



The effects of 2-methoxyethanol and 2-ethoxyethanol on hematological changes induced by 2-butoxyethanol

(2-부톡시에탄올에 의해 유도된 혈액학적 변화에서 2-메톡시에탄올과 2-에톡시에탄올의 효과)

제공 / 가천대 길병원 직업환경의학과 송승호

Beata Starek-Świechowicz, Katarzyna Miranowicz-Dzierżawska, Bogusława Budziszewska, Andrzej Starek

Introduction

많은 천연 및 합성 물질의 일부는 조혈모작용을 유도하는 생체이물질이거나 혈구를 파괴하는 생체이물질로 명확히 알려져 있다. 예를 들어, 벤젠은 조혈모작용을 유도하는 생체이물질이며, 사람과 동물에게 백혈병을 유발하는 독소로 작용한다.

반면에 납은 헤모글로빈 생합성을 저해하고 적혈구 세포막의 Na^+ , K^+ ATPase의 활성도를 저해하여 용혈성 빈혈을 유도하는 물질이다.

에틸렌글리콜에테르는 조혈모세포에 직접적으로 작용하여, 잠재적인 조혈모작용을 유도하는 생체이물질로 알려져 있다. 에틸렌글리콜에테르 중 특히나 2-메톡시에탄올, 2-에톡시에탄올, 2-부톡시에탄올은 양쪽 친매성을 가지는 독특한 분자 구조로 잉크, 페인트, 화장품, 접착제, 계면활성제 등 산업 전반에 걸쳐 사용되고 있다. 에틸렌글리콜에테르는 호흡기, 피부, 섭취를 통해 체내 흡수가 가능하며, 간에서 NAD-dependent dehydrogenase에 의해 산화되어 alkoxyacetic acids로 대사체를 형성하고 소변으로 배출된다. 이러한 대사체에 의해 적혈구 용혈을 야기하게 된다. 2-메톡시에탄올에 만성적으로 노출된 근로자에서 헤모글로빈, 적혈구 수, 압축혈구용적(packed cell volume, PCV)이 감소되었다는 보고가 있으며, 2-에톡시에탄올 아세테이트가 포함된 혼합용제에 노출된 조선소 페인트공에서 골수의 독성을 야기하거나 2-부톡시에탄올에 낮은 농도로 노출된 근로자에서 압축혈구용적이 감소되고 MCHC(mean cell hemoglobin concentration)이 증가 되었다는 보고도 있다. 하지만 이러한 화합물에 혼합된 노출로 인한 효과를 검증한 동물 실험은 없었다. 따라서 본 연구의 목적은 쥐에게 2-부톡시에탄올과 2-메톡시에탄올 또는 2-부톡시에탄올과 2-에톡시에탄올을 주입하여 혈액학적 변화를 보고자 한다.

Material and Methods

실험 물질(Chemical)

2-메톡시에탄올, 2-에톡시에탄올, 2-부톡시에탄올은 폴란드의 Sigma-Aldrich사로부터 구입하였다. 혼합물은 주입하기 직전에 혼합하여 주입하였다.

실험 동물(Animals)

실험용 쥐는 Adult male Wistar rats(생후 12주, 몸무게 약 290g)를 사용하였다. 실험용 쥐는 폴리프로필렌 성분의 케이지에서 일반적인 실험실 조건(온도 $22\pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50\pm 10\%$, 12시간 밤/낮 주기)에 익숙해지도록 1주간 적응 기간을 거쳐 실험을 진행하였다.

동물 실험(Animal treatment)

실험용 쥐는 무작위로 각각 5마리씩 총 11그룹으로 분류하였다. 그 중 6그룹은 2-메톡시에탄올, 2-에톡시에탄올, 2-부톡시에탄올을 각각 0.75 mM/kg/day 과 1.25 mM/kg/day로 피하 조직에 주 5회씩 4주동안 주사하였다. 나머지 4 그룹은 2-부톡시에탄올과 2-메톡시에탄올 또는 2-부톡시에탄올과 2-에톡시에탄올을 주입하였다. 마지막 한 그룹은 대조군으로 같은 양의 생리식염수를 주입하였다. 혈액 채취는 꼬리 정맥에서 분석 직전에 수집하였다.

통계 분석(Statistical analyses)

모든 데이터는 평균 \pm 표준편차로 표기 하였으며, 데이터 분석은 이원분산분석을 통해 p값이 0.05 이하 일 때 통계적으로 유의하다고 간주하였다.

Results

혈액학적 영향(Hematological effects)

2-부톡시에탄올은 단독으로 0.75 mM/kg/day의 낮은 농도에서 의미 있는 RBC농도의 감소를 야기 하였으며, PCV 실험 4일째만 감소하였고, HGB는 4일 이후로 감소하는 양상을 보였다. 반대로 MCV 와 망상적혈구(RET)는 증가하는 양상을 보였다.

2-메톡시에탄올은 단독으로 0.75 mM/kg/day의 낮은 농도에서 실험 시작 18일째 통계적으로 의미 있는 RBC의 감소를 나타내었다. 2-부톡시에탄올과 2-메톡시에탄올(0.75 mM + 0.75 mM) 혼합물을 주입 했을 경우 2-부톡시에탄올을 단독으로 처리 하였을 경우에 비해 통계학적으로 덜 의미 있는 혈액학적 변화를 보였다.(그림1 참조)

2-부톡시에탄올을 1.25 mM/kg/day의 농도로 주입하였을 경우 RBC는 감소하였고, MCV와 RET는 증가 되었다. PCV와 HGB는 실험 특정 날짜에 감소하는 경향을 보였다. 또한 소변 중 헤모글로빈이 대조군(43 ± 7.9 mg/g of creatinine)과 비교하여 345 ± 6.1 mg/g of creatinine으로 높게 관찰되었다. 2-메톡시에탄올을 고농도로 단독처리 하였을 때 RBC, PCV, HGB가 특정시점부터 감소되었다.

2-부톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)과 2-메톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)을 동시에 주입하였을 경우 2-부톡시에탄올을 단독으로 주입하였을 경우와 비교하여 혈액학적 변화는 실험 시작 4일까지는 미비하였으나 그 이후로는 비슷하거나 변화가 크게 나타났다.(그림2 참조)

2-에톡시에탄올에서도 0.75 mM/kg/day의 낮은 농도에서 그림 1,2의 결과와 유사한 경향을 보이고

있으나 2-부톡시에탄올이나, 2-메톡시에탄올에 비해 그 정도는 비교적 낮은 결과를 보였다. 2-부톡시에탄올(0.75 mM/kg/day)과 2-메톡시에탄올(0.75 mM/kg/day)을 낮은 농도로 동시에 주입하였을 때 2-부톡시에탄올을 단독으로 처리하였을 때 보다 혈액학적 변화가 미미 하였으나, 마지막에는 부분적으로 비슷하거나 감소의 폭이 더 컸다.

MCV의 증가는 2-부톡시에탄올을 단독처리하였을 경우 보다 증가의 폭이 크지 않았다. 2-부톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)과 2-메톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)을 동시에 주입하였을 경우 2-부톡시에탄올을 단독 처리하였을 때와 비슷한 결과를 보였으나 PCV, HGB에서는 더 큰 변화를 보였다. 2-부톡시에탄올을 2-메톡시에탄올이나, 2-메톡시에탄올과 섞어 주입하는 경우에는 헤모글로빈뇨가 관찰되지는 않았다.(그림 3, 4 참조)

백혈구 변화(Leukocyte alterations)

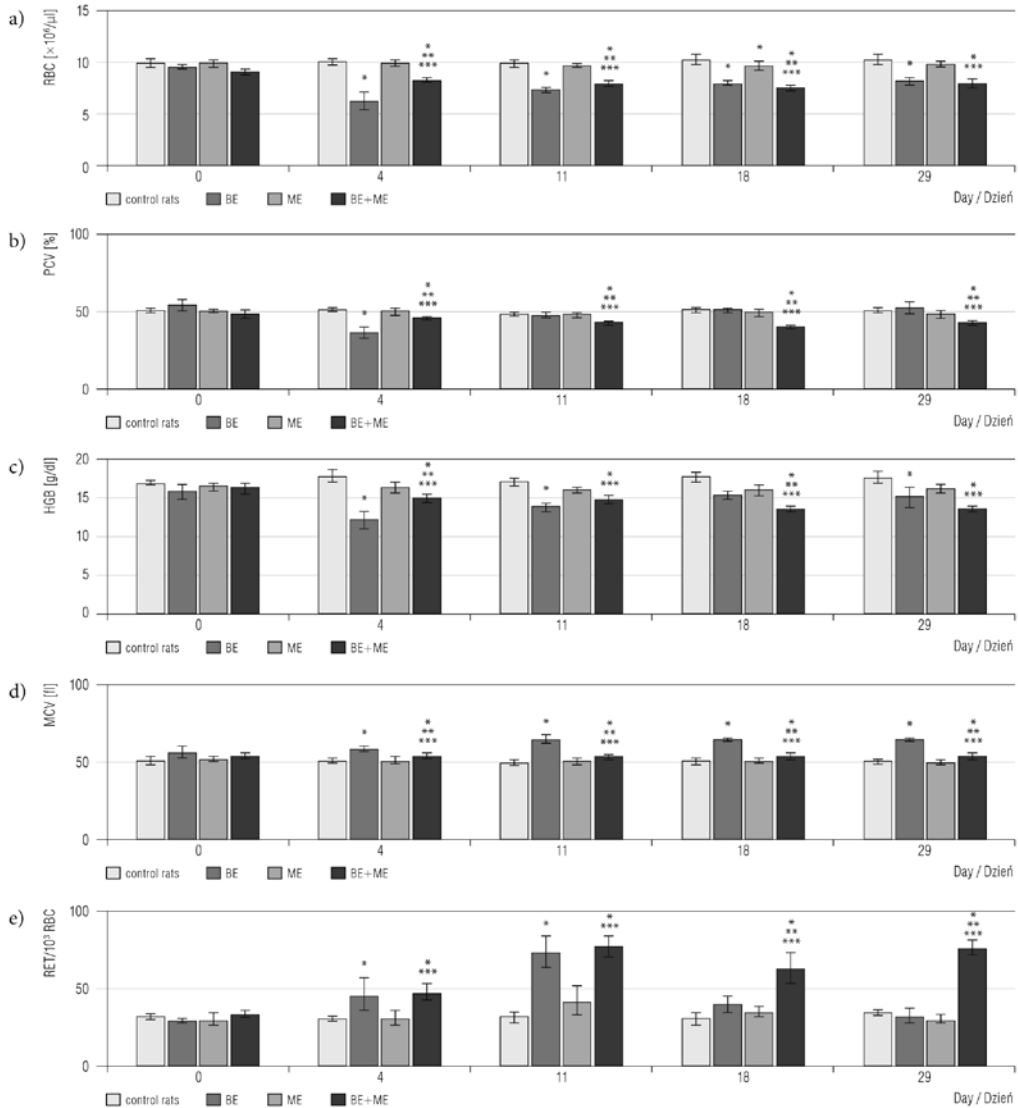
2-부톡시에탄올(0.75 mM/kg/day)을 단독 주입한 경우 WBC의 변화는 없었으나, lymphocyte (LYM)는 실험 11, 18, 29일째 감소 되는 경향을 보였다. 2-메톡시에탄올(0.75 mM/kg/day)을 단독 처리한 경우 WBC, LYM는 의미 있는 변화를 보이지 않았다. 2-부톡시에탄올(0.75 mM/kg/day)과 2-메톡시에탄올(0.75 mM/kg/day)을 동시에 주입하였을 경우 2-부톡시에탄올(0.75 mM/kg/day)을 단독으로 주입하였을 때 보다 LYM가 상승하였다.(그림 5 참조)

2-부톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)을 단독 주입한 경우 WBC, LYM가 감소되는 경향을 보였으며, 2-메톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)을 단독 처리한 경우 역시 WBC, LYM가 감소되는 경향을 보였다. 2-부톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)과 2-메톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)을 동시에 주입한 경우에는 WBC, LYM의 의미 있는 변화는 보이지 않았다.(그림 6)

2-메톡시에탄올(0.75 mM/kg/day)을 단독 처리한 경우에는 WBC, LYM의 변화는 보이지 않았다. 2-부톡시에탄올(0.75 mM/kg/day)과 2-메톡시에탄올(0.75 mM/kg/day)을 동시에 주입하였을 경우 2-부톡시에탄올을 단독처리 하였을 경우와 비교하여 실험 18일째 LYM의 상승을 보였다.(그림 7)

2-메톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)을 단독 주입하였을 경우 WBC, LYM가 대조군과 비교하여 감소하였다. 2-부톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)과 2-메톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)을 동시에 주입하였을 때 WBC의 변화는 보이지 않았다.(그림 8)

〈그림 1〉



RBC - red blood cells / czerwone krwinki, PCV - packed cell volume / hematokryt, HGB - hemoglobin / hemoglobina, MCV - mean corpuscular volume of red blood cell / średnia objętość krwinki czerwonej, RET - reticulocytes / retikulocyty.

$p \leq 0.05$ significantly different / istotnie różny:

* from control rats / w stosunku do grupy kontrolnej,

** from rats treated with BE alone / w stosunku do grupy narażonej tylko na BE,

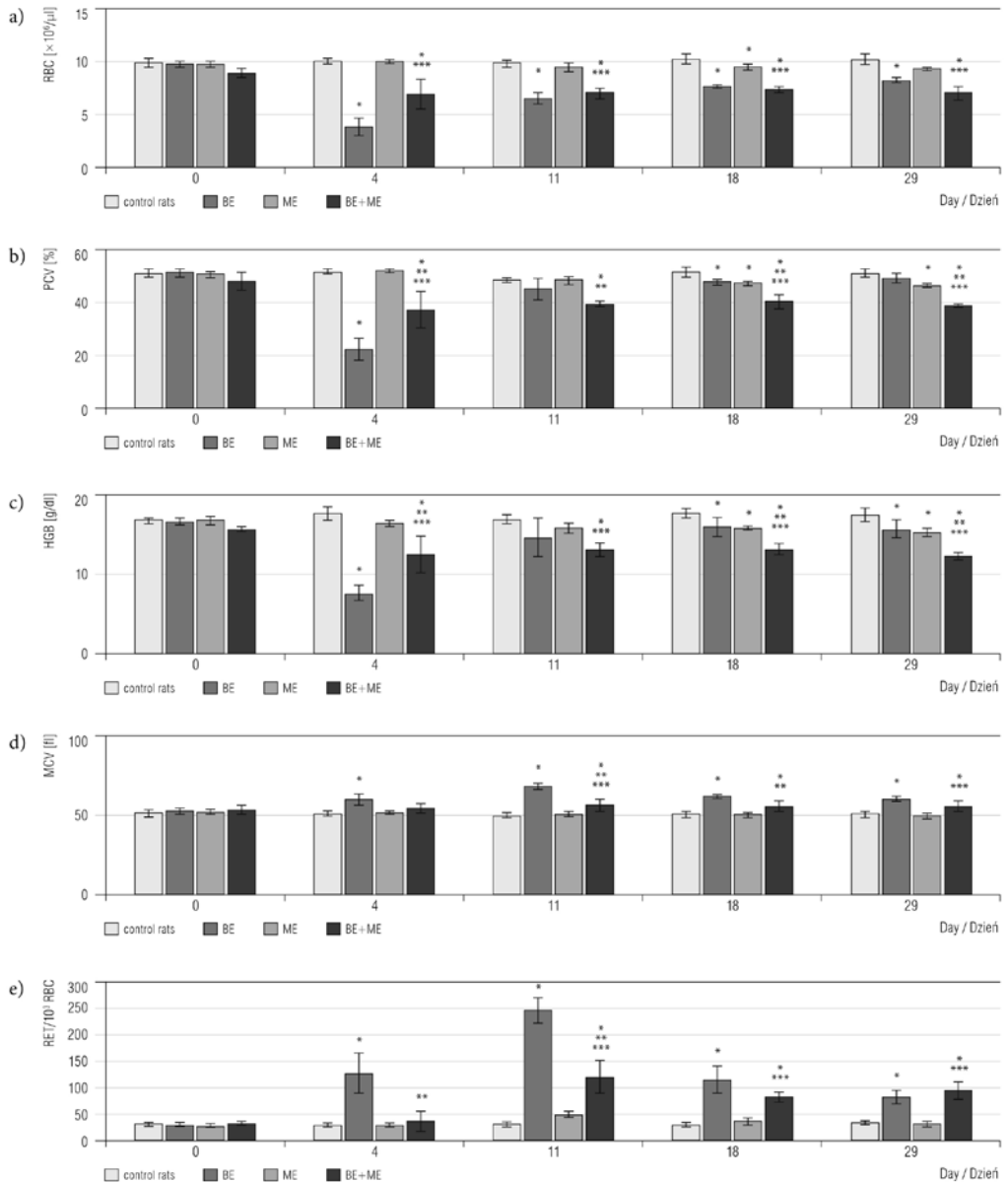
*** from rats treated with ME alone / w stosunku do grupy narażonej tylko na ME.

The values are the means \pm standard deviation of 5 rats / Wartości przedstawiono jako średnią arytmetyczną \pm odchylenie standardowe dla 5 szczurów.

Fig. 1. The effects of combined exposure to 2-butoxyethanol (BE) and 2-methoxyethanol (ME) in the doses of 0.75 mM/kg b.w. on: a) RBC, b) PCV, c) HGB, d) MCV, e) RET values in peripheral blood in male rats

Ryc. 1. Wpływ łącznego narażenia na 2-butoksyetanol (BE) i 2-metoksyetanol (ME) w dawkach 0,75 mM/kg m.c. na: a) RBC, b) PCV, c) HGB, d) MCV, e) RET we krwi obwodowej samców szczurów

〈그림 2〉

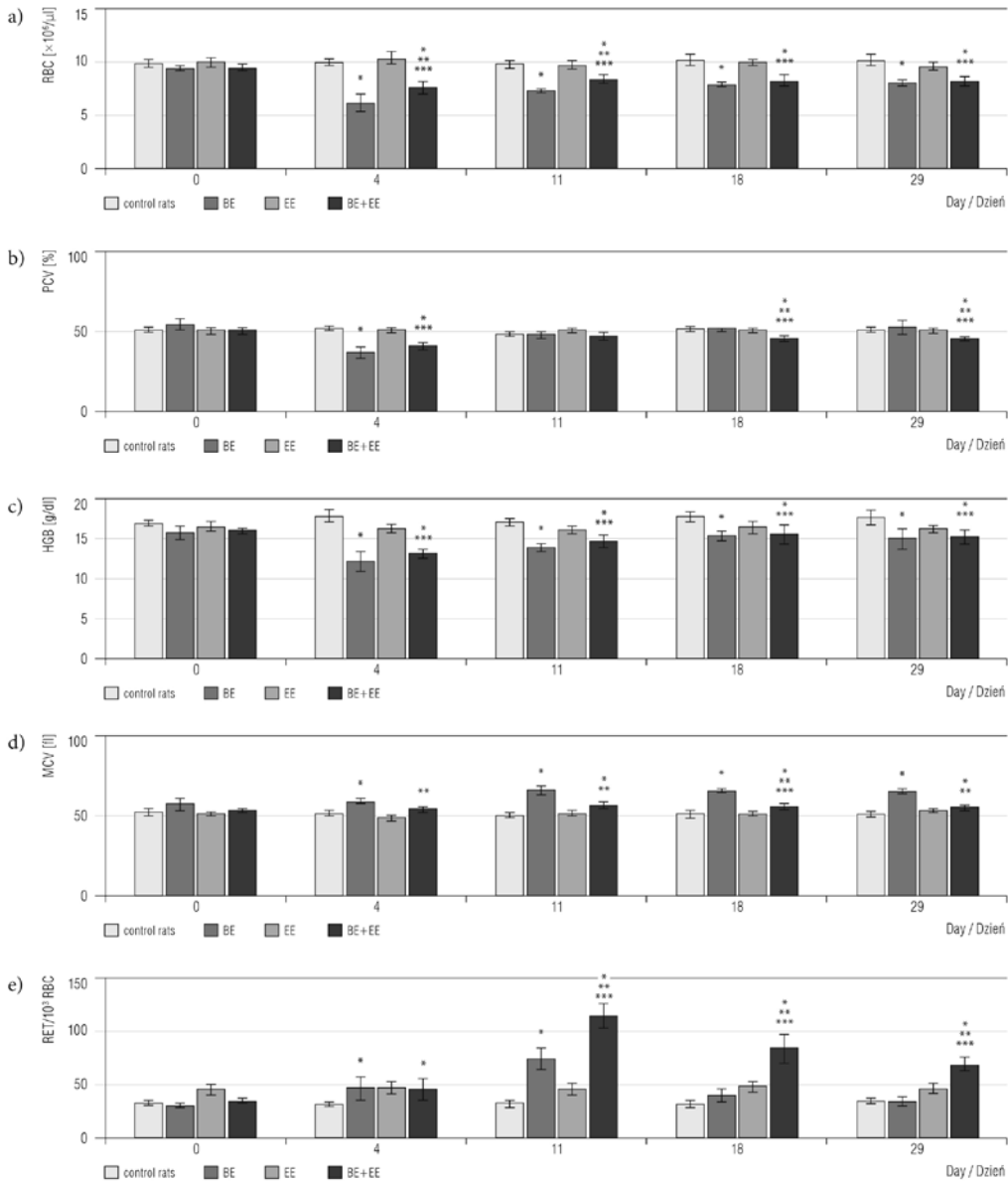


Abbreviations as in Figure 1 / Objaśnienia jak na rycinie 1.

Fig. 2. The effects of combined exposure to BE and ME in the doses of 1.25 mM/kg b.w. on: a) RBC, b) PCV, c) HGB, d) MCV, e) RET values in peripheral blood in male rats

Ryc. 2. Wpływ łącznego narażenia na BE i ME w dawkach 1,25 mM/kg m.c. na: a) RBC, b) PCV, c) HGB, d) MCV, e) RET we krwi obwodowej samców szczurów

<그림 3>

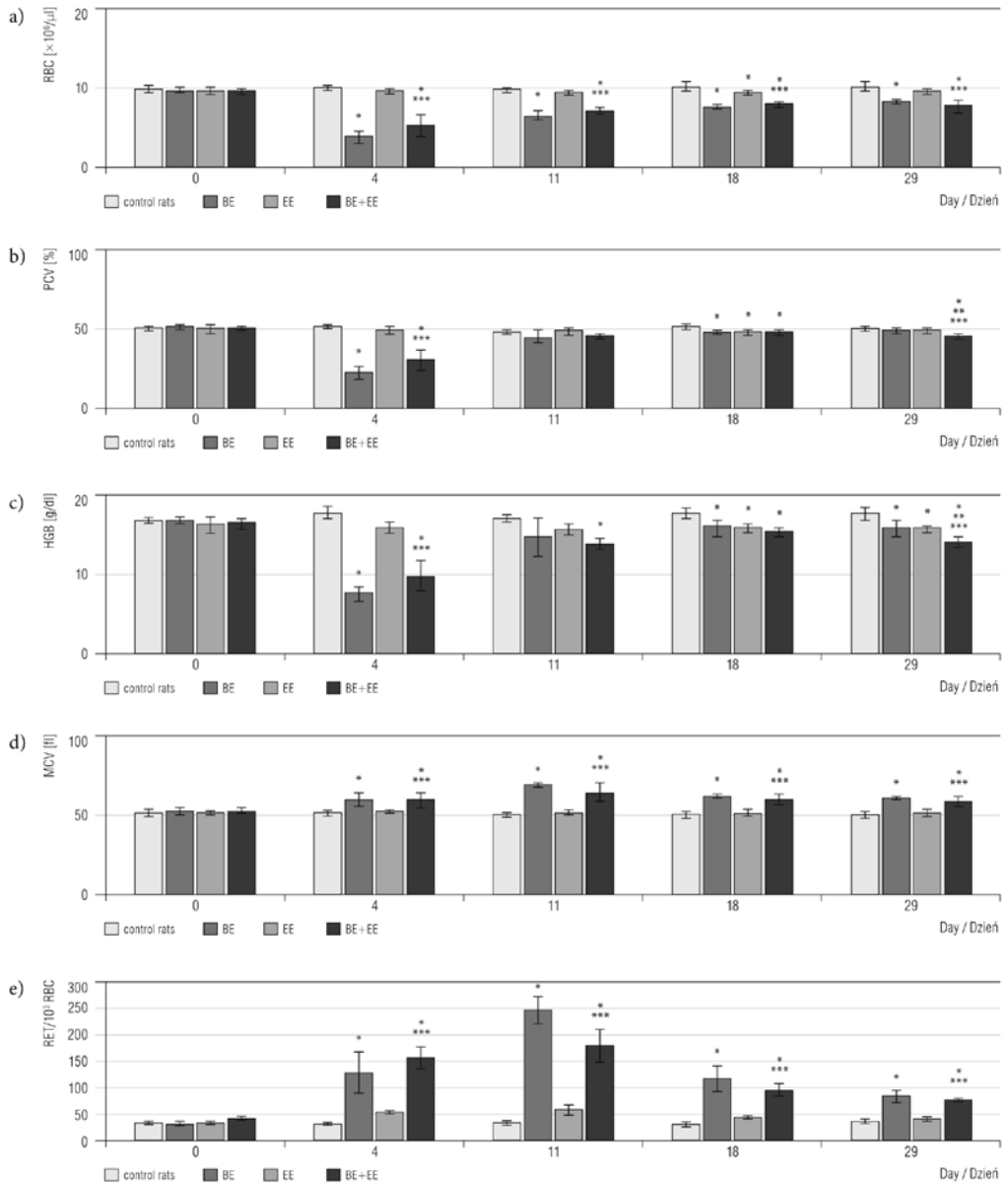


*** from rats treated with EE alone / w stosunku do grupy narażonej tylko na EE.
Other abbreviations as in Figure 1 / Inne objaśnienia jak na rycinie 1.

Fig. 3. The effects of combined exposure to BE and 2-ethoxyethanol (EE) in the doses of 0.75 mM/kg b.w. on: a) RBC, b) PCV, c) HGB, d) MCV, e) RET values in peripheral blood in male rats

Ryc. 3. Wpływ łącznego narażenia na BE i 2-etoksyetanolu (EE) w dawkach 0,75 mM/kg m.c. na: a) RBC, b) PCV, c) HGB, d) MCV, e) RET we krwi obwodowej samców szczurów

〈그림 4〉

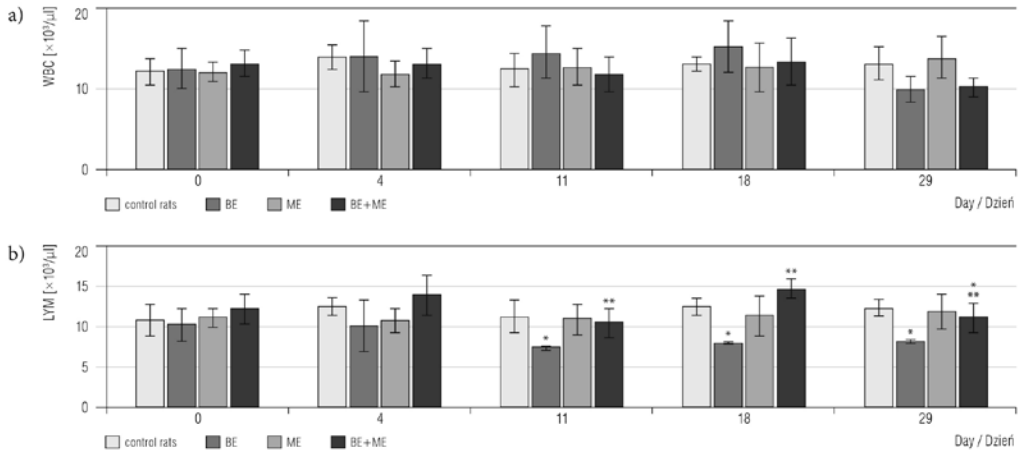


Abbreviations as in Figure 1 and 3 / Objasnienia jak na rycinie 1 i 3.

Fig. 4. The effects of combined exposure to BE and EE in the doses of 1.25 mM/kg b.w. on: a) RBC, b) PCV, c) HGB, d) MCV, e) RET values in peripheral blood in male rats

Ryc. 4. Wpływ łącznego narażenia na BE i EE w dawkach 1,25 mM/kg m.c. na: a) RBC, b) PCV, c) HGB, d) MCV, e) RET we krwi obwodowej samców szczurów

〈그림 5〉

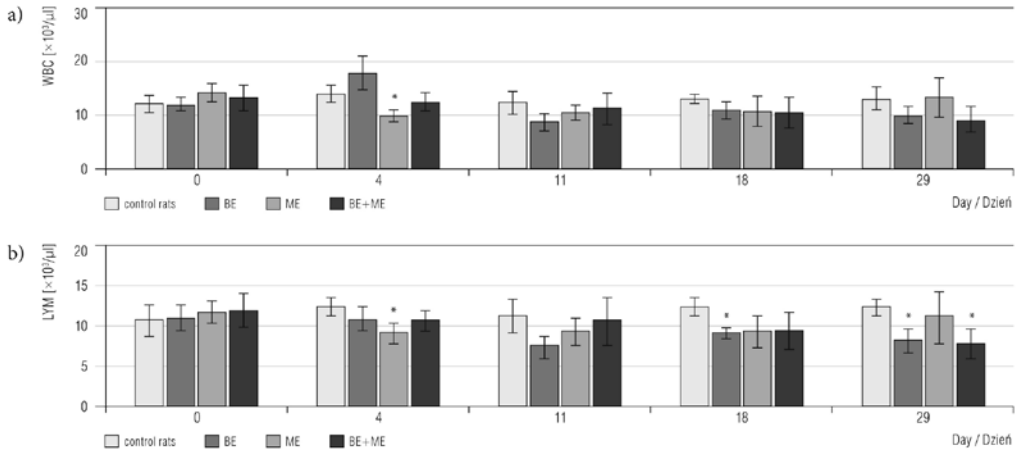


WBC – white blood cells / białe krwinki, LYM – lymphocytes / limfocyty.
Other abbreviations as in Figure 1 / Inne objaśnienia jak na rycinie 1.

Fig. 5. The effects of combined exposure to BE and ME in the doses of 0.75 mM/kg b.w. on: a) WBC, b) LYM values in peripheral blood in male rats

Ryc. 5. Wpływ łącznego narażenia na BE i ME w dawkach 0,75 mM/kg m.c. na liczbę: a) WBC, b) LYM we krwi obwodowej samców szczurów

〈그림 6〉

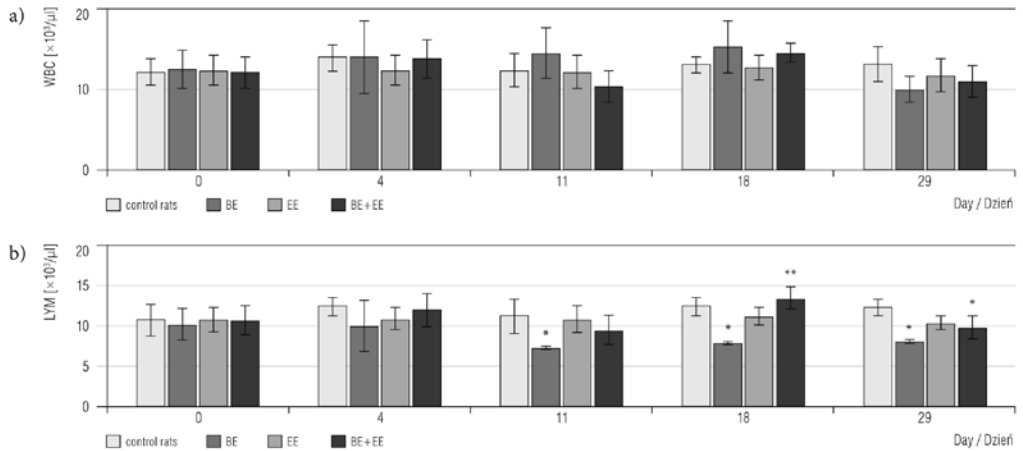


Abbreviations as in Figure 1 and 5 / Objaśnienia jak na rycinie 1 i 5.

Fig. 6. The effects of combined exposure to BE and ME in the doses of 1.25 mM/kg b.w. on: a) WBC, b) LYM values in peripheral blood in male rats

Ryc. 6. Wpływ łącznego narażenia na BE i ME w dawkach 1,25 mM/kg m.c. na liczbę: a) WBC, b) LYM we krwi obwodowej samców szczurów

〈그림 7〉

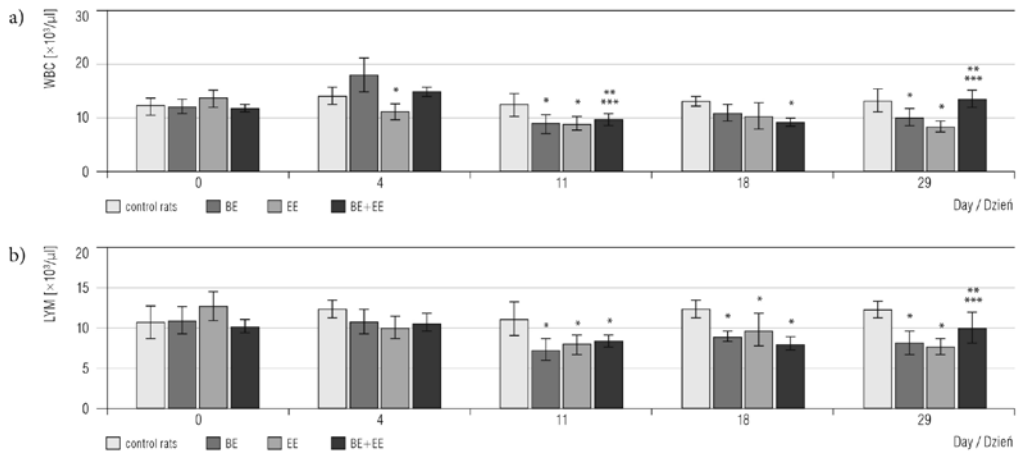


Abbreviations as in Figure 1, 3 and 5 / Objaśnienia jak na rycinie 1, 3 i 5.

Fig. 7. The effects of combined exposure to BE and EE in the doses of 0.75 mM/kg b.w. on: a) WBC, b) LYM values in peripheral blood in male rats

Ryc. 7. Wpływ łącznego narażenia na BE i EE w dawkach 0,75 mM/kg m.c. na liczbę: a) WBC, b) LYM we krwi obwodowej samców szczurów

〈그림 8〉



Abbreviations as in Figure 1, 3 and 5 / Skróty i objaśnienia jak na rycinie 1, 3 i 5.

Fig. 8. The effects of combined exposure to BE and EE in the doses of 1.25 mM/kg b.w. on: a) WBC, b) LYM values in peripheral blood in male rats

Ryc. 8. Wpływ łącznego narażenia na BE i EE w dawkach 1,25 mM/kg m.c. na liczbę: a) WBC, b) LYM we krwi obwodowej samców szczurów

Discussion

에틸렌글리콜에테르는 동물과 사람에게서 혈액학적 독성이 알려져 있다. 그 중 탄소 사슬의 길이가 짧은 2-부톡시에탄올, 2-에톡시에탄올, 2-메톡시에탄올이 RBC, PCV, HGB와 말초혈액의 WBC, LYM에 어떤 영향을 주는지 확인해 보고자 하는 것이 본 연구의 목적이었다.

이러한 에테르는 0.75 mM/kg/day와 1.25 mM/kg/day의 농도에서 RBC, PCV, HGB, WBC, LYM, MCV, RET의 변화를 야기하였다. 특히나 RBC, PCV, HGB, MCV, RET는 시험 시작 초기부터 변화를 보였고, 계속적으로 감소되거나 상승(MCV, RET)하였다.

LYM는 시험 후반(18일, 29일)에 의미 있는 감소를 보였다. 더욱이 2-부톡시에탄올(1.25 mM/kg/day)은 용혈의 지표인 요 중 헤모글로빈의 농도가 주입 초기에 높게 측정 되었다. 이것은 실험 초기에 말초 혈액에 다른 변화가 나타나지 않았기 때문에 적혈구만을 선택적으로 용혈시켜 나타난 결과로 추측해 볼 수 있다. 2-부톡시에탄올과 2-메톡시에탄올을 동시에 주입하였을 경우에 초기(실험 4일 이내)에는 2-부톡시에탄올을 단독으로 처리 하였을 경우 보다 혈액학적 독성이 감소 되어 나타나는 경향을 보이고 있으나 후반(실험 11일, 29일)으로 갈수록 혈액학적 변화가 확연하게 나타난다. 에틸렌글리콜에테르는 분자 구조상 지방친화성과 친수성을 가지고 있으며, 2-부톡시에탄올은 지방친화성이 더 높으나 2-에톡시에탄올과 2-메톡시에탄올은 친수성 성질을 더 많이 가지고 있다. 이러한 분자적 특징으로 흡수 양과 속도에 영향을 줄 수 있다. 피부의 진피 기저층에는 에틸렌글리콜에테르를 대사 시킬 수 있는 효소를 가지고 있다고 알려져 있으나 대부분 간에서 대사 된다고 알려져 있다. 주된 대사 경로는 간에서 alcohol dehydrogenase 와 aldehyde dehydrogenase에 의해 acetic acid로 산화 되어 독성을 나타낸다고 알려져 있다. 부톡시아세틱 에시드는 glucuronic acid 와 sulfate와 결합되어 대사 되나 메톡시아세틱 에시드는 glicine과 결합되어 대사된다.

생체 내에서 acetic acid로 대사 되는 속도는 2-부톡시에탄올이 2-에톡시에탄올과 2-메톡시에탄올에 비해 탄소 사슬의 길이가 길어서 더 빠르게 진행 된다고 알려져 있다. 따라서 비슷한 농도의 2-부톡시에탄올, 2-에톡시에탄올, 2-메톡시에탄올이 존재 할 경우 2-부톡시에탄올의 중간 대사물이 더 낮은 농도에서 포화상태에 이르게 된다.

그 결과 부톡시아세틱 에시드는 생체 내에서 축적이 이루어 지지 않지만 에톡시아세틱 에시드나 메톡시아세틱 에시드는 축적되어 질 수 있다. 2-에톡시에탄올과 2-메톡시에탄올은 2-부톡시에탄올이 부톡시아세틱 에시드로 대사되는 활성을 저해하여 초기 독성이 떨어져 나타나는 것으로 추측해 볼 수 있다. 