

사염화탄소 투여가 Dimethylnitrosamine의 급성중독 간세포의 구조에 미치는 영향

영남대학교 의과대학 병리학교실

강영천 · 남혜주 · 김동석 · 최원희 · 이태숙

서 론

1954년 Barnes와 Magee¹⁾가 dimethylnitrosamine(DMN)을 용제로 사용하는 실험실에서 중사하던 세 사람 중 2명에 간 경화증이 발생하여 그 독성을 연구한 이후, DMN의 독성에 대해 광범위하게 연구되었다. 여러 실험동물들을 대상으로 연구한 바에 의하면, DMN은 주로 간에 심한 독성작용을 일으키는데, 심한 출혈성 피사를 초래하여 치사율이 높으며²⁾, 또 발암성이 있다고 한다^{3,4)}. 이 물질이 로켓 연료산업과 가죽 제혁산업등의 작업장에서 과량으로 사용되고 있다. 또 작업장에서 사용되는 여러가지 물질이나, 음식, 담배, 음료, 약물, 혹은 체액 등에 존재하는 amine들의 나이트로소화에 의해 DMN이 형성됨으로써, 많은 사람들이 소량이기는 하나 DMN에 노출되고 있는 실정이다⁵⁾.

간독물의 모델에 해당하는 사염화탄소 투여시 간의 소엽중심부에 비출혈성 피사가 나타나며 짧은 시간내에 재생됨은 이미 여러 보고자들에 의해 입증된 바 있다⁶⁻⁸⁾. 그리고 간에 독성 작용하는 사염화탄소의 소량 투여가 DMN에 의해 생기는 간독성에 대해 보호 작용을 한다는 보고들이 있다⁹⁻¹¹⁾. 일반적으로 어떤 간독에 의해 간세포가 중독하게 손상을 받았을 때, 독성 물

질의 화학적 성상이 다를지라도, 이들에 의해 나타나는 세포의 미세구조 변화는 비특이적인 반응으로 생각되고 있다¹²⁾.

저자들은 화학적 성상이 다른 간독물인 사염화탄소와 DMN을 각각 투여하여 그 독작용을 재검하고 형태학적인 변화의 차이점을 관찰하고자 하였다. 또 이들을 중복 투여하여 그 독작용이 증폭되는지 혹은 그 반대의 결과가 나타날 것인지를 관찰하기 위해 사염화탄소와 DMN을 각각 단독 투여한 군과 사염화탄소의 전처치 후 DMN을 투여한 군에서 간의 병변을 비교 관찰하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 약물: 실험동물은 체중 150gm 내외의 Sprague-Dawley종의 수컷 흰쥐를 실험에 사용하였다. 그리고 본 실험에 사용한 DMN은 미국 Kodak회사제로서 실험동물에 투여시 생리 식염수에 1%의 비율로 희석하여 사용하였고, 사염화탄소는 일본 林純藥공업주식회사제로서 olive유에 20%로 희석하여 사용하였다.

실험동물의 약물처리: 실험군은 사염화탄소

단독 투여군(CCl₄ group), DMN 단독 투여한 군(DMN group), 사염화탄소 전처치 후 DMN 투여한 군(CCl₄-DMN group)의 3군으로 나누었다. CCl₄군은 체중 kg당 0.4mg의 CCl₄를 olive 유에 20%로 희석하여 복강내 주입하였다. DMN군은 체중 Kg당 DMN 40mg의 용량을 생리식염수에 1%의 비율로 희석하여 복강내 주입하였다. CCl₄-DMN군은 사염화탄소를 체중 kg당 0.4mg 먼저 투여하고 24시간 후 다시 DMN을 체중 kg당 40mg 투여하였다. 각 군의 광학 및 전자 현미경학적 검색을 위하여 약물 투여 후 3, 6, 12, 24, 48, 72, 120시간에 각각 2마리씩 희생시켰다.

조직표본 작성 및 관찰: 광학 현미경학적 검색을 위해서는 도살 후 즉시 채취한 간을 10% 중성 formalin에 고정하고 paraffin에 포매하여 hematoxylin-eosin 염색을 하여 검경하였다. 전자 현미경학적 검색을 위해서는 간조직을 채취한 즉시 1mm³의 크기로 자르고, 2.5% glutaraldehyde용액(0.1M phosphate buffer, pH 7.4, 0-4°C)에 2시간 전고정한 후, 1% OsO₄용액(0.1M phosphate buffer, pH 7.4, 실온)에 2시간동안 후고정하고 계열 ethanol로 탈수하여 propylene oxide로 치환한 후, epon mixture로 포매하였다. 포매된 조직은 1µm 두께로 박절하여 toluidine blue로 염색하여 관찰 부위를 결정한 후, 초박 절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자 염색하여 관찰하였다.

성 적

광학 현미경적 소견

사염화탄소 단독 투여군에 있어서 병리 조직학적 소견: 사염화탄소 투여 후 3시간 경과시 경미한 microvesicular fatty change가 미만성으로 나타났다. 6시간에 지방변성이 더 심해졌고 간

혹 개개의 간세포가 호산성 피사의 소견을 보였고 소엽 중간부위 간세포의 세포질이 창백한 과립상으로 변화였다. 12시간 경과시 소엽 중간부위 세포들이 투명하게 팽창되어 수포성 변화를 나타냈으며 이들은 띠모양으로 분포되어 있었다(그림 1). 24시간에 간세포의 국소성 피사는 더 심해졌다(그림 2). 48시간에 소엽 중

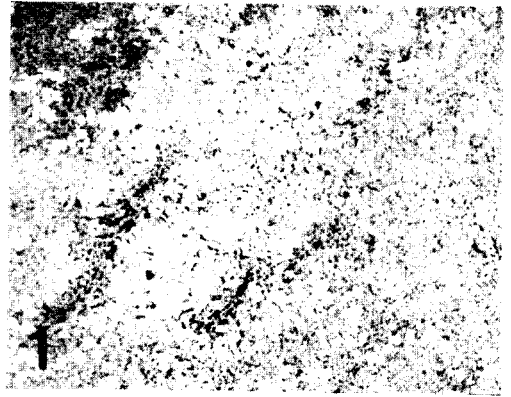


Fig. 1. Light micrograph of liver. 12 hours after CCl₄ injection. Bandlike distribution of clear ballooned hepatocytes in midzonal area. ×40

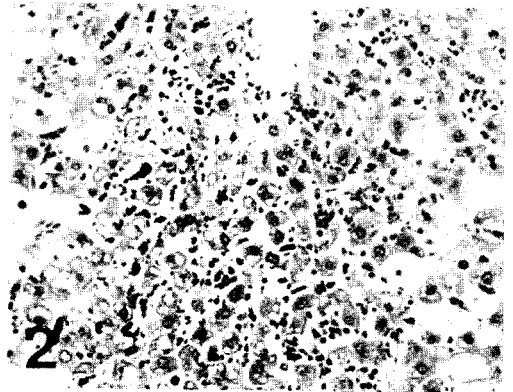


Fig. 2. 24 hours after CCl₄ injection. Centrilobular area shows microvesicular fatty change and lobular disarray due to focal necrosis and inflammatory infiltration. Midzonal hepatocytes show hydropic swelling. ×200

심부를 중심으로 소엽의 약 1/3정도를 차지하는 帶狀괴사가 나타났으며(그림 3), 이때부터 간세포의 수포성 변화는 관찰되지 않았다. 72시간 이후 적극적인 괴사는 더 이상 관찰되지 않았고 간은 거의 회복된 상태를 보였다. 사염화탄소 투여시 나타난 괴사성 병변은 많은 단핵구 침입을 동반하였다.

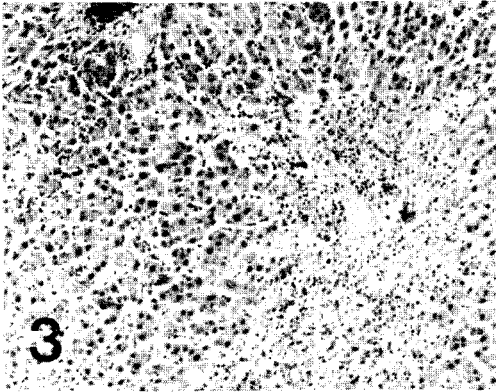


Fig. 3. 48 hours after CCl_4 injection. Confluent necrosis with inflammatory infiltrate in centrilobular area. $\times 100$

DMN 단독투여군 : 투여후 6시간까지는 변화가 없었으며 12시간부터 중심정맥과 인접 동양혈관에 심한 울혈이 나타났고, 소엽중심부에 출혈과 함께 소엽의 약 1/3을 차지하는 융합성 괴사가 나타나서 24시간에는 소엽의 반이상을 차지하였다(그림 4). 광범위한 괴사는 48시간까지 지속되었으며 架橋狀 괴사도 동반되어, 살아남은 간세포들은 문맥역 주위에 섬을 형성하였다. 72시간부터는 문맥 주위로부터 적극적인 재생성 변화가 나타나서 간소엽이 가결절성 양상을 나타내었다. 그 전에 이미 괴사되었던 부위는 소엽의 1/3을 차지하였으며 적극적으로 진행되는 괴사는 더 이상 관찰되지 않았고, 소엽중심부에 간세포가 없어진 부위에는 호산성 침전물질, 부종액, 출혈, 단핵구침윤 등이 있었다. 120시간에 재생성변화는 계속되고 있으나

소엽의 1/3이하를 차지하는 괴사가 여전히 남아 있었다(그림 5).



Fig. 4. 120 hours after intraperitoneal injection of DMN, Centrilobular hemorrhagic necrosis occupies more than 1/2 of the lobule. $\times 100$

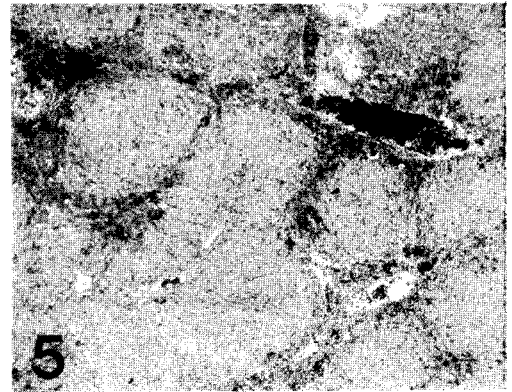


Fig. 5. 120 hours after DMN injection. The liver reveals pseudonodular appearance due to regenerative change and confluent hemorrhagic necrosis with bridging. $\times 40$

사염화탄소 전처치 후 DMN 투여군 : DMN 투여후 3시간부터 소엽중심부를 중심으로 소엽의 반 이상을 차지하는 호산성 용괴성괴사가 나타나서 12시간까지 지속되었고 심한 출혈은 동반되지 않았다. 24시간에는 활발한 재생성

변화가 나타나서 간이 가결절성 양상을 보였으며, 적극적으로 진행되는 괴사는 더 이상 나타나지 않았고, 그 전에 괴사되어 간세포가 없어진 부위는 소엽의 약 1/3을 점유하였으며 여기에 약간의 출혈, 단핵구 침윤을 동반하였다(그림 6). 72시간에 재생성 변화는 계속되었고, 곳에 따라 개개의 간세포가 혹은 작은 집단의 간세포가 국소적으로 탈락 괴사되고 그 부위에 임파구 침윤이 동반된 정도의 경미한 국소괴사의 소견이 나타났다. 120시간에 괴사는 모두 사라지고 과형성변화를 보였다. 이 사염화탄소 전처치군에서는 사염화탄소 단독투여시 관찰되었던 지방변성과 수포성변화는 광학현미경상 거의 인지할 수 없었고, DMN단독 투여시 동반된 심한 출혈도 나타나지 않았다.

각 군에서 괴사의 정도를 보면 표에서 보는 바와 같이 CCl₄군에서는 6시간에 단독으로 괴사된 간세포가 가끔 관찰되는 정도의 경미한 괴사가 나타나서 48시간에 가장 심하였고 72시간 이후에는 관찰되지 않았다. DMN군에서는 융합성 괴사가 12시간부터 나타나서 24시간에 가장 심하였고 120시간까지 괴사가 지속되었다. CCl₄-DMN군에서는 3시간부터 광범위한 융합

성 괴사가 나타나서 12시간부터는 그 정도가 감소하여 120시간에는 정상 소견을 나타냈다.

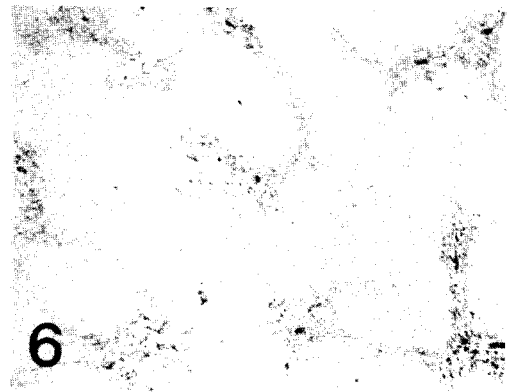


Fig. 6. 24 hours after injection of DMN in CCl₄ pretreated group. Pseudonodular appearance due to confluent necrosis and regenerative change are noted. Necrotic area contains hemorrhage and mononuclear infiltrate. ×40

전자 현미경적 소견

사염화탄소 단독투여군 : 사염화탄소 투여 3시간에 내형질막의 수포성 팽창이 경미하게 나

Table. Degree of necrosis in hepatocytes treated with CCl₄ and/or DMN, observed with light microscope.

group	Time(hour)						
	3	6	12	24	48	72	120
CCl ₄ group	-	+	+	+	+++	-	-
DMN group	-	-	+++	++++	++++	++	++
CCl ₄ -DMN group	++++	++++	+++	++	++	+	-

+ : Individual hepatocyte or small groups of hepatocytes undergo necrosis.

++ : Confluent zonal necrosis in centrilobular area.
Necrotic area occupies less than 1/3 of lobule.

+++ : Confluent zonal necrosis in centrilobular area.
Necrotic area occupies from 1/3 to 1/2 of lobule.

++++ : Confluent zonal necrosis in centrilobular area.
Necrotic area occupies more than 1/2 of lobule.

타났다. 좀 더 심하게 손상된 세포에서는 내형질막이 세포 주변부로 밀려서, 혼란된 막의 등근 덩어리를 형성하였으며(그림 7), 세포질의 다른 부위에는 비과립성 내형질막들이 전반적으로 감소되었다. 덩어리로 된 세관의 반경은 축소되었고 많은 지방적들이 나타났다. 6시간 경과 시 내형질막의 수포성 팽창과 덩어리 형성은 더 심해졌고(그림 8), 과립성 내형질막은 가끔 모양이 변형되어 평행나열이 소실되고 관강이 확장되었다. 가끔 심하게 팽창된 내형질막에 막성구조들이 압축 붕괴된, 불규칙하게 생긴 층판 모양의 밀도높은 물질이 나타났다. 간혹 사립체의 사립체능이 약간 확장되어 작은 공포로 나타났다. Microbody가 약간 증가되었고 간혹 팽창된 것도 관찰되었다(그림 9). 창백한 과립상 세포질을 가진 소엽중간부위의 간세포의 세포질은 중등도로 확장된 내형질막들로 채워져 있었다. 팽창된 내형질막들 사이에 수축되고 간질밀도가 증가된 사립체와 지방적이 나타났다(그림 10).

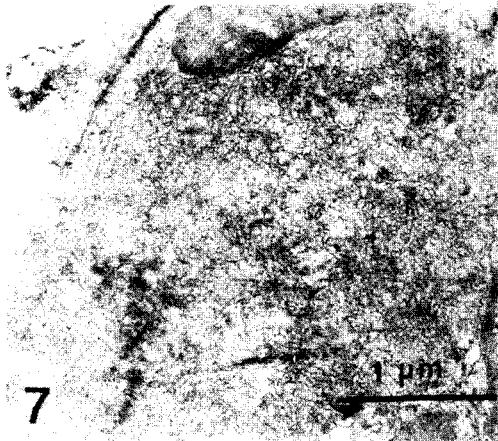


Fig. 7. Electron micrograph of liver. Hepatocyte, 3 hours after CCl_4 injection. Clumped endoplasmic reticula reveal constricted lumen.

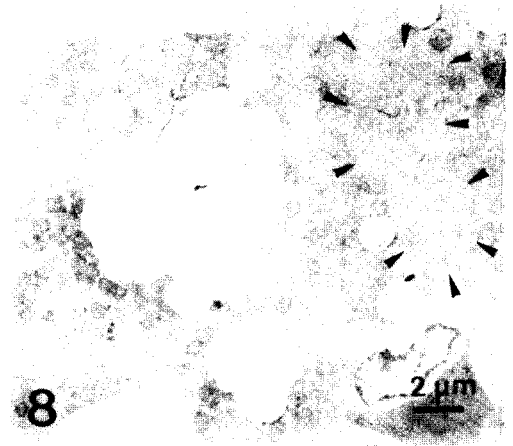


Fig. 8. Hepatocyte, 6 hours after CCl_4 injection. The hepatocyte shows severely dilated endoplasmic reticulum containing electron-luscent flocculent material, clumped endoplasmic reticulum (arrow head), and lipid droplets.

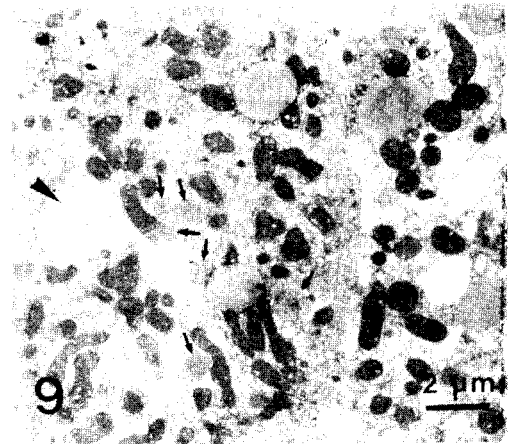


Fig. 9. Hepatocyte, 6 hours after CCl_4 injection. The hepatocytes shows dilated endoplasmic reticulum, lipid droplets, increased microbodies (arrow). Some microbody is dilated (arrow head). The mitochondria reveal increased matrix density and dilatation of cristae.

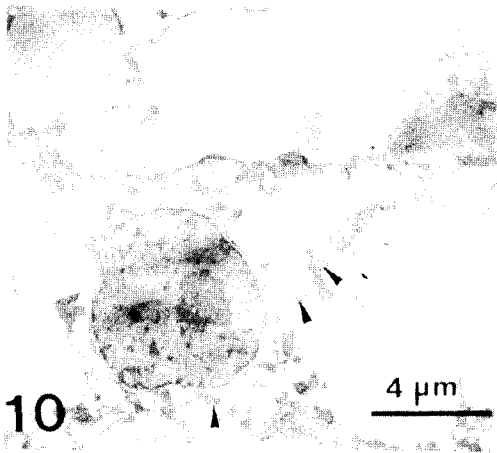


Fig. 10. Hepatocyte, 6 hours after CCl_4 injection. Pale granular cells in midzonal area are almost entirely occupied by dilated endoplasmic reticula, between which are constricted mitochondria (arrow head) and lipid droplets present. Nucleus is pyknotic.

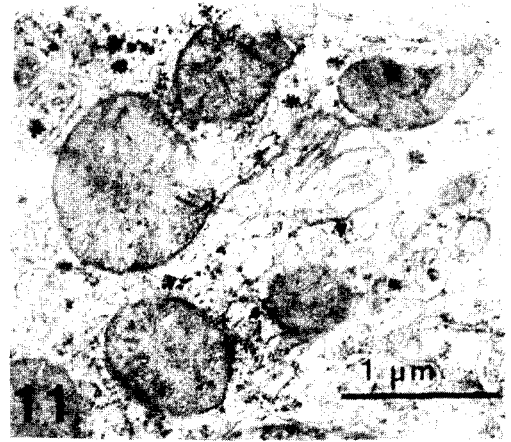


Fig. 11. Hepatocyte, 6 hours after DMN injection. RER is disarrayed and shows bizarre arrangement.

DMN 단독 투여군 : DMN 투여 3시간에 과립성 내형질막이 평행다발모양으로 나열되는 대신, 개개의 층판 요소가 분리되어 세포질 전체에 흩어져 존재하였고, 많은 지방적들이 나타났다. 6시간 경과시 과립성 내형질막의 불규칙한 배열 상태는 더 심해졌고(그림 11) 소강은 약간 부풀었으며 결합 ribosome이 감소되었다. 동양혈관의 내막에 변화가 나타났는데 내피세포의 창이 넓어지고, Disse 강의 폭이 증가되었다. 곳에 따라 내피세포의 본체가 부분적으로 소실되고 노출된 간세포의 표면에는 미세융모가 감소되었다(그림 12). 사립체가 가끔 비정상적인 모양을 보이거나 기질밀도가 증가되었고 사립체능이 약하게 확장되었고(그림 13), microbody가 증가되었다.



Fig. 12. Hepatocyte and endothelial cell, 6 hours after DMN injection. The cytoplasm of sinusoidal endothelium is partly lost. Exposed hepatic surface reveals decreased microvilli (arrow head).

사염화탄소 전처치후 DMN 투여군 : 사염화탄소 단독 투여 후 24시간 경과시 피사 주변부의 간세포는 심한 내형질막의 덩어리 형성과 사립체의 심한 부종을 보였다. 이들 사립체들은 팽

창되어 인접 사립체에 의해 모양이 심하게 변형되어 굴곡을 가진 모양을 나타냈으며 사립체능의 모양도 변형되었다. 사염화탄소 전처치후 DMN 투여한 뒤 3시간 경과시 피사 주변부의 간세포에 나타난 소견은 사염화탄소 단독 투여

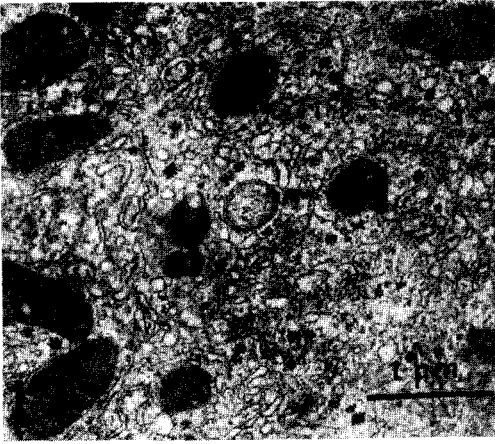


Fig. 13. Hepatocyte, 6 hours after DMN injection. RER is disorganized and shows dilated lumen and decrease of attached ribosome.

시에 비해 더 심한 변화가 나타났다. 내형질막의 덩어리 형성이 사염화탄소 단독 투여시와 마찬가지로 나타났고, 여기에 불규칙한 커다란 고전자밀도성 물질이 축적되었다. 이들은 막성 구조들과 밀접하게 섞여 있어서, 막 손상에 의해 막성 구조물이 붕괴, 압축, 변형되어 생긴 물질로 생각되었다. 과립성 내형질막의 변형이 더 심해졌고 ribosome의 해리, 그리고 전반적인 ribosome의 감소가 나타났다. 때로 확장된 과립성 내형질막의 소강이 비교적 전자밀도가 높은 균질의 물질들로 채워졌다(그림 14). 사립체가 심하게 확장되고 변형되면서 사립체능이 파괴되고 또 전자밀도가 높은 물질들이 불규칙하게 축적되었다.

고 찰

본 실험에 나타난 결과에 의하면 세 군에서 모두 괴사가 나타났는데 DMN 단독 투여시는 사염화탄소 단독 투여시보다 괴사가 더 심하였고 출혈을 동반하였다. 사염화탄소 전처치 후

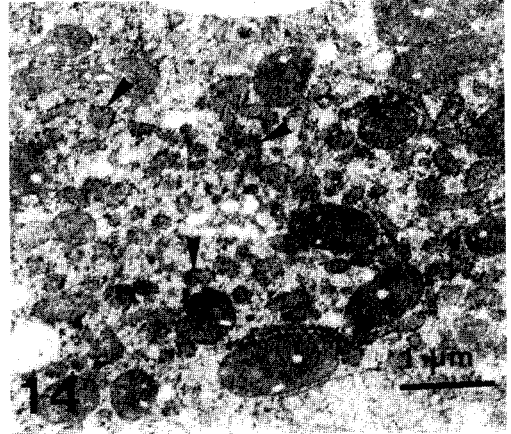


Fig. 14. Hepatocyte, 3 hours after injection of DMN in CCl_4 pretreated group. RER is scattered in separated units and dilated. Dilated lumen contains rather dense amorphous material (arrow head).

DMN투여시는 괴사가 적극적으로 진행되고 있는 동안에는 출혈이 나타나지 않았고 괴사가 점차 소멸되어 가고 있을 때 약간 동반되었다. 사염화탄소 전처치 후 DMN투여한 군을 사염화탄소 단독투여군과 비교해 보았을 때, 괴사성 병변이 정도와 지속시간에 있어서 전처치군에서 더 심해졌는데, 그 원인은 사염화탄소 투여 후 24시간에는 사염화탄소의 괴사작용이 활발하게 진행될 시간이므로 사염화탄소와 DMN의 괴사 유발 능력이 상승 작용을 한 것으로 생각된다. 그러나 지방변성과 수포성 변화는 사염화탄소 단독 투여군에 비해 감소되었다. 사염화탄소 전처치 후 DMN 투여군을 DMN 단독 투여군과 비교해 볼 때, 괴사의 정도는 두군에서 유사했으나 지속 시간은 전처치군이 더 짧았다. 이로 미루어보아 DMN의 중독한 간 괴사성 병변이 사염화탄소 전처치시 더 빨리 회복됨을 알 수 있다.

괴사가 초래될 정도로 심하게 손상받은 세포에서 나타나는 대부분의 세포질 병변은 독소에

의한 초기의 아치사성 손상에 의한 이차적 반응이므로 비특이적인 소견이 나타난다. 그래서 개개의 독성물질에 의한 세포의 특징적인 미세구조변화를 조사하기 위해서 각 독물의 투여 후 피사가 생기기 전의 단계를 조사하였다. 전자현미경적 소견상 DMN 투여시 주된 병변은 과립성 내형질막의 분열과 결합 ribosome의 감소였는데, 이는 Ganote와 Rosenthal의 보고¹³⁾와, Gustafsson와 Afzelius의 보고¹⁴⁾와 유사했다. 또 동양혈관 내피세포에 손상이 나타났다. DMN의 주된 작용은 세포의 ribonucleic acid와 deoxyribonucleic acid를 methylate 시키고 단백질합성을 방해하는 것이라 한다¹⁵⁾. 본 실험에서 나타난 과립성 내형질막의 변형은 이러한 단백질합성의 장애를 반영한다. 사염화탄소 투여시의 주된 작용은 내형질막의 덩어리 형성과 수포성 확장으로 나타났다. 이 덩어리로 된 내형질막에는 비과립성 내형질막과 탈과립화된 과립성 내형질막이 다 관여하는 것으로 생각되나, 주로 비과립성 내형질막의 손상으로 생각되었다. 그 외 부수적으로 세포의 다른 부위에 비과립성 내형질막의 감소, 과립성 내형질막의 경미한 분열, 지방적의 증가 등이 나타났다. 사염화탄소 투여시의 이러한 내형질막의 손상 양상은, 사염화탄소가 미소체의 약물대사 효소계에서 화학적인 반응성있는 대사물로 형성되는 것과 관계 있는 것으로 생각되고 있다^{10, 16, 17)}. 사염화탄소 전처치후 DMN 투여시, 내형질막의 집합체에 세포독성의 물질로 생각되는 고전자밀도성 물질의 축적, 과립성 내형질막의 소강내에 밀도 높은 침착물, 팽창된 사립체에 calcium phosphate crystal의 축적 등의 소견이 나타났다. 이를 사염화탄소 단독 투여시의 동일 시간 경과군과 비교하여 보았을 때 병변의 정도가 더 심해진 것으로 이는 광학현미경적 소견과도 부합되는 소견이었다.

DMN의 중독한 간 피사성 병변은, 간에서

미소체의 효소에 의해 oxidative demethylation 되어 반응성이 강한 대사물이 형성되며, 이들이 DNA와 세포의 다른 대분자들과 반응함으로써 생긴다고 한다^{9, 18-20)}. 그러므로 미소체 효소의 활성을 증가시키는 약물을 투여하면 DMN의 간 피사성 병변이 증가되며, 미소체 효소의 활성을 감소시키는 약물을 투여하면 DMN에 대한 감수성이 감소된다¹⁹⁾. 사염화탄소는 미소체 분획의 cytochrome P-450 system과 극히 빠르게 반응하고, 몇몇 미소체 효소를 불활성화시키는 작용이 있다고 한다^{10, 16)}. 그래서 사염화탄소 투여후 DMN을 투여하면, DMN의 대사가 저하되어 DMN에 의한 급성중독효과가 부가되지 않는 것으로 생각되고 있다⁹⁾. 또 DMN도 cytochrome P-450을 함유하는 어떤 미소체효소를 감소시키는 작용이 있어서, DMN 1회 투여 후 어느 정도 시간이 지난 뒤 다시 DMN을 투여하는 경우, 두번째 투여한 DMN의 독작용이 감소된다¹⁶⁾고 한다. Pound 등¹¹⁾에 의하면, 사염화탄소 투여 후 6시간부터 48시간 이내에 DMN을 투여하면 DMN의 독성이 저하되며, 60시간 이후부터는 독성이 다시 원상태로 돌아간다고 한다. 그러나 본 실험에서는 사염화탄소 투여 후 24시간 뒤에 DMN을 투여했는데, DMN의 독작용은 감소되지 않았으나 DMN 투여후 12시간 경과시 피사 정도가 감소되기 시작하였고 24시간부터는 재생성 변화가 나타났다. 사염화탄소 투여 후 DMN 투여시, 아주 초기에 심한 피사가 생긴 것은 두가지 물질의 피사유발능력이 상승 작용을 한 것으로 생각되고, 회복이 빨라진 것은 사염화탄소가 DMN의 독작용을 감소시키는 역할을 한 것으로 생각되며, 사염화탄소 투여 후 36 내지 48시간 부터 독작용이 감소된 것으로 생각된다. 여기서 사염화탄소가 DMN의 독작용을 감소시키는 기전을 알기 위해서는 미소체 효소의 유도 물질이나 억제 물질을 투여한 뒤 위와 동일한 실험을 하여 나타나는 반응을 조

사하고, 또 생화학적으로 각 독성 물질의 대사에 관여하는 효소들의 정량 정성 분석을 통한 더 자세한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

간에 급성 출혈성 괴사를 일으키는 dimethylnitrosamine(DMN)의 간 독작용이 과량의 사염화탄소로 전처치시 어떤 영향을 받는가를 관찰하기 위해 먼저 DMN을 쥐의 복강내에 주입하였다. 또 사염화탄소 전처치에 의한 영향을 조사하기 위해 사염화탄소 투여 후 DMN을 투여하고 간조직을 적출하여 광학 현미경 및 전자현미경으로 관찰하였다.

광학 현미경하에서 DMN 단독 투여시 12시간부터 간 소엽중심부에 심한 출혈성 괴사가 나타나서 120시간까지 지속되었다. 과량의 사염화탄소로 전처치시 초기부터 광범위한 괴사가 나타났으나 24시간부터는 활발한 재생성변화가 나타나서 120시간에는 거의 정상으로 회복되어서 괴사의 정도는 DMN 단독 투여군과 유사하고 회복되는 시간은 단독 투여군보다 더 빨랐다. 전자 현미경하에서 DMN 단독 투여시 초기 변화는 주로 과립성 내형질막의 분열로 나타났고, 사염화탄소 단독 투여시는 내형질막의 덩어리형성과 수포성 팽창으로 나타났다. 사염화탄소 전처치 후 DMN 투여시 초기에 나타난 변화는 그 양상이 사염화탄소 단독 투여시와 유사했지만 정도가 더 심했다.

이상의 결과에서 DMN의 급성중독 효과는 과량의 사염화탄소로 전처치한 경우에 재생이 더 빨리 이루어지는 것으로 보아 사염화탄소가 DMN에 대해 방어적인 작용을 하는 것으로 추측된다.

참고문헌

1. Barnes JM, Magee PN : Some toxic properties of dimethylnitrosamine. *Br J Ind Med* 11 : 167-173, 1954.
2. Khanna SD, Puri S : The hepatotoxic effects of dimethylnitrosamine in the rat. *J Pathol Bacteriol* 91 : 605-608, 1966.
3. Carl Z : *Occupational medicine. Principles and practical application*, 2nd ed, Year Book Medical Publishers, INC, Chicago, pp 825.
4. Magee PN, Barnes JM : The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine. *Br J Cancer* 10 : 114-119, 1956.
5. Yakobson GS, Shkurupii VA, Khristolybova NB : Comparative morphometric study of hepatocyte ultrastructure in various lines of mice acutely poisoned with CCl₄. *Bull Exp Biol Med* 77 : 332-336 1974.
6. Nakata R, Tsukamoto I, Miyoshi M, Kojo S : Liver regeneration after carbon tetrachloride intoxication in the rat. *Biochem Pharmacol* 34(4) : 586-588, 1985.
7. Ashworth CT, Luibel FJ, Sanders E, Arnold N, Tezas D : Hepatic cell degeneration. *Arch Pathol* 75 : 212-225, 1963.
8. Stenger RJ, Johnson EA : Further observations upon the effects of phenobarbital pretreatment on the hepatotoxicity of carbon tetrachloride. *Exp Mol Pathol* 14 : 220-227, 1971.
9. Ruchirawat M, Mostafa MH, Shank RC, Weisburger EK : Inhibitory effects of carbon tetrachloride on dimethylnitrosamine metabolism and DNA alkylation. *Carcinogenesis*

10. Pound AW, Lawson TA : Protection by carbon tetrachloride against the toxic effects of dimethylnitrosamine in mice. *Br J Exp Pathol* 56 : 77-82, 1975.
11. Pound AW, Horn L, Lawson TA : Decreased toxicity of dimethylnitrosamine in rats after treatment with carbon tetrachloride. *Pathology* 5 : 233-242, 1973.
12. Magee PN : Toxic liver necrosis. *Lab Invest* 15(1) : 111-131, 1966.
13. Ganote CE, Rosenthal AS : Characteristic lesions of methylazoxymethanol-induced liver damage. *Lab Invest* 19(4) : 352-398, 1968.
14. Gustaffson RG, Afzelius BA : Comparative effects on rat liver cells after dimethylnitrosamine, 2-fluorenamine, or prednisolone treatment studied by electron microscopy. *J Natl Cancer Inst* 30(5) : 1045-1056, 1963.
15. Mager J, Halbreich A, Bornstein S : Antidotal effect of aminoacetonitrile against the biochemical injury of the microsomal amino-acid incorporating system induced in vivo by carbon tetrachloride or dimethylnitrosamine. *Biochem Biophys Res Commun* 18 : 576-581, 1965.
16. Pound AW : The effect of a dose of dimethylnitrosamine on the toxicity of a subsequent dose and on the toxicity of carbon tetrachloride in mice. *Br J Exp Pathol* 56 : 271-275, 1975.
17. Bernacchi AS, Castro CR, Toranzo EZD, Marzi A, Ferreyra EC, Feros OM, Castro JA : Pyrazol prevention of CCl₄-induced ultrastructural changes in rat liver. *Br J Exp Pathol* 61 : 505-511, 1980.
18. Rom WN : Environmental and occupational medicine. Little, Brown and Co, Boston, 1983, pp 610-617.
19. Mclean AEM, Verscheeren HG : Effects of diet and microsomal enzyme induction on the toxicity of dimethylnitrosamine. *Br J Exp Pathol* 50 : 22-25, 1968.
20. Cottrell RC, Lake BG, Phillips JC, Gangolli SD : The hepatic metabolism of ¹⁵N-labelled dimethylnitrosamine in the rat. *Biochem Pharmacol* 26 : 809-813, 1977.

-Abstract-

Effects of Carbon Tetrachloride on Structures in Hepatocytes Following DMN Induced Hepatotoxicity

Young Chun Kang, Hae Joo Nam, Dong Suk Kim,
Won Hee Choi, Tae Sook Lee

*Departemnt of Pathology
College of Medicine, Yeungnam University
Taegu, Korea*

The purpose of this study was to evaluate the influence of high dose carbon tetrachloride(CCl_4) on the hepatotoxic effect of dimethylnitrosamine(DMN) which induces acute hemorrhagic necrosis in liver. Rats were injected intraperitoneally DMN dissolved in physiologic saline by a dose of $40\text{mg}/\text{kg}$. For changes related to CCl_4 pretreatment, rats were injected intraperitoneally CCl_4 dissolved in olive oil by a dose of $0.4\text{mg}/\text{kg}$, and then injected DMN. The livers were extracted from the rats 3, 6, 12, 24, 48, 72, and 120 hours after CCl_4 and/or DMN injection. Liver tissues were examined with light and electron microscopes. The results were summarized as follows :

Light microscopic findings : Severe centrilobular hemorrhagic necrosis developed from 12 hours after injection of DMN and continued to 120 hours. On injection of DMN after CCl_4 pretreatment, Massive necrosis occurred early. But active regenerative changes were produced in 24 hours. In 120 hours, the liver recovered in almost normal appearance. The degree of necrosis in pretreated group was similar to that in DMN injection only, and the time of recovery was faster in preteated group.

Electron microscopic findings : The early change was mainly disorganization of RER in DMN injection, and clumping and vesicular dilatation of ER in injection of CCl_4 . In pretreatment group, the early change was similar in appearance with CCl_4 group, but severer in degree.

According to the results, it was revealed that acute toxic effect of DMN was recovered more rapidly in pretreatment group. Thus it was suggested that CCl_4 had protective effect in DMN hepatotoxicity.

Key Words : Dimethylnitrosamine, Carbon tetrachloride, Liver.