

## 연속적인 Cu투여가 Rat의 정소중량, 정자수, 활력, 장기 중량 및 조직변화에 미치는 영향

김 상 근<sup>†</sup> · 이 명 현<sup>‡</sup>  
충남대학교 수의과대학<sup>†</sup>

### Studies on the Effects of Consecutive Copper-Administration on Testis Weights, No. of Sperm, Motility and Organ Weights and Histological Changes in Rats

Kim, S. K.<sup>†</sup> and M. H. Lee<sup>‡</sup>

College of Veterinary Medicine, Chungnam National University<sup>†</sup>

#### ABSTRACT

This study was performed to elucidate the effects of copper poisoning on the reproductive organ of rats. After consecutive oral administrations of copper sulfate, the weights of testis, the numbers and motilities of sperms, organ weights and histological changes of testes were compared between control and experimental groups.

1. Testis weights of 1,000, 2,000 or 4,000 ppm/kg of copper sulfate-administrated rats gradually decreased compared with control group, and the values no significant changes.
2. The sperm numbers of 1,000, 2,000 or 4,000 ppm/kg of copper sulfate-administrated rats were lowered in dose dependent manners than those of control group's and the values no significant changes.
3. The motilities sperms of 1,000, 2,000 or 4,000 ppm/kg of copper sulfate-administrated rats decreased significantly in dose-dependent manners compared with those of control group's.
4. The weights of livers and kidneys of 1,000, 2,000 or 4,000 ppm/kg of copper sulfate-administration rats decreased or increased.
5. Necrosis of hepatocytes around the central veins and infiltrations of fine granules-harboring macrophages in periportal and interstitial tissues were found out in the livers of copper sulfate-administrated rats. The Bowman's capsule and tubules of kidneys were filled with hyaline material.

#### I. 서 론

사료첨가제로 널리 사용되어온 Cu제제는 간흡

충증의 중간 숙주인 달팽이의 박멸과 면, 산양의 부제병과 기생충성 위염 치료 및 돼지의 성장촉진제로서 사료에 첨가되기도 한다. Cu중독은 면양 (Carol 등, 1986; Ganter 등, 1991; Maiorka 등, 1998),

<sup>†</sup> Corresponding author : College of Vet. Med., Chungnam National University, Tel : (042)821-6754

E-mail : kskkim@cuvic.cnu.ac.kr

<sup>‡</sup> 국립수의과학검역원(National Veterinary Research and Quarantine Service)

송아지(Sullivan 등, 1991), 닭(Gilbert 등, 1996), 개(Brewer 등, 1992) 등의 동물종에서 보고되었지만 간내의 Cu농도는 반추수와 오리중에 있어서 생리적으로 가장 높은 농도를 가지고 있는 것으로 알려져 있다.

Cu중독증은 간세포내에 Cu가 축적되어 야기되는 질환으로 사람, 개, 면양 및 기타 여러 종류의 동물에서 발생되고 있다. Cu중독은 Cu대사 장애를 초래하는 열성 유전질환으로 발생되며 면양을 제외한 대부분의 동물종에서는 과량을 급성으로 섭취함으로써 발생하는 것으로 알려져 있다(Fromer, 1974; Humphreys, 1978; Johnson 등, 1980; Jelly, 1992). 그러나 면양은 간세포의 Cu 포함능력이 뛰어나 다른 동물에서는 간손상을 초래하지 않는 정도의 섭취용량에서도 Cu중독이 흔하게 발생된다(Jelly, 1992; Kumaratilake와 Howell, 1989). 면양에서의 Cu 중독증은 만성적인 경과를 취하나 황달, 혈색소뇨 및 급성 간부전 등의 특징적인 임상증상이 급성으로 발생되고 임상증상이 발생된 후 수일 내에 폐사되는 질환으로 알려져 있다(Fromer, 1974; Johnson 등, 1980). Molybdenum은 장관과 간장에서 충분한 황산염의 존재하에 Cu와 결합하여 Cu를 불활성화시킴으로서 간세포내로 이동하는 것을 억제하므로 면양의 만성 Cu중독증의 예방 및 치료에 이용되고 있는데 면양은 사료중 molybdenum의 농도가 1 ppm이하로 매우 낮은 경우 사료중 Cu함량이 8~11 ppm이하로도 만성중독증이 발생한다고 한다(Suttle과 Held, 1983).

일반적으로 면양에서 간장내 Cu함량이 200~300 ppm농도까지는 간세포의 손상이 초래되지 않으나 그이상이 되면 용해소체의 막손상이 일어나고 용해소체로부터 유리된 효소의 작용으로 세포질소기관이 손상되어 간세포의 고사하게 되나, 100 ppm 이상의 경우에도 간세포의 재생이 활발하여 손상된 간세포에서 유리되는 Cu를 포획하게 되면 임상증상을 나타내지 않는다고 한다(Jelly, 1992). 그러나, Cu중독이 정소중량, 정자수 및 정자활력 등에 미치는 영향에 관한 연구보고는 찾아볼 수 없었다.

이에, 본 연구는 Cu중독이 rat의 번식생리 현상

에 미치는 영향을 구명하고자 연속적인 Cu투여가 고환의 중량, 정자수, 활력, 장기중량 및 조직학적 변화를 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시동물

본 시험에 사용된 동물은 Sprague-Dawley rat 200수를 대한실험동물센터로부터 구입 공시하여 2주간 예비사육 기간을 거쳐 본 시험에 이용하였다. 시험동물의 사육은 실험동물사료(제일사료)와 tap water를 자유급식케 하고 12시간의 명암주기를 교대로 유지하였다.

### 2. Cu의 투여

Cu를 1,000~4,000 ppm/kg의 수준으로 약 6~8주간 투여했을 때 투여 4주부터 간 및 신장내 Cu수준이 급격히 증가하여 Cu중독증을 나타냈다는 Hayward 등(1985)의 보고에 준하여 본 시험에서는 수용성인 황산Cu(CuSO<sub>4</sub>, Sigma, USA)를 증류수에 1,000, 2,000, 4,000 ppm/kg으로 음수를 통해 8주간 투여하였다.

### 3. 시료의 채취 및 분석

#### 1) 정소중량의 측정

정소를 적출하여 지방조직을 잘라내고 혈액을 여과지로 닦아낸 후 전자저울(Shimadzu, Japan)을 이용하여 중량을 측정후 10% formalin용액에 침지하여 조직검사에 이용하였다.

#### 2) 정자수, 정자활력의 검사

좌, 우 정소상체를 적출하여 안과가위로 세절한 다음 M<sub>2</sub> 배양액 drop에 mineral oil이 피복되어 있는 petri dish에 옮긴 후 CO<sub>2</sub> 배양기에서 1시간 배양 후 swim-up된 정자를 sperm quality analyzer(SQA-IIB, Israel)를 이용하여 정자수, 활력 등의 정자지수를 측정하였다.

#### 3) 각 장기중량 측정

간, 비장, 양측 신장 및 정소를 적출하여 지방조직을 잘라내고 혈액을 여과지로 닦아낸 후 전자저울을 이용하여 중량을 측정한 후 10% formalin용액에 침지하여 조직검사에 이용하였다.

#### 4) 조직학적 검사

각 장기조직을 ethanol로 탈수하고 통상의 방법에 따라 paraffin에 포매한 다음 포매된 조직은 microtome으로 4~5  $\mu\text{m}$ 의 절편을 만들고 Hematoxylin-Eosin 염색을 한 후 광학현미경(Nikon, Japan)으로 관찰하였다.

#### 5) 통계처리

시험결과에 대한 각 군간의 통계학적 유의성은 SAS package의 General Linears Model(GLM) procedures(SAS Institute, 1996)를 이용하여 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 구리의 연속투여가 생체에 미치는 영향

##### 1) 정소중량

Cu의 연속투여가 생체에 미치는 영향을 구명하기 위하여 rat에 황산Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 각각 투여했을 때 정소중량은 Fig. 1과 같다.

황산 Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 정소중량은 정상대조군에 비해 약간 감소하는 경향을 나타냈으나 유의한 변화는 인정되지 않았다. Cu중독에 가장 민감한 동물은 반추수로서 사료중에 Cu함량이 30~200 ppm 정도이거나 molybdenum의 함량이 매우 낮은 때에는 더욱 낮은 농도에서 중독증상이 나타난다고 한다(Haywood와 Leoughran, 1985). 그러나, rat와 같은 포유류는 200~500 ppm정도에서는 내성을 나타내나, 식이중 Cu 수준이 2000~4000 ppm으로 조절하여 투여하면 4주부터 전형적인 Cu중독증을 나타내는데 급성중독은 식욕부진, 의기소침, 탈수, 복수 및 황달이며 호흡곤란, 경련 및 큰소리의 울음 등의 임상증상을 나타내다가 수일 후 폐사하게 된다고

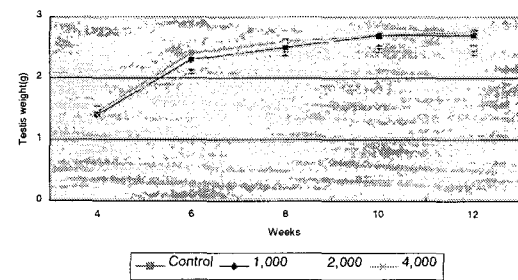


Fig. 1. Effect of consecutive sulfuric copper-administration on testis weights in rats.

한다(Ismael 등, 1971, 1972; Carol 등, 1986).

##### 2) 정자수

Cu의 연속투여가 생체에 미치는 영향을 구명하기 위하여 rat에 황산Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 각각 투여했을 때 정자수의 변동은 Fig. 2와 같다.

황산 Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 정자수의 변동은 정상대조군에 비해 약간 감소하는 경향을 나타냈으나 유의한 변화는 인정되지 않았다. 황산 Cu 투여군은 대조군에 비해 증체량이 정자수는 약간 감소하였고 투여량이 증가할수록 현저하게 감소하였다. 전해질이 정자에 미치는 영향은 K는 정자가 정상적인 기능을 유지하기 위하여 꼭 필요하며, 희석액 중에는 K과 Mg이 함유되어야 한다. 고농도의 Ca과 P는 정자의 운동성을 억제하며, Cu, Fe Zn 등과 같은 중금속이온은 정자에 대하여 유해하다는 Adam(1999)의 결과와도 일치하였다.

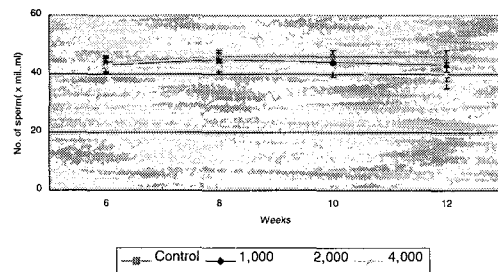


Fig. 2. Effect of consecutive sulfuric copper-administration on no. of sperm in rats.

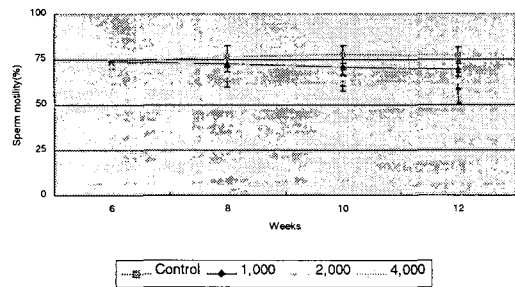


Fig. 3. Effect of consecutive sulfuric copper-administration on sperm motility in rats( $p < 0.05$ ).

### 3) 정자활력

Cu의 연속투여가 생체에 미치는 영향을 구명하기 위하여 rat에 황산Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 각각 투여했을 때 정자활력의 변동은 Fig. 3과 같다.

황산 Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 정자의 활력은 정상대조군에 비해 점차 감소하는 경향을 나타냈고 용량이 증가할수록 활력은 유의한 감소경향을 나타냈다. 식이중 Cu수준이 2000~4000 ppm으로 조절하여 투여하면 4주부터 전형적인 Cu중독증을 나타내며, Cu 중독시 동물의 정자수와 활력이 유의하게 변화하였다고 한 Adam(1999)의 결과와도 일치하였다.

### 4) 장기중량

Cu의 연속투여가 생체에 미치는 영향을 구명하기 위하여 rat에 황산 Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 각각 투여했을 때 간 및 신장중량의 변동은 Fig. 4와 같다.

황산 Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에 투여했을 때 간 및 신장중량의 변동에 있어서 간중량은 정상대조군에 비해 약간 감소하는 경향을 나타냈고 신장중량 역시 정상대조군에 비해 감소하는 경향을 나타냈다. 시험동물은 다르지만 면양에서 간장내 Cu함량이 200~300 ppm농도까지는 간세포의 손상이 초래되지 않으나 그 이상이 되면 용해소체의 막손상이 일어나고 용해소체로부터 유리된 효소의 작용으로 세포질소기관이 손상되어 간

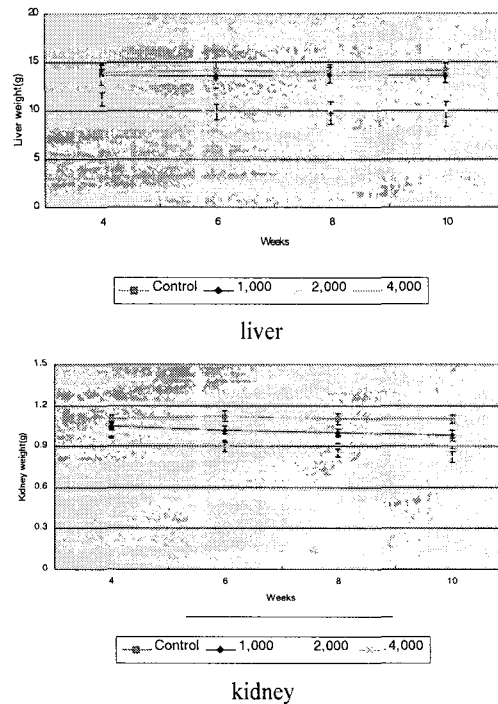


Fig. 4. Effect of consecutive sulfuric copper-administration on changes of liver and kidney weights in rats.

세포의 고사하게 되나, 100 ppm 이상의 경우에도 간세포의 재생이 활발하여 손상된 간세포에서 유리되는 Cu를 포획하게 되면 임상증상을 나타내지 않는다고 한다(Jelly, 1992).

### 5) 조직상의 변화

Cu의 연속투여가 생체에 미치는 영향을 구명하기 위하여 rat에 황산 Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 각각 투여했을 때 조직학적 변화는 Fig. 5와 같다.

조직학적 관찰조건은 간세포의 중심정맥 주위성 괴사와 간문맥관 간질에 미세한 과립을 함유한 대식세포의 침윤이 관찰되었고, 신장에서는 사구체낭 및 세뇨관내 균질한 초자물질이 충만이 관찰되었다. 이러한 결과는 서 등(1998)이 면양의 Cu만성중독증상인 간세포의 중심정맥 주위성 괴사, 호중구의 침윤, 담즙정체 및 간문맥관 간질에 미세한

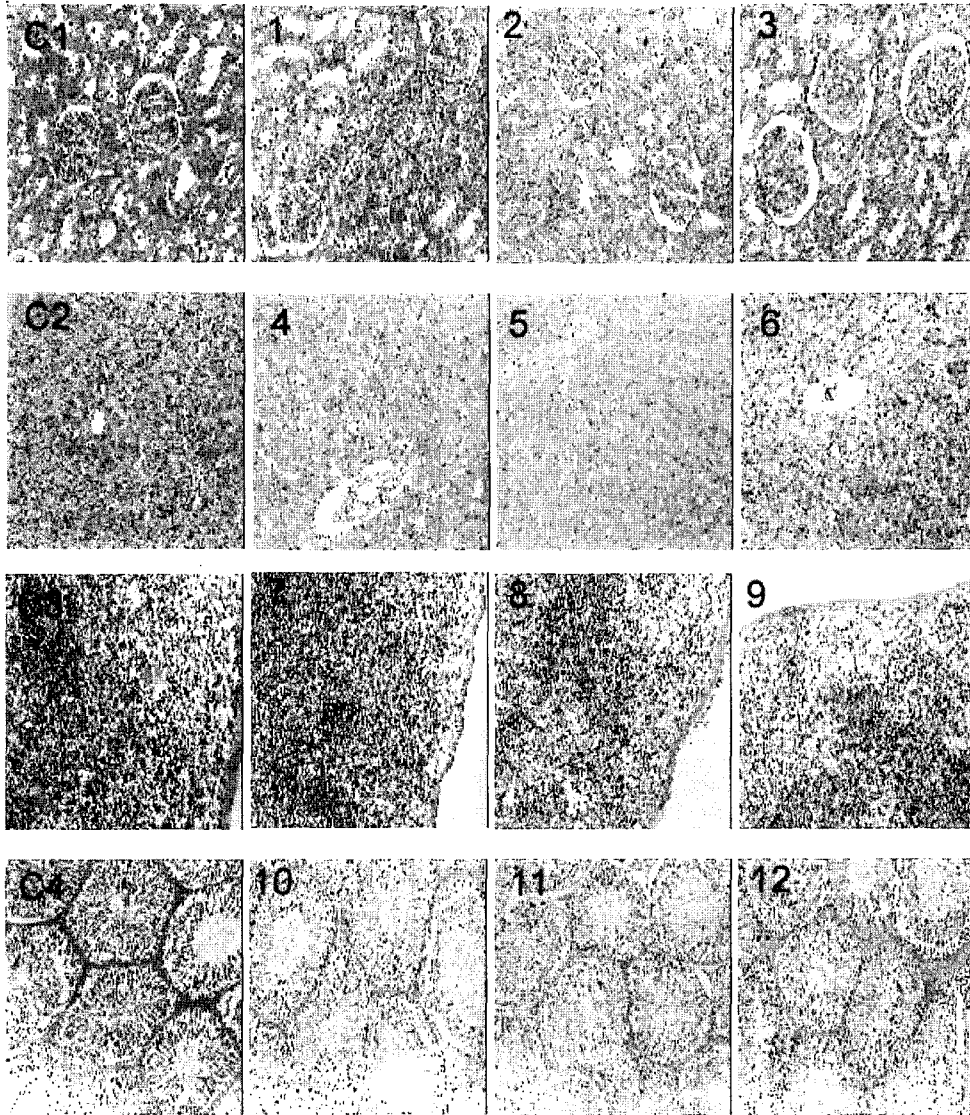


Fig. C1. Kidney of control rat( $\times 400$ )  
 Fig. 1, 2, 3. Kidney of 1,000, 2,000 and 4,000ppm/kg dose of sulphric copper-administrated rat.  
 Fig. C2. Liver of control rat( $\times 400$ )  
 Fig. 4, 5, 6. Liver of 1,000, 2,000 and 4,000ppm/kg dose of sulphric copper-administrated rat.  
 Fig. C3. Spleen of control rat( $\times 400$ )  
 Fig. 7, 8, 9. Spleen of 1,000, 2,000 and 4,000ppm/kg dose of sulphric copper-administrated rat.  
 Fig. C4. Testis of control rat( $\times 200$ )  
 Fig. 10, 11, 12. Testis of 1,000, 2,000 and 4,000ppm/kg dose of sulphric copper-administrated rat.

과립을 함유한 대식세포의 침윤과 신장의 사구체  
 낭 및 세뇨관내 초자물질의 축만 등이 관찰되었다  
 고 한 보고와 유사하였다.

#### IV. 적 요

본 연구는 Cu중독이 rat의 생리현상에 미치는  
 영향을 구명하고자 연속적인 Cu투여가 정소의 중  
 량, 정자수, 활력, 장기증량 및 조직학적 변화를 조  
 사하였다.

1. 황산Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에  
 투여했을 때 정소중량은 정상대조군에 비해 점  
 차 감소하였으나 유의한 변화는 인정되지 않았  
 다.
2. 황산Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에  
 투여했을 때 정자수는 정상대조군에 비해 점차  
 감소하였으나 유의한 변화는 인정되지 않았다.
3. 황산Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에  
 투여했을 때 정자의 활력은 정상대조군에 비해  
 점차 감소하였고 용량이 증가할수록 정자의 활  
 력은 유의한 감소를 나타냈다.
4. 황산Cu 1,000, 2,000 및 4,000 ppm/kg을 rat에  
 투여했을 때 간 및 신장의 증량은 정상대조군에  
 비해 점차 증가하거나 감소하였다.
5. 조직학적 관찰소견은 간세포의 중심정맥 주위  
 성 괴사와 간문맥관 간질에 미세한 과립을 함유  
 한 대식세포의 침윤이 관찰되었고, 신장에서는  
 사구체낭 및 세뇨관내 균질한 초자물질의 축만  
 이 관찰되었다.

#### V. 인용문헌

1. Adam, S. E. 1999. Experimental *Rhazya stricta*  
 toxicosis in rats. *Vet. Hum. Toxicol.*, 41(1):5-8.
2. Brewer, G. J., Dick, R. D., Schall, W., Yuzba-  
 siyan-Gurkan, V., Mullaney, T. P., Pace, C.,  
 Lindgren, J., Thomas, M. and Padgett, G. 1992.  
 Use of zinc acetate to treat copper toxicosis in  
 dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 15:201(4):564  
 -568.

3. Carol Woolliams, N. F., Suttle, J. A., Wool-  
 liams, D. G., Jones and Wiener, G. 1986.  
 Studies on lambs from lines genetically selected  
 for low and high copper status. *J. of Anim.*  
*Prod.* 43:293-301.
4. Frommer, D. J. 1974. Defective biliary excre-  
 tion of copper of Wilson's disease. *Gut.*, 15:125  
 -129.
5. Ganter, M., Bickhardt, K., Stockhofe, N. and  
 Kamphues, J. 1991. The diagnostic significance  
 of different blood parameters and liver biopsy  
 in chronic copper poisoning of sheep. *Tierarztl.*  
*Prax.*, 19(2):141-146.
6. Gilbert, R. W., Sander, J. E. and Brown, T. P.  
 1996. Copper sulfate toxicosis in commercial  
 laying hens. *Avian Dis.*, 40(1):236-239.
7. Haywood, S. and Loughran, M. 1985. Copper  
 toxicosis and tolerance in the rat. II. Tolerance  
 a liver protective adaptation. *Liver*, 5(5):267-  
 275.
8. Haywood, S., Trafford, J. and Loughran, M.  
 1985. Copper toxicosis and tolerance in the rat  
 ; IV. Renal tubular excretion of copper. *Br. J.*  
*Pathol.*, 66(6): 699-707.
9. Humphreys, D. J. 1978. A review of recent  
 trends in animal poisoning. *Br. Vet. J.*, 134:128  
 -145.
10. Ismael, J., Gopinath, C. and Howell, J. McC.  
 1971. Experimental chronic copper toxicity in  
 sheep : Histological and histochemical changes  
 during the development of lesions in the liver.  
*Res. Vet. Sci.*, 13:22-29.
11. Ismael, J., Gopinath, C. and Howell, J. McC.  
 1972. Experimental chronic copper toxicity in  
 sheep : Biochemical and haematological studies  
 during the development of lesions in the liver.  
*Res. Vet. Sci.*, 13:22-29.
12. Johnson, G. F., Stemlieb, L., Twedt, D. C.,  
 Grushoff, P. S. and Scheinberg, I. H. 1980.  
 Inheritance of the copper toxicosis of Bedling-

- ton terriers. Amer. J. Vet. Res., 41:1865-1866.
13. Jelly, W. R. 1992. The liver and biliary system : In Pathology of domestic animals, 4th ed. San Diego. Academic Press. pp:398-400.
  14. Kumaratilake, J. S. and Howell, J. McC. 1989. Lysosomes in the pathogenesis of liver injury in chronic copper poisoned sheep : An ultrastructural and morphometric study. J. Comp. Path., 100: 381-390.
  15. Maiorka, P. C., Massoco, C. O., de Almeida, S. D., Forniak, S. L. and Dagli, M. L. 1998. Copper toxicosis in sheep : a case report. Vet. Hum. Toxicol., 40(2):99-100.
  16. Sullivan, J. M., Janovitz, E. B. and Robinsonm F. R. 1991. Copper toxicosis in veal calves. J. Vet. Diagn. Invest., 3(2):161-164.
  17. Suttle, N. F. and Held, A. C. 1983. The effects of dietary supplements of thiomolybdates on copper and molybdenum metabolism in sheep. J. Comp. Pahtol., 93:379-387.
  18. 서일복, 권오경, 김대용. 1998. 국내에서 발생한 면양의 만성 동중독증 예의 관찰. 한국임상수의학회지, 15(2):455-459.  
(접수일자 : 2001. 2. 5. / 채택일자 : 2001. 3. 9.)