

# O,O-dimethyl O-(2,2-dichlorovinyl) phosphate (DDVP)가 신장에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

한양대학교 의과대학 병리학교실

우 교 석 · 김 종 만 · 구 국 회

## 서 론

근래 농목립 전반에 대한 농약의 수요가 현저하게 증가함에 따라 이로인한 중독이 사회적으로 큰 문제가 되고 있는 것은 주지의 사실로서, 인축에 격심한 해독을 주는 일부 농약의 시판이 금지되고 있는 실정이다.

DDVP는 살충력이 강하나 휘발, 분해되기 쉬우며 축적성이 적어 흔히 농약으로 사용되고 있는바 인체에 주는 독성이 parathion보다 매우 적으며(1/10) 중독 증상의 발생 및 소실이 빠르다고 한다<sup>1)</sup>.

일반적으로 DDVP 중독은 농목자에 많은 뿐만 아니라 왕왕 이로인한 공해, 식품 오염 및 자타외에 인한 음복으로 일어나는 것을 볼 수 있어 인축에 주는 피해가 적지 않다<sup>2,3)</sup>.

DDVP는 주로 피부, 결막, 호흡기 및 소화기를 통해 흡수되며 비교적 용이하게 가수분해됨으로 생체에 미치는 영향은 비교적 적지만 급성 및 만성중독작용으로 치명적일수도 있으며 타유기인제제에서와 같이 신경계 및 근육에서 cholinesterase(chE)를 억제하여 acetylcholine이 축적되는 "cholinergic effect"를 나타내는 것을 볼 수 있다<sup>4~7)</sup>.

근자 유기인제중독에 관하여 임상적으로는 비교적 많이 관찰기술한바 있으나 혈액학적 및 해부병리학적 연구보고는 극히 드물뿐만 아니라 단면적이어서 그 병변에 대하여서는 아직 정설을 보지 못하고 있다.

그러므로 저자는 우리나라에서 농약으로서 상용되고 있는 유기인제 농약중 특히 많이 사용되는 DDVP를 택하여 우선 신장에 미치는 영향에 대하여 혈액학적 및

형태학적으로 규명하기 위하여 실시한 본 실험결과를 보고하는 바이다.

## 실험재료 및 방법

### 1) 실험재료

실험동물은 200 gm 내외의 건강한 Sprague-Dawley (SD)계 백서를 택하여 실험전 2주간 동일조건하에서 일정한 기본사료로 조정사육한 후 실험에 사용하였으며, 기본사료로는 고휘사료(군산 제일사료 주식회사제, 조단백질 22%, 조지방 3%, 조섬유 6%, 조회분 9%, Ca 0.6%, P 0.4%, 가소화양분 73%)를 1일량 15~20 gm 씩을 급여하였다.

실험에 사용된 농약은 시판 유기인제중 DDVP 유제(대한농약 주식회사)를 사용하였다.

### 2) 실험방법

실험동물은 정상대조군과 DDVP 투여군으로 나누었으며 DDVP 투여군의 동물수는 60마리로 하였다. 정상대조군에는 실험기간중 기본사료만을 투여하였으며 DDVP 투여군은 2군으로 나누어 한군에는 치사량(LD<sub>50</sub>)의 1/2<sup>80</sup>를 1일 1회, 다른 한군에는 LD<sub>50</sub>의 1/4을 1일 1회씩 3회 삼관법으로 투여하였다.

이상 실험동물을 실험기간중 매일 상태를 관찰하면서 실험적전과 실험 8, 24, 72, 120, 168시간만에 체중을 측정하고, 채혈하여 혈청을 분리한 다음 효소측정시약(일본, Eiken Chemical Co., LTD)을 이용하여 혈청 chE, blood urea nitrogen(BUN) 및 creatinine 양을 spectronic 21로 측정하였다.

도살직후에 신장을 적출, 일정기간 조직을 10% formalin 액에 고정된 다음 수세, 탈수, 투명, 칩투 등

접 수 : 1985년 4월 27일

\* 대한병리학회 제 9차 춘계학술대회에서 발표하였음.

Table 1. Changes of BUN(mg/dl)

Group(No.)	Hr's					
	initial	8	24	72	120	168
Control(30)	21.4±8.99	19.4±10.14	20.1±13.28	19.7±11.49	18.4±9.47	20.3±12.93
DDVP(60)						
1 time	22.4±13.23	22.1±13.42	27.8±12.50	26.5±10.46	25.5±10.67	21.6±14.07
3 times	20.3±9.49	27.6±13.81	28.6±13.48	24.3±11.47	28.3±10.48	24.7±14.05
	Mean±S.D.					

Table 2. Changes of serum creatinine(mg/dl)

Group(No.)	Hr's					
	initial	8	24	72	120	168
Control(30)	0.92±0.44	0.85±0.39	1.07±0.37	0.89±0.41	0.74±0.29	0.96±0.46
DDVP(60)						
1 time	0.83±0.52	1.49±0.67	1.58±0.70	1.32±0.54	1.07±0.79	1.24±0.65
3 times	1.09±0.68	1.65±0.64	1.41±0.48	1.50±0.51	1.31±0.38	1.18±0.46
	Mean±S.D.					

Table 3. Changes of serum cholinesterase(IU/l)

Group(No.)	Hr's					
	initial	8	24	72	120	168
Control(30)	83.0±33.2	101.1±43.9	95.5±47.0	87.4±38.8	80.7±48.6	91.8±44.4
DDVP(60)						
1 time	86.3±44.1	26.7±15.8	38.0±17.6	33.2±14.2	30.1±14.8	28.4±17.6
3 times	98.5±48.0	28.6±17.5	33.0±22.5	28.9±16.77	37.2±29.71	31.6±15.11
	Mean±S.D.					

의 과정을 거쳐, 박절하여 hematoxylin & eosin(H&E) 복염색과 periodic acid-Schiff(PAS)염색을 실시하여 경검하였다.

한편 전자현미경적 소견을 보기 위해 신장조직소편을 2.5% glutaraldehyde로 전고정 한 다음, phosphate buffer로 수세, 1% OsO<sub>4</sub>로 후고정, 탈수, epoxy resin으로 포매한 후 ultramicrotom으로 세절, 각 세절을 uranyl acetate & lead citrate로 복염색하여 전자현미경 (Hitachi 600, 일본)으로 관찰하였다.

## 실험 성적

### A) 체중의 변동

실험기간동안 백서체중은 현저한 변동을 보이지 않았으며 또한 실험군별차이 역시 근소하였다.

### B) BUN량의 변동(Table 1)

실험직전과 실험 8, 24, 72, 120, 168시간만에 혈액을

채취하여 측정된 BUN량은 정상대조군에서는 전실험기간을 통하여 실험기간에 관계없이 정상범위의 BUN량(18.4~21.4 mg/dl)을 보였으며 DDVP투여군에서는 1회투여군에서 BUN량이 실험 24시간에 다소 증가(27.8 mg/dl)하였으나 실험 72시간부터는 감소하여 실험 168시간에 정상 BUN량을 보였고 3회투여군은 BUN량이 실험 8, 24시간에 증가(27.6 mg/dl, 28.6 mg/dl)하였으며 실험 168시간에 다소 감소(24.7 mg/dl)하였으나 정상 BUN량보다는 많았다.

### C) 혈청 creatinine량의 변동(Table 2)

실험직전과 실험 8, 24, 72, 120, 168시간만에 혈액을 채취하여 측정된 혈청 creatinine량은 정상대조군에서는 전실험기간을 통하여 실험기간에 관계없이 정상범위의 creatinine량(0.74~1.07 mg/dl)을 보였으나 DDVP투여군에서는 1회투여군에서 혈청 creatinine량이 실험 24시간에 다소증가(1.58 mg/dl)하였으며 실험

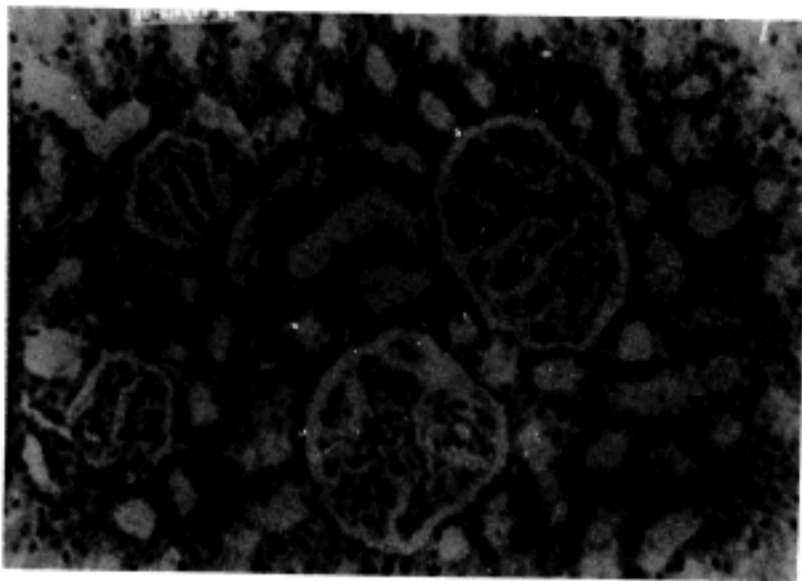


Fig. 1. Control group  
Relatively normal cortex of the kidney.  
H&E, ×100

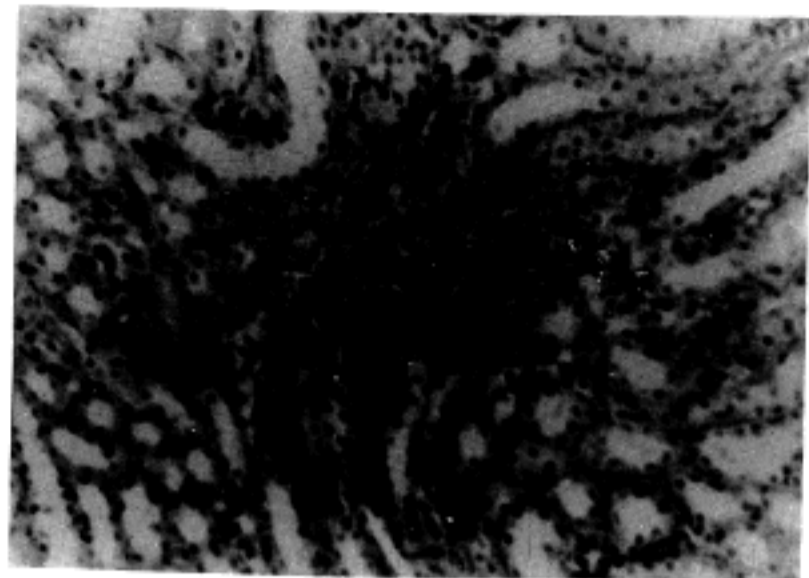


Fig. 3. DDVP administered group(a quarter of LD<sub>50</sub> 3 times for 3 days).  
Congestion, hemorrhage and swelling of the tubular cells. H&E, ×100

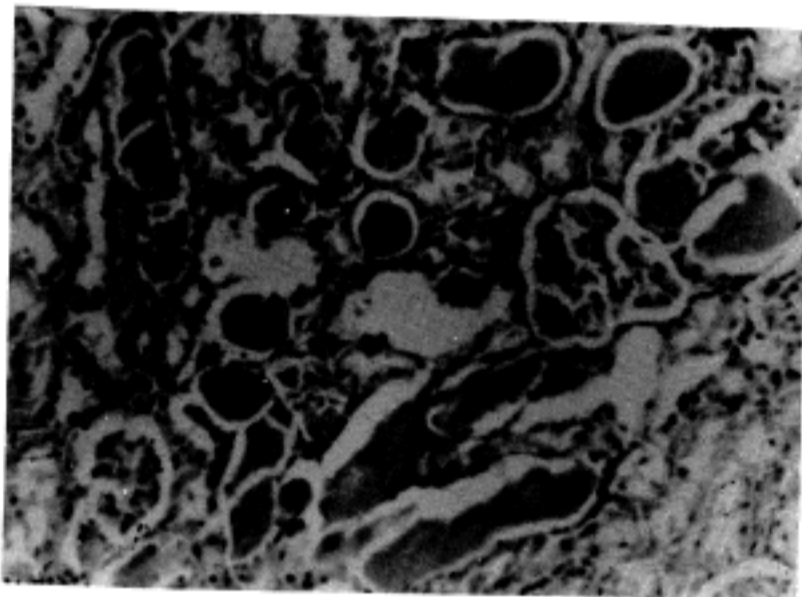


Fig. 2. DDVP administered group(a half of LD<sub>50</sub> 1 time for 1 day).  
Swelling of tubular cells and hyaline cast in the convoluted tubules. H&E, ×100

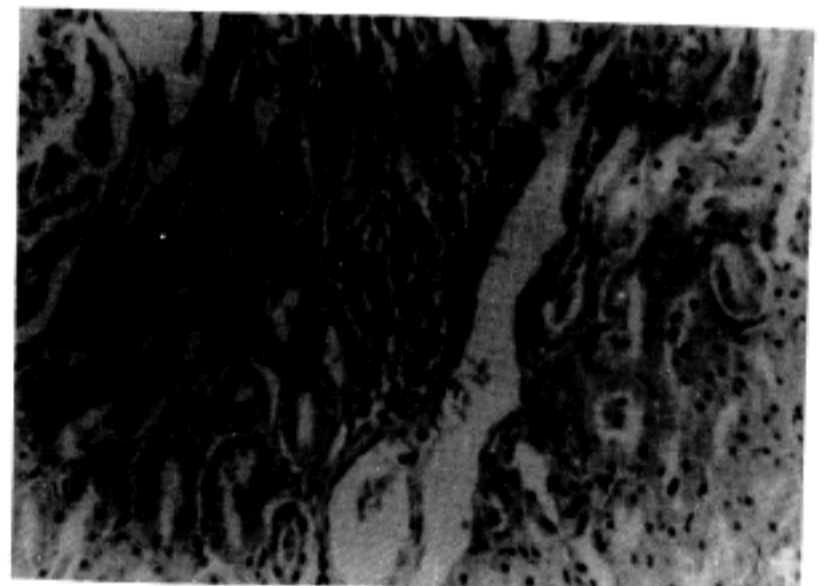


Fig. 4. DDVP administered group(a quarter of LD<sub>50</sub> 3 times for 3 days).  
Collection of lymphocytes, mononuclear cells in the stroma. H&E, ×100

72시간부터는 감소하였으나 정상혈청 creatinine 량보다는 많았다. 3회투여군은 혈청 creatinine 량이 실험 8, 24 시간에 다소 증가(1.65 mg/dl, 1.41 mg/dl)하였으나 실험 72시간부터 감소하였으며 실험 168시간에는 정상혈청 creatinine 량에 가까워졌다.

#### D) 혈청 chE 활성도의 변동(Table 3)

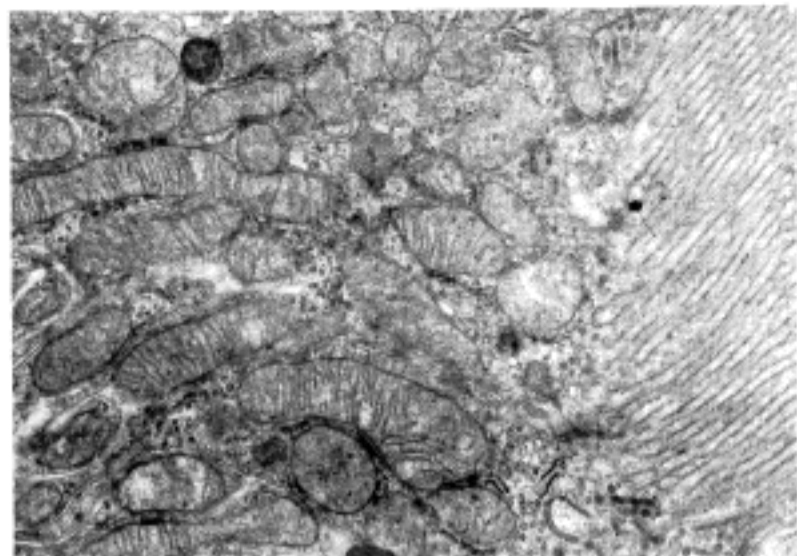
실험직전과 실험 8, 24, 72, 120, 168시간만에 혈액을 채취하여 측정된 혈청 chE 활성도는 정상대조군에서는 전실험기간을 통하여 실험기간에 관계없이 정상범위의 혈청 chE 활성도(80.7~101.1 IU/l)를 보였으나 DDVP 투여군에서는 1회투여군에서 혈청 chE 활성도가 실험

8시간에 현저한 억제(26.7 IU/l)를 보였으며 실험 168 시간까지 계속되었다.

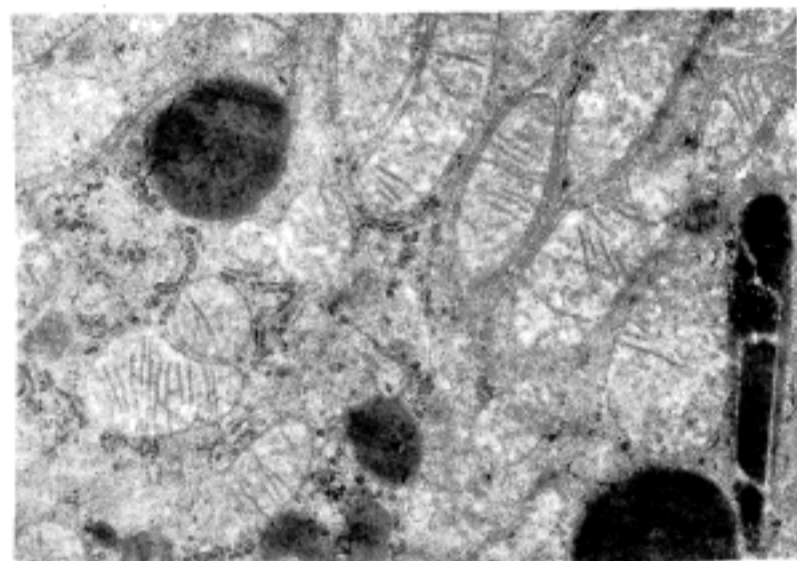
3회투여군 역시 혈청 chE 활성도가 실험 8시간에 현저한 억제(28.6 IU/l)를 보였으며 실험 168시간까지 계속되었다.

#### E) 형태학적 변화

(1) 육안적 소견 : 정상대조군에서는 신장의 표면이 윤택하였고 피질 및 수질이 분명한 활면상을 보였으며 특기할만한 변화를 볼 수 없었다. DDVP 투여군에서도 점상출혈이 약간 보였을 뿐 별다른 병변을 볼 수 없었다.



**Fig. 5. Control group**  
Ultrastructural finding of the epithelial cell of proximal convoluted tubule showing relatively normal configuration. Uranyl acetate & lead citrate stain,  $\times 8,000$



**Fig. 6. DDVP administered group**  
Ultrastructural finding of the epithelial cell of proximal convoluted tubule revealing distention of mitochondria with fragmentation of cristae and several electron dense bodies. Uranyl acetate & lead citrate stain,  $\times 10,000$

(2) 광학현미경적 소견 : 정상대조군에서 신장에 H&E 복염색과 PAS 염색소견상 출혈, 곡세뇨관 상피세포의 종창, 변성, 괴사 및 결체조직증식 등 특기할 만한 병변이 없이 정상구조를 보였다(Fig. 1).

DDVP 투여군에서는 1회투여군에서 실험 8시간에 곡세뇨관 상피세포의 종창 및 공포변성, 출혈과 정도의 출혈이 관찰되었고 실험 24시간에서도 실험 8시간군과 대등한 조직변화를 보였으나 곡세뇨관내에 hyaline cast가 많이 보였으며(Fig. 2). 실험 120시간군에서는 곳에 따라 염증세포출현을 관찰할 수 있었다. 3회투여

군에서 역시 실험 8시간에 곡세뇨관 상피세포의 종창 및 공포변성, 출혈과 중등도의 출혈이 관찰되었으며(Fig. 3) 실험 72시간군에서는 실험 8시간에서 볼 수 있는 조직변화 뿐만 아니라 염증세포 침윤을 볼 수 있었다(Fig. 4).

(3) 전자현미경적 소견 : 정상대조군에서는 곡세뇨관 상피세포의 mitochondria와 microvilli는 비교적 정상이었다(Fig. 5). DDVP 투여군에서는 곡세뇨관상피세포에서 mitochondria 증대 또는 확장과 부분적인 cristae의 단열 및 electron dense body가 관찰되었다(Fig. 6).

## 고 찰

농목립의 장족적인 발전과 더불어 농약의 수요가 현저하게 증가함에 따라 이로인한 중독이 사회적으로 큰 문제가 되고 있다.

유기인제 농약은 1937년 Gerhard Schlader에 의해 O,O-diisopropyl fluorophosphate(DFP)가 개발된 이래 수많은 살충제가 연구개발되어 세계적으로 널리 사용되고 있으며 계속해서 저독성 유기인제의 개발이 요구되고 있다<sup>2)</sup>.

DDVP를 비롯한 유기인제 농약은 주로 농목목적, 말라리아 및 곤충구제에 쓰이며<sup>3)</sup> 의료용으로도 사용된 바 있다<sup>10)</sup>.

유기인제 농약의 독작용은 주로 신경계 및 근육에서 chE 활성도를 억제하여 acetylcholine이 축적되어 생기며<sup>4-7)</sup> chE가 억제되는 것은 유기인제 농약의 인산기가 효소의 작용부위와 견고하게 결합, 인산화효소를 형성하여 신경조직의 acetylcholinesterase가 억제됨으로서 acetylcholine이 synapses에 축적하여 독작용을 나타내는 parasympathetic postganglionic, sympathetic preganglionic 및 central nervous system effect 때문이라고 하였다<sup>11,12)</sup>.

1932년 Lange와 von Krueger<sup>13)</sup>에 의해 처음으로 DFP의 독작용이 기술된데 이어 많은 유기인제의 독작용이 보고되면서 유기인제에 의한 muscarine 및 nicotine 양 작용이 Tayler 등<sup>14)</sup>, Anderson 등<sup>15)</sup>, Hayes 등<sup>16)</sup> 및 Namba 등<sup>9)</sup>에 의해 상술된 바 있다.

근자, 급성약물중독중 농약이 중독약물의 20~45%를 차지한다<sup>17,18)</sup>고 한 바 있어 유기인제 농약의 독성에 대하여 재검토되어야 할 실정이다. 물론 유기인제는 주지하는 바와 같이 신경독이지만 그 중독과정으로 보아 이에 의한 혈액 및 장기조직의 병변에 관하여 연



구관찰한다는 것은 유의한 시도라고 생각한다.

우리나라에서 널리 사용되고 있는 DDVP 를 백하여 실시한 실험성적을 총괄하여 보면 BUN 량이 DDVP 투여군에서 다소 증가를 보였는바 1회투여군보다 3회 투여군에서 더욱 증가되었으며 혈청내 creatinine 량은 DDVP 투여군에서 대체로 증가를 보였지만 1회투여군과 3회투여군에서 별로 차이를 보이지 않았다.

혈청 chE 의 활성도는 DDVP 투여군에서 현저히 억제되어 Anderson 등<sup>19)</sup>, 이와 임<sup>20)</sup> 그리고 황등<sup>21)</sup>이 유기인제를 투여하여 혈청 chE 활성도가 억제되었다는 보고와 일치하였다.

大川<sup>22)</sup>은 사람에서 혈청 chE 활성도가 40%이하로 억제되면 중독증상이 발현한다고 하였는바 하연 Namba 등<sup>23)</sup>은 농약중독에서 hydroxamic acid 법 검사로 혈청 chE 활성도가 50%이하로 억제될 때 증상이 나타나며 10%이하로 억제되면 중증의 중독증상을 보이는 바 일반적으로 중독의 정도는 synaptic chE 활성도가 억제되는 정도에 따라 좌우된다고 하였다.

광학현미경적으로 DDVP 투여군에서 신장에 실험 8 시간부터 곡세노관 상피세포종창 및 변성, 곡세노관 간질에 경도내지 중등도의 출혈 및 곡세노관내에 hyaline cast 와 곳에 따라 염증세포의 출현을 보여 이와 임<sup>20)</sup>, 이등<sup>24)</sup>이 기술한 diazinon 투여동물 신장의 출혈 및 출혈, 곡세노관상피세포의 종창 및 변성과 지방침윤 및 괴사, Smith 와 Jones<sup>25)</sup>가 parathion 중독에서 검색한 신실질세포의 변성 및 정등<sup>26)</sup>이 EPN 투여로 관찰한 곡세노관상피세포의 종창, 출혈 및 경도의 지방변성 등과 비교할때 지방변성과 괴사가 관찰되지 않아 이와 임<sup>20)</sup>, 이등<sup>24)</sup> 및 정등<sup>26)</sup>의 소견보다 경미한 변화를 보였다. 전자현미경적으로는 DDVP 투여군에서 곡세노관상피세포에서 mitochondria 의 종대, 부분적인 cristae 단열 및 지방적으로 추정되는<sup>27)</sup> electron dense body 를 보여 임상적 중독증상과 형태학적 변화간의 관련성이 추려진다.

### 결 론

건강한 SD계 백서를 정상대조군, DDVP 투여군으로 구분하여 실험을 실시한 후 BUN, 혈청 creatinine 량 및 혈청 chE 활성도의 변동과 신장의 형태학적 변화를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) BUN 량은 DDVP 투여군에서 다소 증가를 보였다.

2) 혈청 creatinine 량은 DDVP 투여군에서 다소 증

가를 보였다.

3) 혈청 chE 활성도는 DDVP 투여군에서 현저하게 억제되었다.

4) 광학현미경적으로 DDVP 투여군에서 신장의 곡세노관상피세포의 종창, 변성과 hyaline cast 및 염증세포 침윤이 관찰되었다.

5) 전자현미경적으로 DDVP 투여군에서 곡세노관상피세포의 mitochondria 종대, 부분적인 cristae 단열과 electron dense body 를 보였다.

상기와 같이 DDVP 투여군에서 신장의 기능적 및 기질적 변화를 초래하였다.

### REFERENCES

- 1) 최인섭 : 현대농약. 학문사, 1982, p190
- 2) 장반섭 : 최신농약학. 동명사, 1978, p35
- 3) 최승윤, 이두행, 양항승 : 신고신농약. 향문사, 1983, p102
- 4) Bazur A and Bodansky O: *The mechanism of in vitro and in vivo inhibition of cholinesterase activity by DFP. J Biol Chem* 163:261, 1946
- 5) Adrian ED, Feldberg V and Kilbi BA: *The cholinesterase inhibiting action of fluorophosphate. Br J Pharmacol Chemotherap* 2:56, 1947
- 6) Hazleton RW: *Review of current knowledge of toxicity of cholinesterase inhibitor insecticide. J Agric Food Chem* 3:312, 1955
- 7) Taivonen T, Ohela K and Kaipainen WJ: *Parathion poisoning frequency in finland. Lancet* 2:175, 1959
- 8) Windholz M, Budavari S, Stroumstos LY and Fertig MN: *The Merck Index, 9th edition, Merck Company Inc, 1976*
- 9) Namba T, Greenfield M and Grob D: *Malathion poisoning. Arch Environ Health* 21:533, 1970
- 10) Editorial T: *Uses and hazards of the organic phosphate anticholinesterase compound. Ann Int Med* 32:1299, 1950
- 11) Baron RL: *Delayed neurotoxicity and other consequences of organophosphate esters. Ann Rev Entomol* 26:29, 1981
- 12) Goldman H and Teitel M: *Malathion poisoning*

- in a child following accidental ingestion. J Pediatr* 52:76, 1958
- 13) Lange W and von Krueger G: *On esters of monofluorophosphoric acid. Ber Deutsch Chem Ges (part II)* 65:1598, 1932
- 14) Tayler WJR, Kalow W and Sellers EA: *Poisoning with organophosphorus insecticides. Canad Med Ass J* 93:966, 1965
- 15) Anderson LS, Warner DL, Parker JE, Bluman N and Page BD: *Parathion poisoning from flannelette sheets. Canad Med Ass J* 92:809, 1965
- 16) Hayes WL: *Parathion poisoning and its treatment. JAMA* 192:135, 1965
- 17) 김영진 : 급성약물중독에 대한 임상적 관찰. *충남 의대잡지* 4:240, 1977
- 18) 이성근, 오시중, 육중언, 김승원, 이근배, 송창섭 : 급성약물 중독에 대한 임상적 관찰. *대한내과 학회잡지* 21:1037, 1978
- 19) Anderson PH, Machin AF and Hebert CN: *Blood cholinesterase activity as an index of acute toxicity of organophosphorus pesticides in sheep and cattle. Res Vet Sci* 10:29, 1966
- 20) 이차수, 임창순 : 유기인제중독에 관한 병리학적인 연구. *대한수의학회지* 15:39, 1975
- 21) 황두환, 김양일, 송강정, 남양일, 이창래, 이학중 : 급성약물중독에 관한 임상적 관찰. *대한내과 학회잡지* 19:768, 1976
- 22) 大川徳太郎 : 家畜中毒學. 文永堂. 東京, 1964, p209
- 23) Namba T, Nolte CT, Jackrel J and Crob D: *Poisoning due to organophosphate insecticide, acute and chronic manifestation. Am J Med* 50:495, 1971
- 24) 이영소, 이창엽, 권종국, 이준섭 : O-O-diethyl-O (2-isopropyl-4-methyl-6-pyrimidyl) thiophosphate(diazinon)가 토끼의 번식 및 장기조직에 미치는 영향. *서울대학교 수의대논문집* 3:1, 1978
- 25) Smith HA and Jones TC: *Veterinary pathology. 3rd edition Lea and Febiger Philadelphia* 1966
- 26) 정운익, 권영방, 유일웅, 조태행, 조종후, 임창

형, 김대은, 이원창 : 소 및 면양의 농약중독에 관한 조사연구, 시험연구보고서, 농촌진흥청 가축위생연구소, 1973, p89

- 27) 이준섭, 김덕원, 한태우 : 가축위생기술 개발에 관한 연구 : Malathion에 중독된 mouse의 간장 및 신장의 전자현미경적 연구. 시험연구보고서, 농촌진흥청 가축위생연구소, 1977, p30

= Abstract =

### An Experimental Study on the Influence of DDVP upon the Kidney

Kyo Suck Woo, M.D., Chong Man Kim, M.D.  
and Kook Hwae Koo, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine,  
Hanyang University

With the progress of farming and foresting, the demand of agricultural pesticide has been remarkably increased and accordingly, its intoxication has been widely publicized. Among the pesticides, organophosphorus chemicals has been believed to be almost nontoxic because they are not accumulative in the tissue.

This study is attempted to examine the effects of DDVP which has been used most frequently on the kidney. And they were divided into normal and experimental groups.

The results obtained from this experiment are as follows

- 1) BUN, serum creatinine are increased in the group of DDVP administered while serum cholinesterase is suppressed significantly.
- 2) Microscopically, swelling and degeneration of tubular cells and hyaline casts in tubules. Ultrastructurally swelling of mitochondria, partial fragmentation of cristae and electron dense bodies in the kidney are observed in the group of DDVP administered.