

# 클로로포름이 白鼠臟器의 酵素活性에 關한 研究

慶熙大學校 藥學大學

田 丙 三 · 許 鈴

## Studies on Effects of Chloroform to the Tissue Lactic Dehydrogenase and Glutamic Dehydrogenase Activities of Rats.

College of Pharmacy, Kyung Hee University

Byung Sam Chun · Kum Haw

### =Abstract=

1. The effects of chloroform to the tissue lactic dehydrogenase (LDH) activities and its isozymes and to the tissue glutamic dehydrogenase (GDH) activities and its isozymes are studied using the experimental albino male adult rats in this paper. The tissues studies are liver, kidney, heart, and brain. Besides the control group, two experimental groups are studied providing succeedingly 4 days interpariental administrations of chloroform, 0.0025 ml and 0.025 ml per day respectively. The changes of body weights, weights of organs, activities of GDH and LDH and their isozymes of each tissues, are analysed.
2. The body weights of rats are decreased due to the chloroform administration.
3. There are no significant differences of weights of organs due to the chloroform administration.
4. The significant decreases of tissue GDH activities and the significant changes in percent distribution of the GDH isozymes are found due to the chloroform administration. This weight be interpreted that chloroform effects to the protein and amino acid metabolism of rats.
5. Due to the chloroform administration, the significant changes in tissue LDH activities and in percent distribution of tissue LDH isozymes indicating the decreases of LDH<sub>1</sub> which is the aerobic heart type and the increase of LDH<sub>5</sub> which is the anaerobic muscle type, are observed. This could be estimated that chloroform effects to the carbohydrate metabolism, particularly to the anaerobic glycolysis of rats.

### I. 緒 論

最近 Chloroform 이 各種 産業에 溶劑로 使用되고 있는 바, 이는 強力하게 蛋白質을 凝集시키는 化合物로서 過量 吸入 하거나 服用하면 心臟, 腎臟 및 肝臟, 腦等 各 臟器의 機能低下를 誘發시키는 것은 既知의 事實로서 Chloroform 이 生體內에서 代謝過程에 어떠한 影響을 미치는 가를 究明코져 本實驗에 着手하였다.

近來 各種 分析法 特히 電氣泳動法의 發達에 따라 酵素分子의 物理的 化學的 特性에 對하여 研究되고 있으며 또한 그 Multiple form 을 分離하고 그 特性을 究明하는 등 一連의 研究가 活潑하게 進行되었다.<sup>1-28)</sup>

文獻에 依하면 生體內에 生理學的 病理學的 變化가 생겼거나 有害環境에 露出되거나 藥物을 過用 및 注入 하였을 때 가장 敏感하게 初期에 變하는 것이 酵素의 活性이라 할 수 있다. Allen<sup>29)</sup>은 諸般 生理學的 條件의 變化에 따르는 LDH isozyme band 와 活性의 變化를, 그리고 Withycombs<sup>30)</sup>은 Urea 의 濃度에 따르는 LDH 活性의 抑制, Buckley 등<sup>31)</sup>과 權<sup>32)</sup>은 各各 一酸化窒素와 亞黃酸 가스에 露出되었을 때의 各 臟器內 LDH 活性 및 isozyme pattern 에 異常이 생긴다고 하였다.

Kilroe-Smith<sup>33)</sup>은 硅酸粉塵에 露出時 Succinodehydrogenase 와 Succinozidase 活性은 上昇되며, Cytochrom C 酸化는 抑制된다고 하였다.

Kochakian 등<sup>34)</sup>은 Androgen을注入하였을 때 Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)와 Glutamic pyruvic transaminase (GPT)는注入량과並行하여 그活性이上昇하는 同時에 肝臟과 腎臟의 Glutamic dehydrogenase (GDH) 活性은 rat에서는 變化가 생겼지만 mouse에서는 異常이 없었다고 하였다. Takiguchi 등<sup>35)</sup>은 Vitamin C를 guinea pig에 注射할 때 Lactic dehydrogenase (LDH) 活性과 Isozyme pattern의 變化樣相에 對하여 報告한 바 있다.

著者 등은 今般 Chloroform을 吸入하거나 또는 投與되었을 때에도 上記한 바와 같이 LDH, GDH 등 各種 酵素에 影響이 있으리라 생각되어 우선 實驗動物로서 雄白鼠를 써서 Chloroform을 腹腔內에 一定量을 四日間 繼續 注入하고 肝臟, 腎臟, 心臟 및 腦를 摘出하여 各 臟器의 GDH의 活性 및 그 Isozyme, LDH의 活性 및 그 Isozyme을 調査하였기에 이에 報告하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 가. 材料

#### 1. 實驗動物

體重 120~150 g의 實驗用 雄白鼠를 對象으로 하여 實驗開始前에 個別筒에 넣고 實驗室에서 10日間 環境에 適應시킨 後에 實驗에 供하였다.

#### 2. 實驗

上記한 環境에 適應시킨 雄白鼠를 各 實驗群에 6匹 式 三群으로 하여 第一群은 對照群으로 하고 나머지 實驗 第 I 群 및 實驗 第 II 群으로 하여 實驗 第 I 群은 實驗動物 體重 100 g에 對하여 0.25 V/V% Chloroform 水溶液 1 ml (0.025 ml의  $\text{CHCl}_3$ 에 該當함)를, 實驗 第 II 群은 實驗動物 體重 100 gm에 對하여 2.5 V/V% Chloroform 水溶液 1 ml (0.025 ml의  $\text{CHCl}_3$ 에 該當함)를 腹腔內에 每日 아침 空腹時에 四日間 注入하였다. 實驗期間동안 實驗動物에는 充分한 飼料과 물을 주었으며 飼料은 每日 Chloroform 注入後 一時間 後에 주었다. 2.5 V/V% Chloroform 水溶液은 Chloroform이 물에 잘 混合되지 않기 때문에 95% 에칠알콜 2.5 ml를 2.5 V/V% Chloroform 水溶液 100 ml에 對하여 混合補助劑로서 使用하였고 0.25 V/V% Chloroform 水溶液에도 이에 該當하는 95% 에칠알콜을 追加하였다.

對照群에 對하여서 實驗期間동안 上記한 Chloroform 水溶液代身에 每日 0.9 W/V% Saline을 實驗動物 體重 100 g 당 1 ml 式 腹腔內에 實驗群과 같이 注入하였다.

### 3. 臟器 組織試液의 調製

上記한 各群은 4日間 實驗한 다음 그날 저녁에 飼料을 주지 않고 一夜 둔 다음 5日째 되는 아침에 實驗動物을 固定시키고 開腹하여 頸動脈으로부터 血液을 採取한 後 直時 肝臟, 腎臟, 心臟 및 腦를 摘出秤量하고 各 臟器에 附着되어 있는 組織液 및 血液을 5°C로 冷却시킨 再蒸溜水로 洗滌한 다음 1°C~3°C의 冷凍室에서 上記 組織을 臟器別로 硝子製 Homogenizer (Fisher製)로서 完全히 研磨하고 0.25 M Sucrose를 加하여 20 W/V% 組織 試液으로 調製하였다. 各 組織試液中の 組織殘渣와 細胞核을 除去하기 爲하여 冷凍遠心分離 (Model PR-Z International Equipment Co.)로서 6000 rpm로 10分間 遠心分離하여 그 上澄液을 取하고 이 中에서 Mitochondria를 除去하기 爲하여 再次 冷凍遠心分離器로서 12000 rpm로 30分間 遠心分離하여 上澄液을 取해서 臟器組織試液으로 하고 4°C 冷凍庫에 保管하였다. 이 試液에 對하여 組織蛋白質을 定量한 다음 GDH의 活性과 그 Isozymogram, LDH의 活性과 그 Isozymogram을 測定하였다.

#### 나. 實驗方法

##### 1. 組織 蛋白質의 定量

蛋白質 定量은 Lowry 등<sup>36)</sup>의 方法을 利用하였다. 即 各 試液 1.0 ml에 同法에 依하여 調製한 알칼리性 銅溶液 5.0 ml를 加하여 充分히 混合하고 正確히 10分間 室溫에서 放置한 後에 따로 同法에 依하여 調製한 Folin-Ciocalteu 試藥을 0.5 ml 加하여 2秒以內에 迅速히 混合하여 室溫에서 30分間 放置한 다음 發色되는 靑色の 檢體를 光電比色計 (Spectronic 20, Bausch & Lomb Co.)를 使用하여 750  $\mu$  波長에서 Optical density를 測定하여 比色 定量했다. 한편 蛋白質 定量的 標準溶液은 Bovine serum albumin (Micael reese foundation製)를 使用하여 標準曲線을 作成한 後 各 組織試液 1 ml에 對한 蛋白質의 mg를 求하였다.

##### 2. Glutamic Dehydrogenase (GDH)의 活性測定 및 그 Isozyme의 調査

8 ml cuvet에 0.1 M-Glycine buffer (pH 10) 4.2 ml를 넣고 基質로서 1M-Glutamic acid 0.5 ml와 coenzyme인 0.02M-Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD-oxidized form) 0.2 ml를 迅速히 混合하여 波長 340  $\mu$ 에서 1分間(15秒間隔)의 optical density의 變化를 光電比色計로 記錄하였다. 酵素活性(turn over number)은 1分間에 組織試液 1 ml에 比例하여 還元되는 NAD (reduced form)을 M(mole)로 定義하였으며 計算은 molecular extinction coefficient ( $6.22 \times 10^3$ )으로

나누어 NAD를  $\mu\text{M}$  單位로서  $\mu\text{M}/\text{min}/\text{ml}$  와 같이 表示하고 比較活性度는  $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  로 表示하였다.<sup>39)</sup>

또한 GDH isozyme 은 Cellulose acetate (Sephaphore III Gelman instrument Co.) strip 을 使用하여 電氣迅速泳動分離法으로 分離하였다.<sup>24)</sup> 即 約 7.5 cm 의 顯微鏡 슬라이드 위에 Barbitol barbituric acid buffer (pH. 8.6)로 充分히 적신 길이 8.0 cm 의 Cellulose acetate strip을 泳動裝置(Model R-Series D Beckman Co.)에 올려 놓고 組織試液 0.08 ml을 applicator로 strip의 中間에 滴加한 後 一個 strip에 1.5 mA의 電流를 直流電壓調節器(Duostat, Model RD, Beckman Co.)를 써서 250 V로 調節하여 通過시켰다. 90 分間의 電氣泳動分離가 끝난 다음 染色試液으로 完全히 크기가 같은 Cellulose acetate strip을 따로 準備하였다가 電氣泳動이 끝난 strip 위에 덮고 濕氣로 飽和된 時計 접시속에 넣어 37°C 恒溫器속에서 30 分間 放置한 다음 發色된 strip을 固定液속에 約 15 分間 담근 後 顯微鏡用 슬라이드상에 固定하여 濾過紙로 水分을 吸引하고 室溫에서 乾燥시켰다. 乾燥된 슬라이드는 densitometer (analytical, Beckman Model RB)로서 Isozymogram을 그린 다음 Planimeter (Gelman Model)로 各 band의 面積을 測定하여 百分率로 換算하였다.

이 때 使用한 染色試液은 다음과 같다.

1M Glutamic acid	1.0 ml
Nitro blue Tetrazolium (1 mg/ml)	3.0 ml
Phenazine methosulfate (mg/ml)	0.3 ml
B-NAD <sup>+</sup> (DPN) (1 mg/10 ml)	10.0 mg

Table 1. Changes of Body Weight of Rats due to the Chloroform Administration

Body weight	(g)			(Mean±S.Em)
	Initial weight	Final weight	Difference of body weight	
Control	135.2±3.7	141.2±3.4	5.4±3.4	
Experimental G. I (0.25% CHCl <sub>3</sub> )	136.0±5.8	139.7±4.6	3.7±2.2	
Experimental G. II (2.5% CHCl <sub>3</sub> )	129.7±3.2	124.5±6.2	-3.5±3.3	

Table 2. Weight of Organs due to Chloroform Administration

Organ	(g)				(Mean±S.Em)
	Liver	Kidney	Heart	Brain	
Control	5.60±0.40	0.90±0.30	0.50±0.05	1.20±0.02	
Experimental G. I (0.25% CHCl <sub>3</sub> )	5.30±0.40	1.00±0.03	0.60±0.06	2.50±0.09	
Experimental G. II (2.5% CHCl <sub>3</sub> )	4.70±0.20	0.90±0.10	0.50±0.02	1.40±0.10	

以上을 混合하여 染色試液으로 하였다. 이 染色試液은 使用時마다 새로 調製하였다.

### 固定試藥

Methanol 50 ml, 再蒸溜水 40 ml 및 冰醋酸 10 ml를 混合한 溶液을 使用하였다.

### 3. Lactic Dehydrogenase (LDH)의 活性測定 및 그 Isozyme의 調査

前項의 GDH 活性 測定方法과 Isozyme 電氣泳動分離方法과 同一하고 單只 基質로서 Glutamic acid 代身 1M-Sodium lactate로 使用하였다.<sup>39)</sup>

## III. 實驗成績

### 가. 實驗動物의 體重 및 各 臟器의 重量

對照群과 各 實驗群에 있어서 Chloroform 處理 前後의 體重은 第1表와 같다.

實驗前의 體重은 平均 129.7이었으며 Chloroform 處理後의 體重差는 對照群에서 5.4±3.4 g, 實驗 第 I 群은 3.7±2.2 g로 各各 增加되었으나 實驗 II 群에서는 3.5±3.3 g이 減少하였다.

한편 各 臟器의 重量은 第2表와 같다.

### 나. 組織蛋白質의 定量成績

各 臟器 組織중에 含有되어 있는 溶解性 蛋白質의 量은 20 W/V%의 臟器組織試液中の 蛋白質의 量으로서 第3表와 같다.

### 다. GDH의 活性測定 및 그 Isozyme의 調査

各 組織試液에 對한 GDH의 活性을 測定한 成績은 第4表와 같으며 對照群 各 臟器의 活性은 心臟에 8.4,

**Table 3. Protein Content of Organs (Soluble Protein) (mg/1ml of 20 W/V% Tissue Sample Soln.)**

(Mean±S.Em)

Group \ Organ	Liver	Kidney	Heart	Brain
Control	41.6±1.5	36.0±2.2	25.6±0.2	18.9±1.7
Experimental G. I (0.25% CHCl <sub>3</sub> )	43.8±0.5	31.3±0.5	33.1±1.2	15.2±2.4
Experimental G. II (2.5% CHCl <sub>3</sub> )	43.2±2.8	32.6±2.8	29.1±3.1	13.3±0.8

**Table 4. Glutamic Dehydrogenase Activity of Tissue ( $\mu\text{M } 10^{-2}/\text{min/ml}$  of 20 W/V% Tissue Sample Soln.)**

(Mean±S.Em)

Group \ Organ	Liver	Kidney	Heart	Brain
Control	4.7±0.7	5.6±0.6	8.4±1.6	4.7±0.7
Experimental G. I (0.25% CHCl <sub>3</sub> )	3.5±0.2	4.0±0.3	9.8±1.6	5.4±0.2
Experimental G. II (2.5% CHCl <sub>3</sub> )	2.5±0.4	2.6±0.8	2.7±0.4	0.6±0.04

**Table 5. Glutamic Dehydrogenase Isozymogram of Liver Tissue**

Group \ Item \ Band	GDH <sub>1</sub>	GDH <sub>2</sub>	GDH <sub>3</sub>	GDH <sub>4</sub>	Total	
Percent Distribution	Control	57.7	19.2	14.4	8.7	100.0
	Experimental G. II (0.25% CHCl <sub>3</sub> )	41.4	29.3	29.9	0.0	10.0
Activity ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ ) $\times 10^{-4}$	Control	6.58	2.19	1.64	0.99	11.4
	Experimental G. II (2.5% CHCl <sub>3</sub> )	2.36	1.67	1.67	0.00	5.7

**Table 6. Lactic Dehydrogenase Activity of Tissue ( $\mu\text{M } 10^{-2}/\text{min/ml}$ )**

(Mean±S.Em)

Group \ Organ	Liver	Kidney	Heart	Brain
Control	21.8±2.5	21.5±1.3	22.9±0.9	19.3±1.0
Experimental G. I (0.25% CHCl <sub>3</sub> )	16.4±1.9	17.0±1.9	24.9±1.8	16.5±2.2
Experimental G. II (2.5% CHCl <sub>3</sub> )	13.3±0.7	13.0±0.1	26.6±5.0	21.2±0.2

간臟에서 4.7, 腎臟에서 5.6, 腦에서 4.7,  $\mu\text{M}10^{-2}/\text{min/ml}$  of 20 W/V% Tissue sample solution 이었고 0.25% Chloroform의 實驗 第 I 群의 各 臟器의 活性은 肝臟에서 3.5, 腎臟에서 4.0, 心臟에서 9.8, 腦에서 5.4 이었으며 2.5% Chloroform의 實驗 第 II 群의 各 臟器의 活性은 肝臟에서 2.5, 腎臟에서 2.6, 心臟에서 2.7, 腦에서 0.6 이었다.

또한 各 臟器組織試液을 가지고 GDH의 Isozyme을 電氣迅速泳動法에 의하여 Isozymogram을 對照群과 實驗 第 II 群에 對하여 調査한 바는 第 5 表와 같으며 對

照群에 있어 GDH의 Isozyme의 分布는 GDH<sub>1</sub>이 7.7, GDH<sub>2</sub>가 19.2, GDH<sub>3</sub>이 14.4%, GDH<sub>4</sub>가 8.7%였으며 實驗 第 II 群에 있어서는 GDH<sub>2</sub>이 41.4%, GDH<sub>3</sub>가 29.3, GDH<sub>4</sub>이 29.3%였을 뿐이었다.

**라. LDH의 活性測定 및 그 Isozyme의 檢査**

各 組織試液에 對한 LDH의 活性을 測定한 成績은 第 6 表와 같으며 對照群 各 臟器의 活性은 肝臟에서 21.8, 腎臟에서 21.5, 心臟에서 22.9, 腦에서 19.3  $\mu\text{M } 10^{-2}/\text{min/ml}$  of 20 W/V% Tissue sample soln 이었고 0.25% Chloroform의 實驗 第 I 群의 各 臟器의 活性

Table 7. Lactic Dehydrogenase Isozymogram of Tissues

Item	Organ	Group	Band					Total
			LDH <sub>1</sub>	LDH <sub>2</sub>	LDH <sub>3</sub>	LDH <sub>4</sub>	LDH <sub>5</sub>	
Percent Distribution (%)	Liver	Control	1.2	7.3	3.1	28.1	60.3	100.0
		Experimental G. II	0.5	1.8	3.7	20.0	74.0	100.0
	Kidney	Control	18.6	13.1	14.8	20.5	33.0	100.0
		Experimental G. II	12.2	12.6	9.0	23.3	42.9	100.0
	Heart	Control	31.9	24.8	12.2	17.9	13.2	100.0
		Experimental G. II	21.2	26.7	17.5	14.3	20.3	100.0
	Brain	Control	20.1	19.5	16.0	23.2	21.2	100.0
		Experimental G. II	12.0	12.0	20.6	37.6	17.8	100.0
Activity ( $\mu\text{M } 10^{-2}/\text{min/mg}$ )	Liver	Control	0.66	4.04	1.75	15.60	33.53	55.6
		Experimental G. II	0.16	0.56	1.13	6.15	22.78	30.8
	Kidney	Control	11.33	7.98	9.01	12.48	20.00	60.9
		Experimental G. II	4.87	5.03	3.59	9.30	17.12	39.9
	Heart	Control	28.52	22.17	10.91	16.00	11.80	89.4
		Experimental G. II	15.14	19.06	12.42	10.29	14.49	71.4
	Brain	Control	21.15	20.51	16.41	24.62	22.51	105.2
		Experimental G. II	17.70	17.70	30.55	55.76	26.39	148.3

Table 8. Changes of Organ Weight of Rats injected the Chloroform (g/100g of body weight)

Group	Organ	Liver	Kidney	Heart	Brain
	Control		4.01	0.59	0.36
Experimental G. I (0.25% CHCl <sub>3</sub> )		3.79	0.71	0.43	1.03
Experimental G. II (2.5% CHCl <sub>3</sub> )		3.04	0.72	0.43	1.12

은 肝臟에서 16.4, 腎臟에서 17.0, 心臟에서는 24.9 였고 腦에서는 16.5 였으며 2.5% Chloroform 의 實驗 第 II 群의 各 臟器의 活性은 肝臟에서 13.3, 腎臟 13.0, 心臟에서 26.6, 腦에서 21.2 였다.

또한 各 臟器組織試液을 가지고 LDH isozyme 을 電氣迅速泳動法에 따라 Isozymogram 을 調査한 바는 第 7 表와 같다.

#### IV. 考 察

上記한 實驗成績을 考察하면 實驗 第 I 群 및 實驗 第 II 群에 있어서 注入된 Chloroform 의 量은 每日 體重 100 g 當 實驗 第 I 群에서는 0.0025 ml 이며 第 II 群에 있어서 0.025 ml 로서 이것은 體重 1 kg 에 對한 量으로 換算하면 第 I 群은 0.025 ml, 第 II 群은 0.25 ml 의 Chloroform 을 每日 接與한 것이므로 實驗 第 II 群은 Chloroform 의 急性中毒을 惹起하였으리라 思料되는 바이다.

Chloroform 投與에 依한 實驗動物의 體重變化는 Chloroform 投與에 依하여 體重增加가 低下될 뿐 아니라 體重減少가 일어나는 것 같으며 實驗 第 I 群에서는 4 日間 實驗에 依하여 對照群의 體重增加가 5.4 g 였음에 比하여 3.7 g 였으며 實驗 第 II 群에서는 3.5 g 의 體重減少를 나타냈다.

各 實驗動物의 臟器의 重量을 體重 100 g 當 重量으로 表示하면 第 8 表와 같고 4 日間 Chloroform 投與에 依하여 若干 重量變化는 있으나 有意義한 差異는 없으며, 또한 20 W/V%의 各 臟器組織試液에 含有되어 있는 可溶性 蛋白質의 量도 Chloroform 投與 4 日間の 實驗에 依하여 別로 有意義한 臟器重量의 差異를 認定할 수 없었다.

各 臟器의 GDH 의 活性을 蛋白質 1 mg 當의 比較活性度를 表示하면 第 9 表와 같고 이를 圖示하면 第 I 圖와 같으며 Chloroform 投與에 依하여 對照群보다 實驗 第 I 群 II 群에 있어 減少되고 있으며 特히 實驗 第 II

Table 9. Specific Activity of Tissue Glutamic Dehydrogenase ( $\mu\text{M } 10^{-4}\text{min/mg}$  of Protein)

(Mean  $\pm$  S.Em)

Group \ Organ	Liver	Kidney	Heart	Brain
Control	11.4 $\pm$ 1.7	23.3 $\pm$ 6.4	33.3 $\pm$ 5.0	26.4 $\pm$ 4.0
Experimental G. I (0.25% CHCl <sub>3</sub> )	8.2 $\pm$ 1.0	12.8 $\pm$ 0.6	29.9 $\pm$ 3.8	35.5 $\pm$ 2.4
Experimental G. II (2.5% CHCl <sub>3</sub> )	5.7 $\pm$ 0.8	8.0 $\pm$ 0.4	9.3 $\pm$ 2.4	4.4 $\pm$ 2.2

Table 10. Specific Activity of Tissue Lactic Dehydrogenase ( $\mu\text{M}^{-1}\text{/min/mg}$  of Protein)

(Mean  $\pm$  S.Em)

Group \ Organ	Liver	Kidney	Heart	Brain
Control	55.6 $\pm$ 7.0	60.9 $\pm$ 4.8	89.4 $\pm$ 3.4	105.2 $\pm$ 2.8
Experimental G. I (0.25% CHCl <sub>3</sub> )	37.7 $\pm$ 4.6	54.3 $\pm$ 5.3	75.4 $\pm$ 5.5	108.6 $\pm$ 10.7
Experimental G. II (2.5% CHCl <sub>3</sub> )	30.8 $\pm$ 2.9	39.7 $\pm$ 1.2	71.4 $\pm$ 10.5	148.3 $\pm$ 3.1

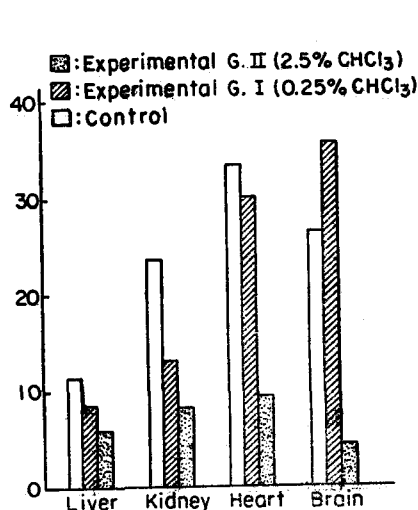


Fig. 1. Bargraph of Specific Activity of Tissue Glutamic Dehydrogenase

群에 있어서는 顯著한 低下를 나타내고 있다. 肝臟 GDH의 isozymogram도 Chloroform 投與에 依하여 顯著한 差異를 呈하고 있으며 對照群과 實驗 第II群의 肝臟 GDH의 Isozymogram을 比較 檢討하면 GDH<sub>1</sub>은 實驗群에서 低下되고 GDH<sub>4</sub>는 實驗群에서 檢出되지 않았으며 GDH<sub>2</sub>, GDH<sub>3</sub>에서는 큰 差異를 認定하지 못하였다.

이는 Chloroform 投與에 依하여 GDH<sub>1</sub>과 GDH<sub>4</sub>에 影響이 많음이 아닌가 생각되는 바이며 이는 Chloroform에 依하여 生體內의 蛋白質 또는 Amino acid 代謝에 影響을 끼치고 있는 結果라고 推測되는 바이다.

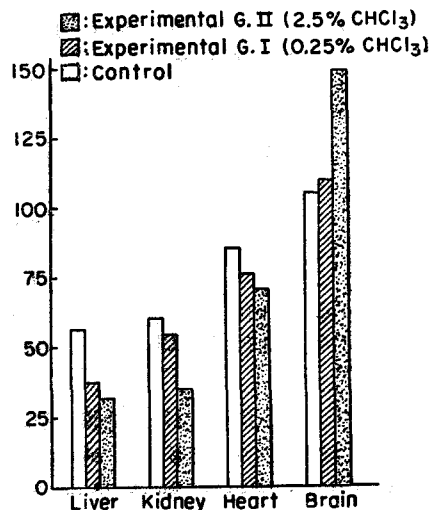


Fig. 2. Bargraph of Specific Activity of Tissue Lactic Dehydrogenase

各 臟器의 LDH의 活性을 蛋白質 1mg 當의 比較 活性度로서 表示하면 第10表와 같고 이것을 圖示하면 第2圖와 같으며 Chloroform 投與에 依하여 對照群으로부터 實驗 第I群 및 第II群에 있어 肝臟, 腎臟과 心臟에 있어서는 그 活性度가 顯著히 減少되었고 腦에 있어서는 오히려 增加되고 있다.

LDH isozyme의 百分率分布를 對照群과 實驗 第II群에 對하여 比較 檢討하면 LDH<sub>1</sub>은 各 臟器에서 全部 減少되어 있고 LDH<sub>5</sub>는 腦를 除外하고는 肝臟, 心臟, 腎臟에서 增加되어 있으며 LDH<sub>2</sub>는 心臟, 腎臟, 腦에 있어서는 減少, 心臟에서는 增加되어 있으며 LDH<sub>3</sub>는 肝臟

心臓, 腦에서는 增加, 腎臟에서는 減少되어 있으며 LDH<sub>4</sub>는 肝臟, 心臓에서는 減少, 腎臟 및 腦에서는 增加되고 있다. Chloroform의 投與가 LDH의 活性을 腦를 除外하고는 他臟器 組織에서 減少되고 있는 것은 Chloroform가 Carbohydrate代謝에 影響을 미치고 있다고 推測되며 LDH의 Isozymogram에 있어 Chloroform 投與에 依하여 好氣性인 心臓型 LDH<sub>1</sub>이 減少되고 嫌氣性인 骨筋型 LDH<sub>5</sub>가 腦를 除外하고는 增加되어 있는 것은 Chloroform가 Carbohydrate代謝에 있어 嫌氣性解糖에 作用하고 있다고 생각된다.

## V. 結 論

1. Chloroform이 肝臟, 腎臟, 心臓 및 腦의 LDH와 GDH에 미치는 影響을 究明코자 實驗動物로서 白鼠를 써서 毎日 1回式 腹腔內에 體重 100g當 Chloroform 0.0025ml와 0.025 ml를 4日間 繼續注入한 다음 體重變化, 各臟器의 重量變化 및 LDH와 GDH의 活性과 그 Isozymes를 調査하였다.

2. Chloroform의 注入에 依하여 實驗動物의 體重增加는 抑制되며 特히 毎日 0.025 ml를 注入한 實驗第 II群에서는 體重在 減少되었다.

3. 實驗動物의 臟器의 重量은 Chloroform의 注入에 依하여 別로 有意義한 差異는 없었다.

4. 各臟器의 GDH의 活性 및 그 Isozyme은 Chloroform 注入에 依하여 相當한 差異가 있으며 이는 Chloroform이 實驗動物의 蛋白質 및 Amino acid의 代謝에 影響을 미치고 있는 것으로 생각된다.

5. 各臟器의 LDH의 活性 및 그 Isozyme은 Chloroform의 注入에 依하여 顯著한 變化가 있었으며 그 Isozymogram은 好氣性인 心臓型 LDH<sub>1</sub>가 減少되고 嫌氣性인 骨筋型 LDH<sub>5</sub>가 增加되어 이는 Chloroform의 急性中毒에 있어 Chloroform이 Carbohydrate代謝에 影響을 미치며 特히 嫌氣性解糖에 作用하고 있는 것으로 推測된다.

끝으로 本研究에 있어 많은 도움을 주신 延世大學校 醫科大學 豫防醫學敎室 權肅杓氏께 深甚한 謝意를 表하는 바이다.

## REFERENCES

- 1) Market, C.L. and Möller, F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 45, 753-63 (1959)
- 2) Kaplan, N.D., Ciotti, M.M., and Hamolsky, B. R.: *Sci.* 131, 392-97 (1960)

- 3) Paul, J., Fottrel, P.F. and Ann, N.Y.: *Acad. Sci.* 44, 668-77 (1961)
- 4) Miller, D.: *JBC* 237 (7), 2135 (1952)
- 5) Dube, S.K., Robolt, O. and Pressman, D.: *JBC* 238, 613-17 (1963)
- 6) Boyer, S.A., Fainer, D.C. and Williams, E.J.: *Sci.* 141 (3581), 641-3 (1963)
- 7) Rajewsky, K., Avramear, P., Grabar, G., Pfeleiderer and Wachsmuth: *B.B.A.* 92 (2), 248-59 (1964)
- 8) Kaplan, N.O.: *Biological reviews* 27 (2) 155-169 (1963)
- 9) Pesce, A., Fondy, T.P., Stolzenbach, F., Castillo, F. and Kaplan, N.D.: *JBC* 242, 2151-2167 (1967)
- 10) Hsick, K.M. and Blumenthal, H.T.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 91, 626-630 (1956)
- 11) Latner, A.L. and Skillen, A.W.: *Lancet* 2, 1286-8 (1961)
- 12) Wieme, R.J. and Heparol, J.E.: *Nature* 194, 287 (1962)
- 13) Richterich, R. and Burger, A.: *Enzymol. Biol. Clin.* 3(2), 62-72 (1963)
- 14) Baer, U., Schmidt, E., Schmidt, E.W.: *Klin. Wochschr.*, 41 (20), 977-80 (1963)
- 15) Cohen, L., Djorjyevich, J. and Drmiste, V.: *J. Lab. of Chin. Med.* 64 (3), 355-376 (1954)
- 16) Oloon, J.A., Anfinsen, C.B.: *JBC* 197, 67-79 (1952)
- 17) Hogeboom, G.H. and Schneider, W.C.: *JBC* 204, 233 (1953)
- 18) Snoke, J.B.: *J. Biol. Chemistry* 223, 271 (1956)
- 19) Fincham, J.R.S.: *Biochem. J.* 65, 721 (1957)
- 20) Fseiden, C.: *JBC* 234, 809 (1959)
- 21) Corman, L., Prescott, L.M. and Kaplan, N.O.: *JBC* 242, 3383-3390 (1967)
- 22) Corman, L. and Kaplan, N.D.: *JBC* 242, 2840-2846 (1967)
- 23) Dodd, G.H. and Radda, G.H.: *Biochem. J.* 108, 5-6 (1968)
- 24) H.J. Vonder Helm: *Nature* 194, 773 (1962)
- 25) 金溶奎: 大韓動物學會學術大會抄錄 第11卷 136面 (1968)

- 26) Waldman, R.K. and Borman, E.K.: *A.M.A. Archives of Ind. Heal.* 19, 431-433 (1959)
- 27) Henson, C.L. and W.W. Cleland: *Biochem.* 3, 338-345 (1964)
- 28) Martinez, C.M., Riva, F., Jurono, C. and Fase-lla, P.: *Biophys Res. Comm.* 20, 206-221 (1965)
- 29) Allen, J.M.: *New York Acad. Sci.* 94, 937 (1961)
- 30) Withycombes, W.A., Pummer, D.T. and Wiki-nson, J.H.: *Biochem. J.* 94, 384-389 (1965)
- 31) Buckley, R.D. and O.J. Balchum: *Arch. Environ. Health* 14, 424-428 (1956)
- 32) 權肅杓: 第 17 回大韓藥學會 總會 學術報告 抄錄, 8 面(1968 年 10 月)
- 33) Kilroe-Smith, T.A. and Breyer, M.G.: *Brit. J. Industr. Med.* 20, 243-(1963)
- 34) Kochakian, C.D., Endahl, B.R. and Endahl, G. L.: *AJP* 197, 129-134 (1959)
- 35) Takiguchi, H., Furuyama, S. and Ogata, Y.: *J. Vitaminol.*, 13, 186-190 (1967)
- 36) Lowry, O. and et al.: *JBC* 193, 265 (1951)
- 37) Preston, J.A., R.O. Prierl. and Batsakis, J.G.: *The Aner, J. Clin. Poth.*, 43 (3), 256 (1965)
- 38) Pergmeyer, H., Bernt and Hess, B.: *Enzymatic Analysis* 752 (1963)
- 39) Pergmeyer, H., Bernt and Hess, B.: *Enzymatic Analysis* 3-13 (1963)
- 40) Sigma Technical Bulletin 505, 5 (1964)
- 41) 姜必求: 美國藥品解說集 254 (1955)
- 42) Wroblewski, F. and Ladue, J.S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 91, 569-571 (1956)
- 43) Mackieviez, N., Peck, J. and Stasinska, M.: *Acta pd Pharm.* 23(4), 383-7 (1966)
- 44) Carlson, A.S., Siegelman, A.M. and Robertson, T.: *Am. J. Clin. Path.* 38, 260-263 (1962)
- 45) Kaplan, N.O. and Goodfriend, T.L.: *Advan. Enzyme Regulation* 2, 203-12 (1964)
- 46) 鄭 勇: 1968 年度 延世大學校 大學院 論文集 (1969 年 1 月)(印刷中)
- 47) Wigget, B.D. and C.A. Vilee: *JBC* 239, 444-451 (1954)
- 48) Dawson, D.M., Goodfriend T.L. and Kaplan, N. D.: *Science* 143, 929-933 (1964)