

Trihalomethane을 경구투여한 흰쥐조직에서 LDH의 활성도 및 Isozyme 양상의 변화

연세대학교 의과대학 예방의학교실

〈指導權 肅 杓 教授〉

신 등 천

I. 서 론

유기물질로 오염된 원수에 염소소독을 할 경우 유독성 염소계 화합물인 Chloroform등의 Trihalomethane (이하 THM으로 약기함)이 부산물로서 생성된다는 보고가 있다(Bellar¹⁾(1974), Rook²⁾(1974), Symons³⁾(1975) Peters⁴⁾(1980)) 이것은 우리가 일상 마시는 음료수중에 THM이 존재할 수 있는 가능성을 충분히 제시해 주고 있다.

THM중 주로 문제가 되는 물질은 chloroform(CHCl₃), dichloromonobromomethane(CHCl₂Br), monochlorodibromomethane(CHClBr₂), bromoform(CHBr₃)의 네가지인데 우리나라에서도 실제로 음료수내에서 이러한 물질들이 발견되고 있으며, CHCl₃와 CHCl₂Br가 주로 검출되고 있다(미발표 논문). 이외에도 음료수 중에 포함되어 있는 휘발성 유기물질(volatile organic substance)은 300여종에 달하며 이중에 발암성 물질인 것으로 확인된 것만해도 극미량인 것까지 포함하면 22종이나 된다고 알려져 있다(Wilkins⁵⁾(1979)).

음료수내 발암성 물질중에서 가장 농도가 높고 독성이 심할 것이라고 예상되는 물질이 CHCl₃로서 몇몇 나라에서는 CHCl₃등 THM의 측정을 지역별로 시행해 오고 있으며 이 물질들의 만성중독을 고려한 음료수내 수질기준을 설정해 놓고 있다(Arguello⁶⁾(1979), Brett⁷⁾(1979), Cotruvo⁸⁾(1981)), 또한 THM의 인체독성에 대한 관심이 최근 고조되고 있으며, 동물실험을 통하여 발암성이 증명된 바 있는 CHCl₃가 주목을 끌고 있다(Page⁹⁾(1976), Kraybill¹⁰⁾(1981)). 다른 3종의 물질, 즉 CHCl₂Br, CHClBr₂, CHBr₃에 대한 독성실험도 미국의 NTP(National Toxicology Program) 등에서 진행, 평가중에 있다고 한다.

1976년 이래 여러나라에서 THM의 농도분포와 암 발생율과 사망율, 장기별 암발생율 등을 중심으로 역학적 연구를 수행하여 왔으나 아직 뚜렷한 인과관계를 설명할 수는 없는 단계이다(Wilkins⁶⁾(1979), Comstock¹¹⁾(1981)) 또한 동물실험을 통하여 어떤 물질의 발암성 여부나 인체 독성 여부를 평가하는 방법으로는 직접 혹은 간접적인 여러 방법이 있을 수 있다(Weisburger¹²⁾(1981)). 그 중 하나는 독성물질 투여로 인한 조직내의 효소변화의 양상을 보아 대사 경로의 이상을 예측하고 독성을 확인하는 방법이다.

본 연구에서는 THM이 어느 조직에 특히 독작용이 있는가를 알기 위한 목적으로 여러 조직에 특이적으로 각기 존재하며 에너지대사에 있어 호기적 또는 혐기적 상태에 따라 그 작용이 변화하는 효소인 lactic dehydrogenase(이하 LDH로 약기함)를 대상으로 THM 투여시 각 조직에서 일어나는 LDH의 변화를 보고자 하였다. 저자는 그간의 음료수내 실제 측정 경험을 통하여 THM중 농도가 비교적 높다고 생각되는 CHCl₃와 CHCl₂Br의 두 물질을 선택하여 흰쥐에 투여한 후 각 조직(간장, 대퇴부근육, 신장, 뇌)에서 LDH활성도와 Isozyme의 변화양상을 보고저 실험에 착수하여 약간의 흥미있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

본 연구에서는 THM이 어느 조직에 특히 독작용이 있는가를 알기 위한 목적으로 여러 조직에 특이적으로 각기 존재하며 에너지대사에 있어 호기적 또는 혐기적 상태에 따라 그 작용이 변화하는 효소인 lactic dehydrogenase(이하 LDH로 약기함)를 대상으로 THM 투여시 각 조직에서 일어나는 LDH의 변화를 보고자 하였다. 저자는 그간의 음료수내 실제 측정 경험을 통하여 THM중 농도가 비교적 높다고 생각되는 CHCl₃와 CHCl₂Br의 두 물질을 선택하여 흰쥐에 투여한 후 각 조직(간장, 대퇴부근육, 신장, 뇌)에서 LDH활성도와 Isozyme의 변화양상을 보고저 실험에 착수하여 약간의 흥미있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

A. 실험 동물

실험동물로는 생후 8주된 체중 140gm 전후의 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley Strain)을 사용하였으며 1개월간 동물실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다

Table 1. Number of experimental groups

Exp. group/Exp. period	4 weeks	8 weeks
1. Control group	6	6
2. Group, CHCl ₃ treated		
high dose*	6	6
low dose*	6	6
3. Group, CHCl ₂ Br treated		
high dose	6	6
low dose	6	6
Total	30	30

*high dose=1/10 LD₅₀ (CHCl₃ : 111.7mg/kg, CHCl₂Br : 96.9mg/kg)
 low dose=1/50 LD₅₀ (CHCl₃ : 22.3mg/kg, CHCl₂Br : 19.38mg/kg)

실험동물군은 투여약물의 용량 및 투여기간별로 분류하였다 (Table 1).

B. 약물 투여

CHCl₃, CHCl₂Br을 고농도(LD₅₀의 1/10)와 저농도(LD₅₀의 1/50)로 각각 구분하여 (Chu¹³⁾ (1980)) 투여기간인 4주와 8주까지 매일 경구투여하였다.

C. 재료채취 및 실험조직액의 조제

실험동물의 간장, 신장, 대퇴부근육, 뇌를 채취하여 4°C 이하에서 냉각한 0.25M sucrose액으로 간장은 40% (W/V)가 되도록 하고 신장, 근육, 뇌는 20% (W/V)가 되도록 homogenizer로 마쇄한 후 냉동 원심분리기 (Sorvall RC-5B)로 12,500g에서 30분간 원심분리하여 사립체 (mitochondria) 부분을 제거시키고 세포질액을 얻어 효소활성도 실험과 전기영동에 사용하였다

D. 측정 방법

1. LDH활성도

Neilands¹⁴⁾ (1955) 방법에 따라서 LDH에 의하여 lactate가 pyruvate로 산화할 때 환원되는 coenzyme NADH의 양을 340m μ 에서 광선흡수율로 측정하였다. 측정방법은 spectrophotometer (Hitachi제)를 이용하여 glycine buffer-용액과 sodium lactate-용액 및 NAD⁺의 혼합액을 3ml silica cell에 넣은 후 실험조직액 0.02ml을 첨가하여 파장 340m μ 에서 흡광도의 변화를 시간함수로서 기록하였다. 여기에 매 ml당 매분간에 감소하는 흡광도를 extinction coefficient인 6.22×10^3 으로 나누어 NADH의 양을 구하고, 단백질 mg당 효소

특이 활성도 (specific activity)로 표시하였다.

2. LDH isozyme의 전기영동

Preston¹⁵⁾ 등 (1965)의 방법에 준하여 실험조직액 20 μ 를 cellulose acetate strip (Sepraphore III Gelman Inst. Co.)에 선직하고 Strip 하나당 1mA의 전류를 통하여 90분간 영동 분리시킨 후 substrate (lactate), 전자담체 (phenazine methosulfate), coenzyme (NAD⁺) 및 정색시약 (nitroblue tetrazlium) 등의 혼합액을 사용하여 발색시킨 후 관찰하였다. 이것을 analytol (Beckman Inst. Co)로 scanning하여 이 면적을 Planimeter (Gelman Inst. Co.)로 적분한 다음 5개의 sub-band 총면적에 대한 각 band의 백분율을 산출하였다.

3. 간장 및 신장조직의 현미경적 관찰

실험동물 부검시 간장 및 신장조직의 일부를 떼내어 조직절편을 만든 후 Hematoxylin-Eosin염색을 하여 광학 현미경으로 조직의 형태학적 변화 유무를 관찰하였다.

III. 실험 성적

A. LDH 효소특이 활성도

각 실험조직인 간장, 대퇴부근육, 신장, 뇌 조직의 정상대조군에서의 효소특이 활성도 (specific activity)를 보면 각각 $120.2 \pm 10.32 \mu\text{M NADH reduced/min/mg of protein}$, 393.4 ± 25.01 , 70.9 ± 5.52 , 53.8 ± 6.92 로 대퇴부근육이 높은 LDH 활성을 나타냈으며, 뇌조직이 가장 낮은 활성을 보여 활성도의 순서는 대퇴부근육, 간장, 신장, 뇌의 순서로 나타났다.

대퇴부근육에서와 CHCl₃투여군의 신장의 경우를 제외한 간장, 신장, 뇌 등의 장기에서 모두 약물투여 4주째 LDH활성도가 증가하는 경향이 나타났으며 특히 간장에 CHCl₃와 CHCl₂Br 고농도 투여군에서 각각 1.4배와 1.7배의 증가를 보여 정상대조군과 유의한 차이를 보여 주었다. 뇌조직에서도 두 물질의 고농도 투여군에서 4주째 모두 LDH 활성도의 증가를 나타냈다.

약물투여 8주째에는 뇌조직에서의 일부 (CHCl₃ 투여군) 경우를 제외한 거의 모든 실험조직에서 LDH정상도가 정상대조군에 비해 통계적으로 유의한 감소를 나타냈는데 CHCl₃와 CHCl₂Br 고농도와 저농도 투여군에서 간장, 대퇴부근육, 신장의 모든 경우 현저한 효소활성의 감소를 보여주었다 (Table 2 : Fig.1).

B. LDH isozyme의 변화

간장조직에서 CHCl₃, CHCl₂Br 투여에 대하여 전

Table 2. Alteration of LDH specific activities of rat organs treated with trihalomethanes
(Unit : $\mu\text{M NADH reduced/min./mg of protein}$)

Exp. group	Exp. period (weeks)	Organ			
		liver	muscle	kidney	brain
Control	0	120.2 \pm 10.32	393.4 \pm 25.01	70.9 \pm 5.52	53.8 \pm 6.92
CHCl ₃ -h	4	172.0 \pm 19.64*	215.8 \pm 54.7*	49.2 \pm 7.61*	103.1 \pm 14.64*
	8	29.6 \pm 4.37*	91.1 \pm 28.70*	31.7 \pm 3.57*	84.8 \pm 9.94*
CHCl ₃ -l	4	138.9 \pm 7.94	379.5 \pm 21.20	63.9 \pm 10.56	86.8 \pm 13.66
	8	54.6 \pm 6.10*	111.8 \pm 21.29*	54.4 \pm 4.62*	74.7 \pm 14.35
CHCl ₂ Br-h	4	212.8 \pm 49.01*	381.7 \pm 18.45	71.9 \pm 6.98	82.6 \pm 10.31*
	8	52.3 \pm 7.63*	153.4 \pm 31.34*	36.2 \pm 7.64*	38.0 \pm 9.89
CHCl ₂ Br-l	4	140.0 \pm 7.72	367.7 \pm 13.11	86.2 \pm 12.46	87.7 \pm 18.66
	8	33.4 \pm 7.63*	146.7 \pm 30.22*	46.0 \pm 3.17*	67.0 \pm 9.07

h : high dose l : low doses

*p<0.05(n=6)

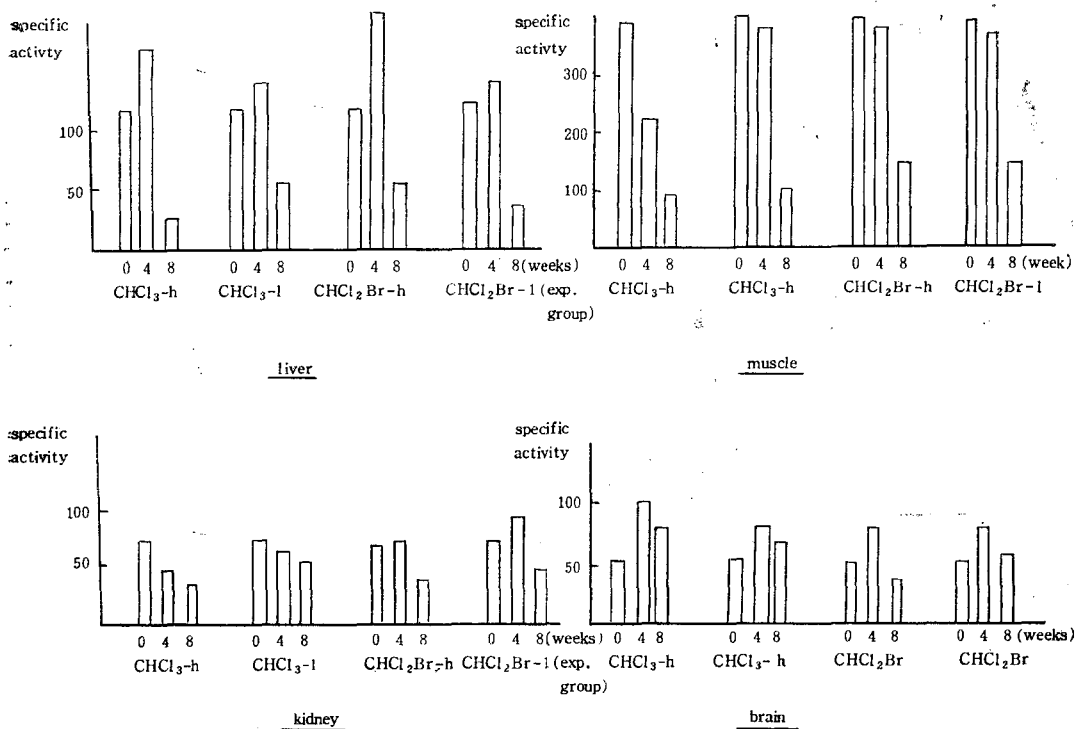


Fig. 1. Alteration of LDH specific activities of rat organs treated with trihalomethanes

반적으로 LDH-4 및 LDH-5 band(M-type isozyme)의 활성도 증가를 보여주었다. 즉, 다음(Table 3-1)과 같이 간장조직에 대한 LDH isozymogram을 본 결과 CHCl₃고농도 투여 8주째에서는 LDH-5 band의 활성도가 대조군에 비해 40% 증가했고, CHCl₂Br 고농

도와 저농도 투여 8주째 역시 LDH-5 band의 활성도가 각각 46%, 45%씩 증가하였으며, LDH-2 및 LDH-3 band의 활성도는 감소되었음을 알 수 있었다.

이와같이 자료치가 백분율의 분포로만 나타나는 경우의 비교를 entrophy(이하 E라 약기함)의 개념을 이

Table 3-1. LDH isozymogram of rat liver treated with trihalomethanes

(Unit : %)

Exp. group	Exp. Period (weeks)	LDH isozyme					
		1	2	3	4	5	E
Control	0	2.8	17.2	16.2	21.9	41.9	1.992*
CHCl ₃ -h	4	4.5	11.1	11.5	29.0	43.9	1.952
	8	8.6	11.5	10.5	10.7	58.7	1.801
CHCl ₃ -l	4	3.5	9.2	14.1	29.7	43.5	1.927
	8	4.4	5.1	10.8	46.8	32.9	1.804
CHCl ₂ Br-h	4	4.7	14.5	10.4	27.8	42.6	1.989
	8	1.0	8.2	10.9	18.7	61.2	1.597
CHCl ₂ Br-l	4	11.0	9.8	10.4	23.9	44.9	2.031
	8	3.1	3.8	7.2	25.3	60.6	1.548

h : high dose l : low dose E : Entropy
 *95% conf. limit : 1.950~2.034

Table 3-2. Activities of LDH isozyme in rat liver treated with trihalomethanes

(Unit : μ M NADH reduced/min. of portein)

Exp. group	Exp. period (weeks)	LDH isozyme				
		1	2	3	4	5
Control	0	3.4 \pm 1.78	20.5 \pm 4.43	19.4 \pm 0.15	26.2 \pm 4.02	50.1 \pm 5.38
CHCl ₃ -h	4	7.5 \pm 0.86	18.3 \pm 5.45	18.9 \pm 6.21	47.8 \pm 1.88	72.5 \pm 10.76
	8	5.3 \pm 0.06	7.0 \pm 0.08	6.4 \pm 1.55	6.8 \pm 1.33	35.9 \pm 10.92
CHCl ₃ -l	4	5.1 \pm 1.34	13.6 \pm 4.77	20.8 \pm 8.86	44.0 \pm 4.95	64.6 \pm 5.99
	8	3.2 \pm 1.50	3.6 \pm 1.62	7.7 \pm 2.10	33.5 \pm 5.42	23.6 \pm 4.79
CHCl ₂ Br-h	4	9.8 \pm 3.11	30.3 \pm 9.33	21.6 \pm 7.80	57.9 \pm 12.60	89.0 \pm 8.31
	8	0.2 \pm 0.02	2.6 \pm 0.11	3.4 \pm 0.59	5.8 \pm 1.02	19.2 \pm 1.56
CHCl ₂ Br-l	4	16.1 \pm 4.97	14.2 \pm 3.38	15.2 \pm 1.04	34.8 \pm 9.09	65.2 \pm 12.07
	8	1.2 \pm 0.04	1.5 \pm 0.32	2.9 \pm 0.15	10.2 \pm 1.47	24.5 \pm 5.62

h : high dose l : low dose

용하여 통계적 분석을 해보았을 때(고¹⁶⁾, 1979) 간장 조직 정상대조군의 95%, 신뢰구간의 범위는 1.950~2.034이었다. 이에 비해 약물투여 8주째에서는 모두 E 값의 유의있는 감소를 가져왔는데 이로 isozyme 분포의 백분율간에 차이가 심해졌음을 설명해 주는 것으로 간장조직의 LDH-1이나 LDH-2의 감소와 LDH-4 혹은 LDH-5의 증가를 말해주는 것이다(Table 3-1).

참고로 LDH총활성도와 isozyme 백분율로 계산하여 LDH isozyme의 활성도를 구하여 보면 다음(Table 3-2)와 같다. 근육에서는 CHCl₃, CHCl₂Br 모두 고농

도 투여군에서 정상대조군의 E값에 비해 유의한 감소를 나타냈다. 이것은 LDH-1의 감소와 LDH-4 및 5의 증가를 표시해 주는 것으로 특히 LDH-1 band의 감소가 눈에 띄게 나타났는데 CHCl₃ 고농도 투여 4주와 8주째에 각각 48%와 31%의 감소가 보였고 CHCl₂Br 고농도 투여 4주째 38%의 감소를 보여 주었다. 이외에 저농도 투여군에는 모두 isozyme 양상에 큰 변화를 보여 주지 않았다. 그리고 근육조직 LDH총활성도와 isozyme 백분율로 계산하여 LDH isozyme의 활성도를 구하여 참고로 하였다(Table 4-1, 4-2).

Table 4-1. LDH isozymogram of rat muscle treated with trihaomethanes

(Unit : %)

Exp. group	Exp. period (weeks)	LDH isozyme					
		1	2	3	4	5	E
Control	0	15.4	14.4	15.1	20.5	34.6	2.214*
CHCl ₃ -h	4	8.1	10.4	15.1	27.0	39.4	2.085
	8	10.6	13.2	20.9	14.9	40.4	2.138
CHCl ₃ -l	4	7.4	11.5	18.9	21.7	40.5	2.098
	8	15.8	10.9	17.2	21.0	35.1	2.209
CHCl ₂ Br-h	4	9.5	10.1	17.9	22.8	39.7	2.116
	8	17.4	11.8	12.0	20.2	38.6	2.166
CHCl ₂ Br-l	4	—	—	—	—	—	—
	8	13.1	17.4	14.0	17.8	37.7	2.194

h : high dose l : low dose E : Entropy
*95% conf. limit : 2

Table 4-2. Activities of LDH isozyme in rat muscle treated with trihalomethanes.

(Unit : μM NADH reduced/min./mg of protein)

Exp. group	Exp. period (weeks)	LDH isozyme				
		1	2	3	4	5
Control	0	66.0±4.02	61.5±2.80	64.7±2.26	88.0±2.07	148.2±6.06
CHCl ₃ -h	4	26.0±1.33	33.3±4.28	48.3±3.35	86.4±14.58	126.0±15.53
	8	5.5±1.13	6.9±2.93	10.9±2.76	7.8±3.42	21.0±6.95
CHCl ₃ -l	4	21.0±2.35	32.8±4.50	53.8±7.97	61.9±10.01	116.0±12.12
	8	19.7±4.28	13.6±3.61	21.5±3.31	26.2±6.46	43.8±12.47
CHCl ₂ Br-h	4	34.2±2.73	36.3±5.08	64.1±9.52	81.8±11.77	142.5±21.02
	8	14.1±4.39	9.6±2.50	9.8±2.47	16.4±4.32	31.3±9.73
CHCl ₂ Br-l	4	—	—	—	—	—
	8	15.5±2.28	20.6±5.26	16.6±5.39	20.9±4.76	44.8±7.53

h : high dose l : low dose

신장조직의 isozyme분포에는 특이한 변화소견을 볼 수 없었고 단지 CHCl₃ 저농도 4주째 투여군의 E값이 2.179로 대조군에 비해 M-type isozyme이 약간 감소하여 일관성있는 결과를 보여주지 못했다(Table 5-1, 5-2)

뇌조직에서 보면 두 약물의 고농도 투여군에서 모두 대조군에 비해 E값이 유의하게 감소하였다. 이것은 LDH-4 및 5의 증가를 표시해 주는 것이며, CHCl₃고농도 투여 4주째에는 LDH-4 및 5 band에서 63%의 증가를 나타냈다. CHCl₂Br 고농도 투여군에서도 역시

4주째 LDH-4 및 5 band의 활성도가 20% 증가하고 8주째 LDH-5 band에서 40%의 증가를 보였다. 또한 이들 isozyme의 백분율을 실제 각 isozyme의 활성도로 환산하여 참고로 하였다(Table 6-1, 6-2 : Fig. 2, 3).

C. 형태학적 관찰

간장 및 신장조직을 광학현미경으로 관찰하여 형태학적인 변화여부를 추구해 보았으나 간장에서는 염증 세포의 침윤이나 공포형성 (vacuolization), 중심부위

Table 5-1. LDH isozymogram of rat kidney treated with trihalomethanes

(Unit : %)

Exp. group	Exp. period (weeks)	LDH isozyme					
		1	2	3	4	5	E
Control	0	17.8	21.4	13.6	23.4	23.8	2.265
CHCl ₂ -h	4	26.1	14.7	9.4	23.5	26.3	2.231
	8	21.1	21.3	12.2	20.7	24.7	2.288
CHCl ₃ -l	4	17.4	12.2	9.7	28.6	32.1	2.179
	8	23.1	26.3	13.2	16.7	20.7	2.282
CHCl ₂ Br-h	4	27.3	23.2	16.8	18.4	14.3	2.283
	8	18.0	20.2	15.0	22.5	24.3	2.302
CHCl ₂ Br-l	4	17.9	16.4	16.4	23.7	25.6	2.295
	8	19.0	21.4	20.3	19.5	19.8	2.321

h : high dose l : low dose E : Entropy
 *95% conf. limit : 2.207~2.323

Table 5-2. Activities of LDH isozyme in rat kidney treated with trihalomethanes

(Unit : μ M NADH reduced/min./mg of protein)

Exp. group	Exp. period (weeks)	LDH isozyme				
		1	2	3	4	5
Control	0	12.4 \pm 1.93	14.9 \pm 2.36	9.4 \pm 1.39	16.3 \pm 2.68	16.6 \pm 2.95
CHCl ₃ -h	4	13.1 \pm 1.92	7.4 \pm 1.11	4.7 \pm 1.35	11.8 \pm 3.21	13.2 \pm 2.38
	8	6.0 \pm 0.77	6.1 \pm 1.23	3.5 \pm 1.31	5.9 \pm 0.75	7.1 \pm 1.66
CHCl ₃ -l	4	16.5 \pm 4.00	11.5 \pm 2.53	9.2 \pm 1.01	27.1 \pm 0.72	30.4 \pm 8.00
	8	15.5 \pm 3.45	17.7 \pm 1.89	8.8 \pm 1.53	11.2 \pm 1.39	14.0 \pm 4.39
CHCl ₂ Br-h	4	22.9 \pm 5.86	19.5 \pm 1.88	14.1 \pm 1.78	15.4 \pm 2.36	12.0 \pm 0.85
	8	5.0 \pm 0.96	5.6 \pm 0.80	4.1 \pm 1.21	6.2 \pm 2.35	6.7 \pm 0.79
CHCl ₂ Br-l	4	11.1 \pm 4.07	10.1 \pm 2.60	10.2 \pm 3.05	14.7 \pm 3.98	15.9 \pm 3.65
	8	8.9 \pm 0.95	9.9 \pm 2.03	9.5 \pm 1.33	9.1 \pm 1.82	.

h : high dose l : low dose

피사등의 변화가 없었고 신장에서도 형태학적인 변화를 볼 수 없었다.

IV. 총괄 및 고찰

LDH는 세포화학적으로 조직내 에너지대사에 큰 역할을 한다. 특히 탄수화물 대사과정중 호기적(TCA-cycle) 및 혐기적(Embden-Meyerhof pathway) 상태에 따라 그 활성도가 변하며, 세포조직과 장기의 기능에 따라 그 활성도와 isozyme 양상이 다르다(Mar-

kert¹⁷(1959), Kaplan¹⁸(1961) Cahn¹⁹(1962), Dacson²⁰(1964), Pesce²¹(1967)). 또한 세포내 에너지대사에 독성을 나타내는 각종 물질에 대하여 각 장기 세포조직의 LDH isozyme이 특이적인 변화를 보이며 그 활성도가 저하된다고 하였으며(권²²(1969), 정²³(1970) 김²⁴(1977)) 이러한 변화는 임상적 또는 형태학적인 변화를 초래하기 이전에 나타난다고 볼 수 있다.

본 실험에서 CHCl₃와 CHCl₂Br 고농도 투여군에서 4주째에 간장과 뇌의 LDH 활성도 증가나 타났는데 특히 간장의 경우 LDH 활성도의 증가는 조직내 pyruvate

Table 6-1. LDH isozymogram of rat brain treated with trihalomethanes

(Unit : %)

Exp. group	Exp. period (weeks)	LDH isozyme					
		1	2	3	4	5	E
Control	0	14.0	17.6	22.6	24.1	21.7	2.294
CHCl ₃ -h	4	16.6	13.1	15.5	28.0	26.8	2.254
	8	15.3	14.4	11.1	23.8	35.4	2.192
CHCl ₃ -l	4	15.6	12.6	21.7	29.9	20.2	2.260
	8	18.8	19.1	17.8	22.0	22.3	2.316
CHCl ₂ Br-h	4	16.6	13.1	15.4	27.8	27.1	2.254
	8	10.7	16.8	19.6	22.6	30.3	2.245
CHCl ₂ Br-l	4	14.5	17.3	22.5	26.8	18.9	2.290
	8	13.4	20.6	21.3	15.2	29.5	2.266

h : high dose l : low dose, E : Entropy
 *95% conf. limit : 2.256~2.332

Table 6-2. Activities of LDH isozyme in rat brain treated with trihalomethanes

(Unit : μM NADH reduced/min./mg of protein)

Exp. group	Exp. period (weeks)	LDH isozyme				
		1	2	3	4	5
Control	0	8.0±0.86	10.0±2.11	12.9±2.33	13.8±0.42	12.4±1.47
CHCl ₃ -h	4	19.8±4.21	15.6±3.50	18.4±3.14	33.4±8.61	32.0±7.41
	8	8.0±3.23	7.6±1.47	5.9±1.12	12.5±0.74	18.6±1.92
CHCl ₃ -l	4	17.0±1.69	13.8±3.52	23.7±3.27	32.6±1.33	22.0±4.08
	8	16.1±1.99	16.3±3.82	15.2±2.90	18.8±3.53	19.0±2.27
CHCl ₂ Br-h	4	17.4±1.69	13.7±2.80	16.1±1.67	29.1±4.46	28.6±2.35
	8	2.4±0.24	3.8±0.28	4.4±0.96	5.1±1.32	6.8±1.96
CHCl ₂ Br-l	4	17.6±4.36	21.0±5.14	27.3±5.50	32.6±3.09	23.0±5.16
	8	10.5±3.18	16.2±1.84	16.7±3.29	16.2±2.77	10.5±3.59

h : high dose l : low dose

함량의 변화를 나타내며 곧 주요 탄수화물대사 경로의 변화를 의미한다. 즉, pyruvate의 증가는 호기적 대사(aerobic metabolism)의 기능적 부담 또는 억제상태로 일어나며 혐기적 대사(anaerobic metabolism)가 우세해진다고 볼 수 있고 이는 LDH M-type isozyme의 증가를 가져오게 된다. Groger 및 Grey²³⁾(1979)의 증가의 실험결과에서도 CHCl₃의 반복적인 투여가 LDH 활성도의 증가현상을 가져왔고 이것 역시 상기한 이유로 설명될 수 있으며, 이러한 효소활성도 증가의 원인은 근육조직내에서 탄수화물과 단백질이 파괴되어 pyruvate pool이 증가하기 때문이라고 설명하

였다.

또한 본 실험에서 이러한 변화는 간장조직의 형태학적 변화 이전에 나타났으므로 LDH의 변화가 형태학적 변화에 앞서서 나타남을 알 수 있었다. 뇌조직을 제외한 다른 모든 조직에서 약물투여 8주째에 LDH 활성도의 현저한 감소를 가져왔는데 이러한 총활성의 저하는 생체가 다른 보상작용을 못하는 경우에 총에너지 대사의 저하를 가져와 성장 및 기능유지 등에 이상을 초래할 수 있으리라 생각된다. Platt 및 Cockrill²⁶⁾(1969)은 CHCl₃를 아주 고농도로 투여하면 간장조직 내 LDH활성도의 절반 이상의 감소를 초래한다고 하

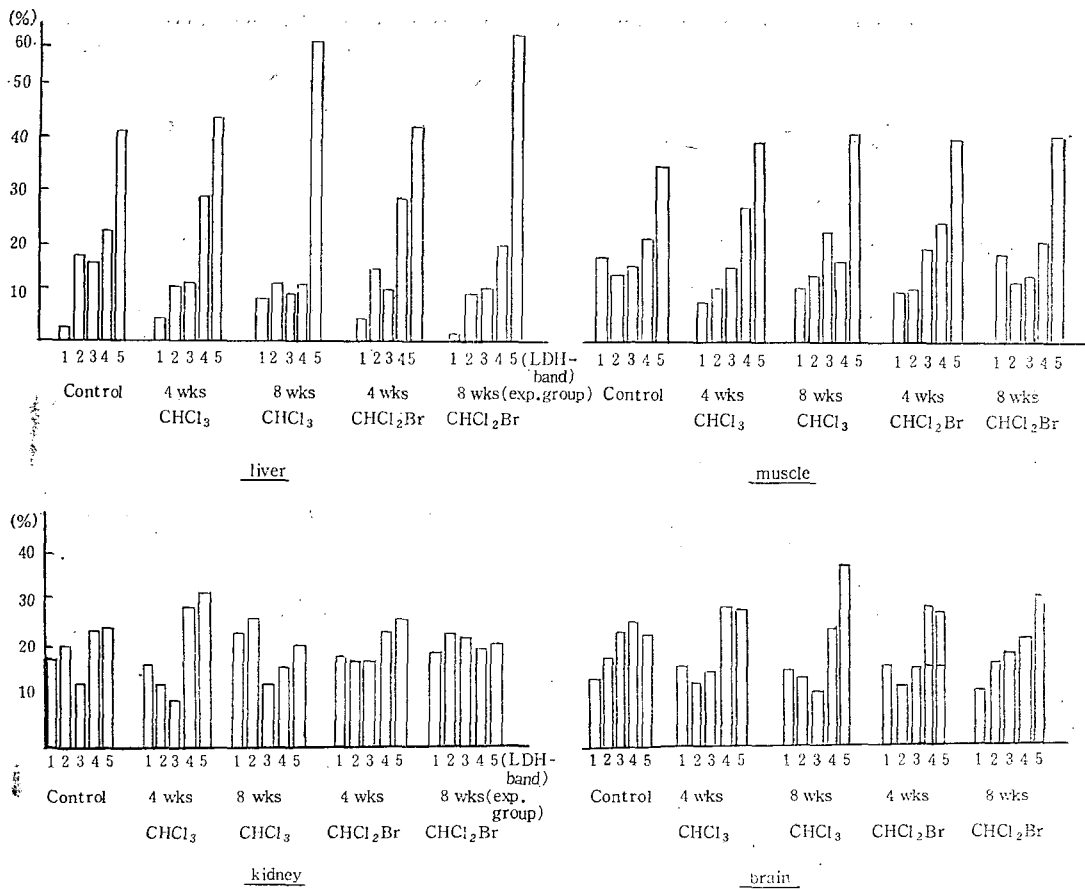


Fig. 2. LDH isozymogram of rat organs treated with trihalomethanes (high dose)

였으며 이와 비교해 볼때 CHCl_3 와 CHCl_2Br 과 같은 독성물질에 8주정도 노출되면 각 조직의 LDH활성의 저하가 온다는 본 연구의 결과와 비슷한 보고라고 생각된다.

Mager²⁷ 등 (1966), Milton²⁸ 등 (1968), 그리고 Rhoades²⁹ 등 (1978)은 저산소 환경에 노출된 흰쥐의 심장 조직에서 M-type isozyme의 활성이 증가하고 H-type isozyme의 활성은 저하되었다고 밝혔다. 본 실험에서도 특히 간장의 경우 M-type의 증가와 H-type의 감소를 볼 수 있었는데 이것은 대산경로중 혐기성 대사 (anaerobic metabolism)의 증가라고 볼 수 있는 것이다. 뇌조직에서도 LDH isozyme 양상의 변화를 뚜렷이 볼 수 있는데 이의 기전이나 의의는 더욱 추구되어야 할 것으로 사료된다.

이상과 같이 THM 투여후 LDH활성도의 변화는 각 조직에서 일어나며 특히 간장의 경우가 (isozyme양상의 변화와 함께 가장 특징적으로 나타났다. 이로써 THM의 투여로 인해 간장에서 산화적 인산화효소계

(oxidative phosphorylation)인 dehydrogenase 효소 활성이 영향을 받는다는 것을 알 수 있고 이것은 임상 증상이나 형태학적 변화보다 선행되어 일어난다고 생각할 수 있다.

그러나 이러한 변화가 LDH효소계의 다른 효소계와 어떤 관련이 있는지, 또한 다른 대사 에 미치는 영향은 어떤지 더욱 추구해 보아야 그 의의가 확실해질 것이다. 간장 이외에 다른 장기에 나타난 LDH 활성도와 isozyme 양상의 변화에 대해서는 앞으로 더 많은 연구가 필요하리라 본다.

V. 결 론

THM이 흰쥐의 조직중 LDH에 미치는 영향을 관찰하고자 흰쥐에 대해 각각 CHCl_3 및 CHCl_2Br , 고농도 (LD_{50} 의 1/10)와 저농도 (LD_{50} 의 1/50), 용량을 매일 경구로 4주 및 8주간 투여한 후 도살하여 각 장기에서의 LDH효소특이 활성도와 LDH isozyme 양상 및 조

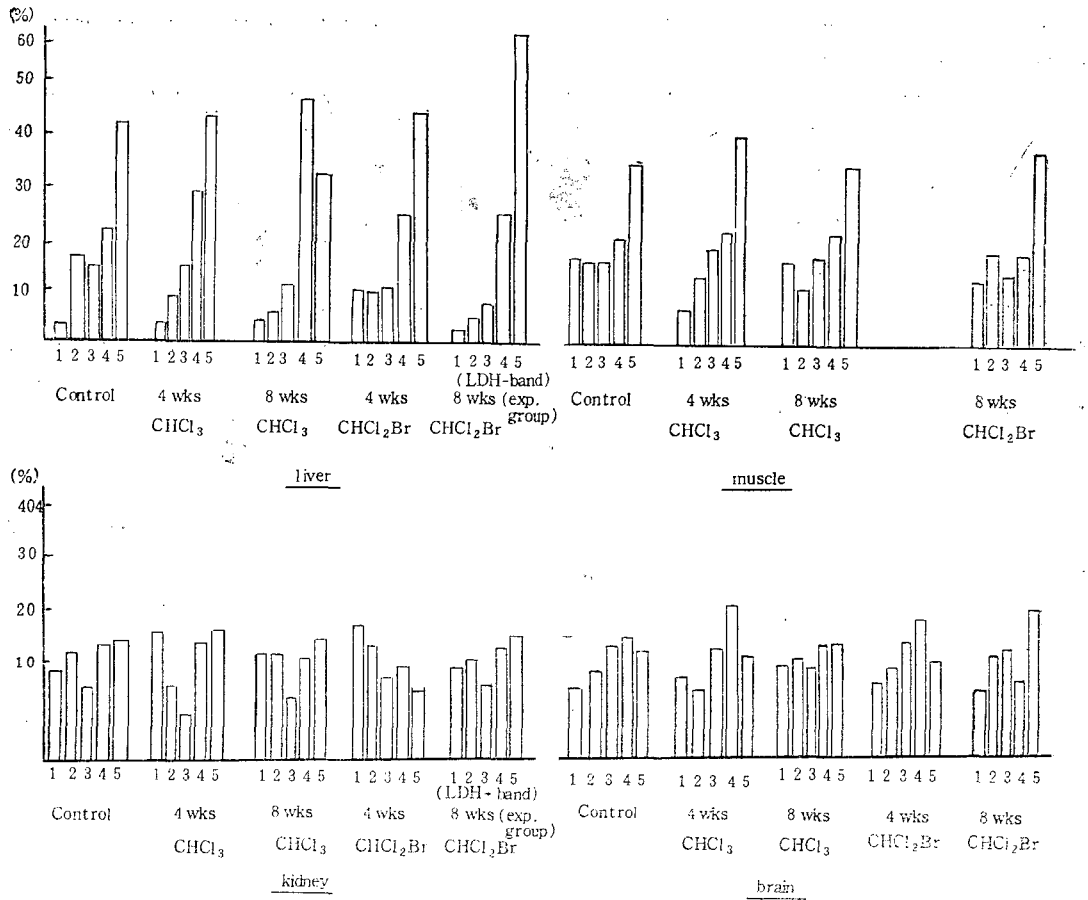


Fig. 3. LDH isozymogram of rat organs treated with trihalomethanes (low dose)

적의 형태학적 변화를 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 조직중 LDH의 변화는 그 조직의 형태학적 변화 이전에 나타났다.
2. 약물투여 4주째 CHCl_3 와 CHCl_2Br 각각 고농도 투여군에서 간장 및 뇌조직의 LDH 활성도가 대조군에 비해 유의한 증가를 나타냈다.
3. 약물투여 8주째, 간장, 대퇴부근육, 신장조직의 LDH의 활성도가 대조군에 비해 모두 유의하게 감소되었다.
4. LDH isozyme의 양상은 간장, 대퇴부근육 및 뇌 조직에서 LDH-4 및 LDH-5 band의 활성도가 증가하였으며 특히 간장에서 가장 현저하게 증가하였다.
5. 대퇴부근육에서는 M-isozyme의 증가보다는 H-type isozyme (LDH-l)의 감소가 더 현저하게 나타났다.

참 고 문 헌

- 1) Bellar TA, Lichtenberg JJ, Kroner RC : *The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters.* Jour AWWA 66 : 703, 1974.
- 2) Rook JJ : *Formation of haloforms during chlorination of natural waters.* Water Treatment and Examination 23 : 234, 1974.
- 3) Symons JM, Bellar TA, Carswell JK : *National organics reconnaissance survey for halogenated organics.* Jour AWWA 67 : 634, 1975.
- 4) Pexers CJ, Young RJ, Perry R : *Factors influencing the formation of haloforms in the chlorination of humic materials.* Environ Sci Technol 14 : 1391, 1980.
- 5) Wilkins JR, Reiches NA, Kruse CW : *Organic chemical contaminants in drinking water and*

- cancer. *Am. J. Epidemiol* 110 : 420, 1979.
- 6) Arguello MD, Chriswell CD, Fritz JS, Kissinger LD : *Trihalomethanes in water. A report on the occurrence, seasonal variations in concentrations and precursors of trihalomethanes. Jour AWWA* 71 : 504, 1979.
 - 7) Brett RW, Calverley RA : *A one-year survey of trihalomethane concentration changes within a distribution system. Jour AWWA* 71 : 515, 1979.
 - 8) Cotruvo JA : *THMS in drinking water. Environ Sci Technol* 15 : 268, 1981.
 - 9) Page NP, Saffiotti u : *Report on Carcinogenesis bioassay of chloroform. Bethesda, MD, National cancer Institute, Division of Cancer cause and Prevention*, 1976.
 - 10) Kraybill HF : *Carcinogenesis of Synthetic organic chemicals in drinking water, Jour AWWA* 73 : 370, 1981.
 - 11) Comstock GW, Wilkins JR : *Source of drinking water at home and site-specific cancer incidence in washington County, Maryland, Am J Epidemiol* 114 : 178, 1981.
 - 12) Weisburger JH, et al., : *Carcinogen testing, Current problems and new approaches. Science* 214 : 401, 1981.
 - 13) Chu I, Secous V, Marino I, Villeneuve DC : *The acute toxicity of four trihalomethanes in male and female rats. Pharmacology* 52 : 351, 1980.
 - 14) Neilands JB : *Lactic dehydrogenase of heart muscle. Methods in enzymology. Acad Press Inc. I* : 449, USA, 1955.
 - 15) Preston JA, Briera RO, Patsakis JG : *Rapid electrophoretic separation of lactic dehydrogenase isozymes on cellulose acetate. Am J Clinpath* 43 : 256, 1965.
 - 16) 고응진 : *제량의학통론, 신광출판사*, 227, 1979.
 - 17) Markert CL, Müller F : *Multiple forms of enzymes, tissue autogenetic and specific patterns. Proc Natl Acad Sci* 45 : 753, 1959.
 - 18) Kaplan No, Ciotti M.M. : *Evolution and differentiation of dehydrogenase, Ann NY Acad Sci* 94 : 701, 1961.
 - 19) Cahn RD, Kaplan No, Leviene L, Zwilling E : *Nature and development of lactic dehydrogenases. Science* 136 : 962, 1962.
 - 20) Dawson DM, Good friend TL, Kaplan No : *Lactic dehydrogenases. Functions of the two types. Science* 143 : 929, 1964.
 - 21) Pesce A, Fondy TP, castillo F, Kaplan No : *The Comparative enzymology of lactic dehydrogenase III. properties of the H₄ and M₄ enzyme from a number of vertebrates. J Biol Chem* 242 : 2151, 1967.
 - 22) 권숙표 : 아황산 가스에 노출된 백서 조직 lactic dehydrogenase의 isozyme 변화에 관한 연구. *대한 약학회지* 13 : 101,
 - 23) 정용 : 아황산가스가 백서 조직의 lactic dehydrogenase isozyme에 미치는 영향. *대한예방의학회지* 3 : 111, 1970.
 - 24) 김준태 : 영상에 의한 백서의 세포화학적 변화에 관한 연구. *연세의대논문집* 10 : 187, 1977.
 - 25) Groger WKL, Grey TF : *Effect of chloroform on the activities of liver enzyme in rats. Toxicology* 14 : 23, 1979.
 - 26) Platt DS, Cockill BL : *Biochemical changes in rat liver in response to treatment with drugs and other agents- II. Biochem pharmac* 18 : 445, 1969.
 - 27) Marger M, Blatt WF, Abelmann WH : *The use of cellulose for the electrophoretic separation and quantitation of serum lactic dehydrogenases isozyme in normal and pathologic states. clin chem Acta* 14 : 689, 1966.
 - 28) Milton M, William FB, Peter JN : *Effect of high altitude on lactic dehydrogenase isozymes of neonatal and adult rats. Am J Physiol* 215 : 8, 1968.
 - 29) Rhoades RA, Shaw ME, Wali S : *Laetic metabolism in perfused rat lung. Am Physiol Soc.* 235 : 619, 1978.
- <본 연구는 과학재단 연구비에 의해 진행되었음을 밝힙니다.>