병용투여 후 48시간째에의 H-E염색, PAM염색 및 PAS염색표본에서 carbofuran독성에 의한 신장소체와 세뇨관의 수축, 혈관사이조직의 감소 및 출가장자의 PAS양성반응의 회복등은 PB가 carbofuran의 독성을 경감시킨 결과라 생각되는데 그 기전은 신경계와 효소적 측면에서 고려할 수 있다.

Carbofuran은 AChE(acetylcholinesterase)를 target enzyme으로 하여 신경계의 자극전달 작용에 필수적인 acetylcholine의 가수분해에 관여하는 이 효소의 활성을 저해하므로써 치사에 이르게 하며(Reiner and Aldridge, 1967) glutathione S-transferase는 glutathione과 축매적 conjugation을 이루어 비극성 이물질을 친수성으로 하기 때문에 모든 생물에서 이물질의 대사적 해독에 중요한 해독효소로 알려져 있다(Boyland and Chasseaud, 1970). 또한 UDP-glucuronosyltransferase는 UDP-glucuronide의 6번 탄소를 절단시켜 mucopolysaccharide가 주요구성성분인 glucuronic acid를 생성하는데 이는 alcoholic과 phenolic화합물의 해독기능을 가지고 있고(Isselbacher, 1965), cytochrome P-450효소계는 독성물질의 해독에 가장 중요한 역할을 하는 해독효소인 monooxygenase 반응을 촉매하는 효소군으로서 흡수된 외부물질의 대사에 관여하는 microsome전자전달계의 최종산화 효소로 친유성 생리물질의 기질을 산화시켜 외부물질을 불활성화 물질로 대사시켜 무독화 시킨다고한다.

시험관내 실험인 MTT분석법과 NR분석법에 의한 결과에서도 carbofuran단독투여시 MTT<sub>50</sub>과 NR<sub>50</sub>이 각각 78 μM과 82.5 μM로 Borenfreund 등(1984)에 의한 독성판정 기준에 의하면 carbofuran은 고독성 살충제로 판정할 수 있는데 PB 100 μM농도를 동시에 투여하면 유의하게 독성을 경감시킬 수 있는 것으로 보아 시험관내에서도 PB는 효소적 측면에서 carbofuran을 무독화 시킬수 있는 것으로 추측된다.

## V. 요약

Carbofuran의 독성과 carbofuran의 독성에 대한 PB의 보상효과를 알아보기 위하여 carbofuran 또는 carbofuran과 PB를 조합으로 흰쥐에 경구투여한 후 경시적으로 신장의 병리조직학적 변화를 관찰하고 신장조직의 골격유지에 관여하는 섬유모세포에 적용하여 세포독성과 보상효과를 MTT분석법과 NR분석법으로 조사하였다. Carbofuran단독투여 후 24시간째에 신장소체는 위축되었고 신장사이조직은 증가하였으며 슬가장자리의 PAS양성반응은 감소하였으나 carbofuran과 PB조합 투여후 48시간째에는 대조군과 유사하게 정상으로 회복되었다. 배양 NIH 3T3섬유모세포에 대한 carbofuran의 세포독성은 MTT<sub>50</sub>과 NR<sub>50</sub>이 각각 78 µM과 82.5 µM로 고독성이었으며 PB 100 µM 투여군에서는 유의하게 세포독성이 경감되었다.

이상의 결과로 PB는 carbofuran의 독성을 경감시킬 수 있는 물질임을 알 수 있었다.

## 참고문헌

- Boyland, E. and Chasseaud, L.F. (1970): The role of glutathione and glutathione S-transferases in mercapturic acid biosynthesis. *Advan. Enzymol.* **32**, 172-192.
- Brenner, B.M. Rector F.C. (1986): The kidney, 3rd Ed. Philadelphia, Saunders. 1491-1532
- Borenfreund, E. and Puerner, J.A. (1984): A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assay (HTD/Nr-90). *J. Tissue Culture Meth.* **9**, 7-9.
- Bulger, R.E., Dobyas, D.C. (1983): Recent structure-function relationships in normal and injured mammalian kidneys. *Anat Rec* **205**, 1-11.
- Cueto, C. and Hayes, W.J. (1967): Effect of repeated administration of phenobarbital on the metabolism of dieldrin. *Ind. Med. Surg.* **36**, 546-551.
- Emigh Hart, S.G., Beierschmitt, W.P., Bartolon, J.B., Wyand, D.S., Khairallah, E.A., Cohen, S.D. (1991): Evidence against deacetylation and for cytochrome P450-mediated activation in acetaminophen-induced nephrotoxicity in the CD-1 mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **107**, 1-15.
- Goodman, L.S. and Gilman, A. (1980): Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 6th ed, 100-137 Macmillan.
- Hanna, M.A. and Attallah, Y.H. (1971): Penetration and biodegradation of carbaryl in susceptible and resistant strains of the Egyptian cotton leafworm. *J. Econ. Entomol.*, **64**, 1391.
- Hayoka, T. and Dauterman, W.C. (1983): The effect of phenobarbital induction on glutathione conjugation of diazinon in susceptible and resistant house flies. *Pestic. Biochem. Physiol.* **19**, 344-349.
- Isselbacher, K.J. (1965): Enzymatic Mechanism of hormone metabolism, II. Mechanism of hormonal glucuronide formation. *Recent Prog. Horm. Res.* **12**, 134-146.
- Knaak, J.B., Tallant, M.J., Bartley, W.J. and Sullivan, L.J. (1965): The metabolism of carbaryl in the rat, guinea pig and man. *J. Agric. Food Chem.*, **13**, 537.
- Ronald, K.J. and Dorough, H.W. (1976a): Carbamate insecticides: Chemistry, biochemistry and toxicology. CRS press, p. 41-44.
- Ronald, K.J. and Dorough, H.W. (1976b): Carbamate Insecticides: chemistry, Biochemistry. and Toxicology. CRC press, 59.
- Lidman, U., Forlin, L., Molander, O. and Axelson, G. (1976): Induction of the drug metabolizing system in rainbow trout(salmo gairdneri) liver by polychlorinated biphenyls(PCB). *Acta Pharmacol. Toxicol.* **39**, 262-272.
- Mosman T. (1983): Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.* **65**, 55-63.
- Reiner, E. and Aldridge, W.N. (1967): Effect of PH on inhibition and spontaneous reactivation of acetylcholinesterase treated with series of phosphoric acids and of carbamic acids. *J. Biochem.* **105**, 171-179.
- Ross, M.H., Romrell, L.J. and Kaye, G.I. (1995): Histology: A text and Atlas, 3rd Ed. Baltimore. Williams & Wilkins, 558-594.
- Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Visterca, D., Warren, J.T., Bokesch, H., Kenny, S. and Boyd, M.R. (1988): New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl Cancer Inst.* **82**(13), 107-112.
- Szeicz, F.M., Plapp, F.W. and Vinson, S.B. (1973): Tobacco budworm: penetration of several insecticides into the larvae. *J. Econ. Entomol.*, **66**, 9.
- Zager, R.A. (1988): A focus of tissue necrosis increases renal susceptibility to gentamicin administration. *Kid Int* **33**, 84-90.
- 류종국, 이규승 (1990): 돼지 간중의 Mondoxygenase가 Diazinon의 분해에 미치는 영향. 한국환 경농학회지 **9**(2), 153.
- 양재철, 신진섭, 이해근 (1986): 수중농약성분이 어류독성에 미치는 영향. 시험연구보고서. 농촌진흥청 농약연구소, 213.

이성규, 박철원, 노정구 (1984): 농약의 급성 어독성과 처리방법에 따른 독성의 변화. 한국환경농학회지, **3**(1), 45.  
임요섭, 한성수 (1995): 농약에 의한 참잉어 및 이스라엘잉어의 급성독성 비교. 한국환경농학회지, **14**(2), 163.  
최월봉, 조승목, 정영길, 최창도 (1996): Tellurium이 흰쥐 신장에 미치는 영향과 Selenium의 보상효과에 대한 미

세구조적 연구, 대한해부학회지, **29**(2), 201-220.  
한성수, 임요섭, 정재훈 (1996): 살충제 Carbofuran과 Phenobarbital sodium 및 3-Methylcholanthrene이 이스라엘잉어의 효소활성에 미치는 영향. 한국농화학회지, **39**(1), 77-83.