

PCB가 흰쥐의 組織 酵素 活性에 미치는 影響 (第一報)

- Lactatedehydrogenase 에 關해서 -

權 貞 淑

安東大學 家政學科

(1983년 5월 23일 수리)

The Effect of Polychlorinated Biphenyl on the Enzyme Activity in the Tissues of the Albino Rat (I) :

The Effect of PCB on the Lactatedehydrogenase Activity.

Jung Sook Kwon

Andong National College

(Received May 23, 1983)

Abstract

After examining the changes of LDH activity in the liver, brain and kidney of albino rats administered with various amounts and periods, the following results were obtained:

The LDH activity in liver, brain and kidney showed a gradual increase in proportion to the amount of PCB.

The LDH activity has considerably increased with PCB administration, the maximum increasing rate shown within the first five days and the second five days respectively for 50 & 100 ppm group and for 10 ppm group.

The LDH activity of brain in 50 and 100 ppm group showed its peak increase for the first five days with its subsequent decrease, while there was almost no change until the 1th day in 10 ppm group.

The LDH activity in kidney showed the greatest increase between the 10th and 15th day.

序 論

Polychlorinated biphenyl (PCB)은 plasticizer, lubricant, heat transfer fluid, insulator 등에 널리 사용되고 있는 産業用 化學製이며, 近來에 와서 野生 鳥類와 魚類를 汚染시킨 것이 發見됨으로써 또 하나의 産業汚染物로 科學界의 觀心을 불러일으키고 있다.¹⁻⁴

最近에는 사람의 脂肪組織과 母乳에서 PCB가 檢出됨으로써 그 毒性에 關한 研究에 拍車를 加하게 되었다.⁵⁻⁶ 이로 인해, 家禽類, 鳥類, 魚類에 對한 PCB의 毒性問題가 研究되었으며,⁷⁻⁹ 특히, 哺乳類에 對한 毒性研究은 PCB를 投与함으로써 생기는 生化學的 變化를 觀察함으로써 確認하게 되었다.

Litterst 등¹⁰은 PCB를 投与한 쥐의 肝에서 reductase 活性이 매우 增加했으며, glucose-6-phosphatase 活性은 減少했다고 報告했으며, Alvares 등¹¹은 PCB가 또 다른 環境汚染物質인 DDT나 Phenobarbital과 마찬가지로 肝에서 cytochrome p-450, N-demethylase, benzopyrene hydroxylase의 活性을 顯著히 上昇시켰음을 報告했다. Uzawa¹²⁻¹³ 등은 PCB 投与가 哺乳動物의 体内 脂質代謝를 非正常的으로 이끌었다고 했으며, Yasuyuki 등은 PCB 投与後, 肝의 triglyceride와 glycogen量에 變化가 왔으며, α -glycerophosphate dehydrogenase와 triglyceride synthetase의 活性이 上昇했다고 報告했다. 이와 같이, PCB가 實驗動物의 肝에 組織學上의 變化를 일으킬 뿐 아니라, 代謝系列에 屬하는 酵素에도 影響을 주

고 있음이 많이 報告되고 있는바, 본 실험에서는 体内에서 糖質代謝의 中間 生成物인 pyruvate와 lactate의 生化學的 可逆反應에 關与하는 lactatedehydrogenase (LDH)의 活性도 PCB에 依해 影響을 받을 것으로 豫상되어 흰쥐에 PCB를 投与하여 肝, 腦, 腎臟에서의 LDH活性을 測定 검토하였다.

材料 및 方法

1. 材 料

1) 試藥 및 器機

- (1) pyruvate substrate buffer solution: sodium pyruvate (0.01%) in phosphate buffer. (pH7.8)
- (2) NaOH Solution. (0.40N)
- (3) color reagent : 2, 4 - dinitrophenylhydrazine solution. (0.02%)
- (4) β-NADH₂ (Sigma chemical co.)
- (5) PCB (Aroclor 1235) solution: 10ppm, 50ppm, 100 ppm in corn oil.
- (6) Homogenizer
- (7) Centrifuger
- (8) Spectrophotometer. (Bausch & Lomb Spectronic 20)

2. 方 法

1) 實驗動物 및 PCB 投与方法

体重 100 - 150g의 흰쥐 (Sprague Doweys) 수컷 60 마리를 15마리씩 1個實驗群으로 하여 24時間 切食시킨 後, 各 實驗群마다 corn oil에 適切한 濃度로 溶解시킨 PCB를 日常食餌에 섞어서 10ppm, 50ppm, 100ppm씩 投与하였으며, PCB를 添加하지 않고 corn oil만 添加한 食餌를 投与한 rat를 對照群으로 하였다. 各

實驗群의 實驗動物은 5日, 10日, 15日마다 5마리씩 屠殺하여, 肝, 腦, 腎臟을 摘出하여 實驗을 行하였다.

Table. 1. Composition of standard diet

Ingredients	percent amount
Wheat germ	25
Wheat grits	25
Rice bran	20
Soybean meal	15
Skimmed milk	5
Salt mixture	5
Vitamin mixture (Nopcosol)	5
Total	100

2) 實驗方法

(1) 組織處理

實驗動物에서 肝, 腦, 腎臟을 摘出하여 buffer로 血液을 깨끗이 洗滌해 낸 다음, 各 臟器를 稱量하여 buffer로 肝組織은 20배, 腦와 腎臟組織은 各各 10배 稀積하고 ice Cold bath中에서 Potter-Elvehjem homogenizer를 使用하여 充分히 (3,000r. p. m, 10分) 磨碎하였으며, 各 臟器의 homogenate를 檢量線를 勘案하여 一定濃度로 稀積하고, 遠心分離 (3,600r. p. m. 30分) 한 後, 上澄液을 酵素活性 測定用 試料로 하였다.

(2) 酵素 活性 測定

LDH 活性은 Berger and Broida method¹⁵⁾에 準하여 各 臟器에 對해 다음과 같이 行하였다.

pH 7.8의 pyruvate substrate buffer solution 1.0 ml에 β-NADH₂ (Sigma chemical co) 1.0mg을 溶解시켜 미리 2 ~ 3分間 37°C water bath에서 加溫

Table 2. The changes of LDH activity in the liver, brain and kidney of albino rats administrated various amounts and periods.

Tissues	Does (ppm)				
	Days	10	50	100	Control
Liver	5	188800 ± 2330*	201300 ± 3330	203700 ± 2120	182300 ± 1990
	10	208600 ± 2960	215200 ± 2010	215500 ± 2650	
	15	210100 ± 2470	213900 ± 1350	216100 ± 2530	
Brain	5	88400 ± 1430	93300 ± 1240	96600 ± 1180	88300 ± 1660
	10	88200 ± 2400	94600 ± 1860	99500 ± 1760	
	15	90000 ± 1580	99800 ± 1990	102600 ± 1660	
Kidney	5	116400 ± 1290	118400 ± 760	120100 ± 880	115100 ± 1360
	10	118100 ± 2130	130700 ± 1450	121600 ± 1010	
	15	119600 ± 1480	124500 ± 1200	127500 ± 1150	

*Mean activities (B. B, unit) ± S. D.
Estimation of effect: P 0.05

溶解시키고, 試料 0.1ml 씩을 넣어 充分히 흔들어 혼란한 다음, 37°C water bath 中에서 30分間 反應시킨 다음 2, 4- dinitrophenyl - hydrazine solution 1.0ml 를 넣어 室溫에서 20分間 呈色시키고 0.4N-NaOH Solution 10ml 씩을 넣어 5~30分以內에 反應을 終結시킨 後, 425nm에서의 吸光度를 測定하여, 試料 1ml 中의 LDH 活性을 B. B. unit (Berger & Broida unit)로 產出하였다.

(3) 統計處理

모든 實驗結果는 統計的으로 處理하여 各各의 平均値와 標準偏差를 求하였으며, 또한 F檢定法으로 有意性 檢定을 行하였다.

結果 및 考察

PCB 投与 期間에 따른 實驗動物의 肝, 腦 및 腎臟組織의 LDH 活性은 对照實驗 動物群에 比하여 점차 增加하였으며, PCB 投与量에 따른 實驗動物의 肝, 腦 및 腎臟組織의 LDH 活性도 投与量에 比例하여 增加되었다. (Table 2 참조)

이같은 結果는 Litterst 等¹⁰이 PCB 投与时 여러 가지 酵素의 活性을 測定한 結果와 一致한다.

1. 肝의 酵素活性变化

Nishizumi¹⁶는 PCB가 쥐의 肝障碍를 일으켰다고 報告하고 있으며 camp¹⁷는 PCB가 大部分 肝과 腦에 濃縮되어 여러 가지 機能障碍를 일으킴을 報告했고, wiene 等¹⁸은 肝障碍가 일어나면 血清中 LDH의 放出이 變動하기 쉬우며, 傳染性肝災이나 傳染性 单核症 및 中毒性黄疸等과 같이 肝細胞의 破壞가 特徵인 疾病의 境遇에는 때때로 LDH의 活性値가 上昇한다고 報告한 바가 있다.

PCB 投与 期間과 濃度에 따른 肝의 LDH 活性은 Fig. 1 에서와 같이 对照群에 比해 顯著히 增加하였으며, 50ppm과 100 ppm 投与群에서는 投与後 처음 5日間 最大의 增加率을 보이며, 10ppm 投与群에서는 投与後 5日에서 10日 사이에 最大增加率을 나타내고 있다. 10日 以後에는 모두 徐徐히 增加함이 나타나고 있으며, 이는 Theresa 等¹⁹이 PCB를 쥐에게 長期間 投与时켰을 때 肝의 酵素活性이 投与後 3週까지는 增加하고, 그 後는 거의 같은 水準을 維持했거나 多少 低下하는 傾向을 보임과 一致한다. 또, 1968年 日本에서 發生한 PCB 中毒事件은 血中 total triglyceride의 顯著한 增加로 인한 高脂血症임이 밝혀진 바 있으며²⁰ Yasuyuki²¹에 依하면 PCB 投与後 肝의 triglyceride는 相当히 增加한 反面, glycogen은 매우 減少했으며, α-glycer-

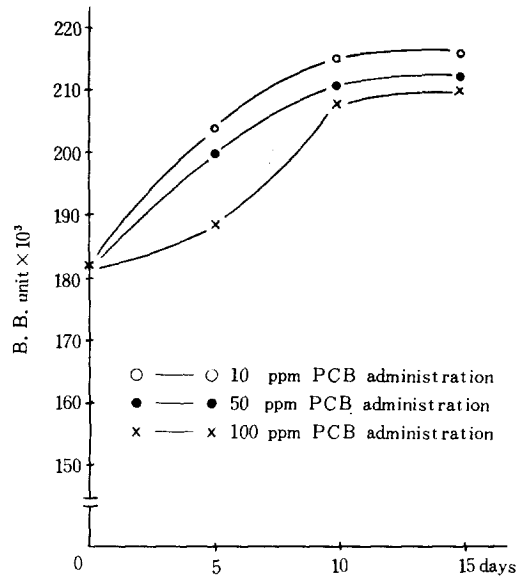


Fig 1. The changes of LDH activities in the liver of albino rat administrated with various amounts and periods.

ophosphate dehydrogenase와 triglyceride synthetase의 活性이 매우 增加했다고 報告한 바 있다. 이는 PCB 投与로 인해 glycogenolysis가 刺戟되어 肝의 glycogen含量이 低下되고, LDH 活性이 增加됨으로

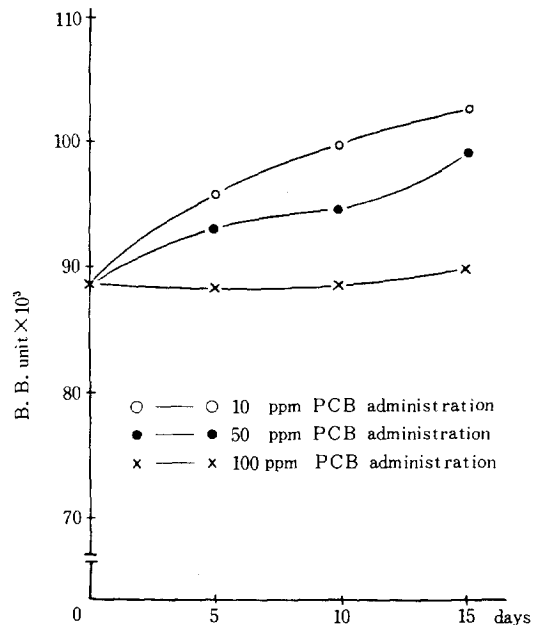


Fig 2. The changes of LDH activities in the brain of albino rat administrated with various amount and periods.

인해 pyruvate가 多量 生成되나, 肝疾患時 嫌氣的 代謝가 亢進됨으로써²²⁾ acetyl coenzyme A가 然燒되지 않고, 組織에서 cholesterol 및 fatty acid를 形成하게 되고, 따라서 內因性 triglyceride가 增加하게 되는 것으로 思料된다.

2. 腦의 酵素活性變化

Fig 2를 보면 PCB 投与期間과 濃度에 따라 腦의 LDH活性이 50ppm, 100ppm 投与群에서는 投与後 처음 5日間 最大의 增加를 나타내었고, 그 後 繼續 顯著한 增加를 보인 反面, 10ppm 投与群에서는 投与後 10일까지 LDH活性이 거의 變하지 않았다.

3. 腎臟의 酵素活性變化

Fig. 3에서 PCB 投与期間과 濃度에 따른 LDH

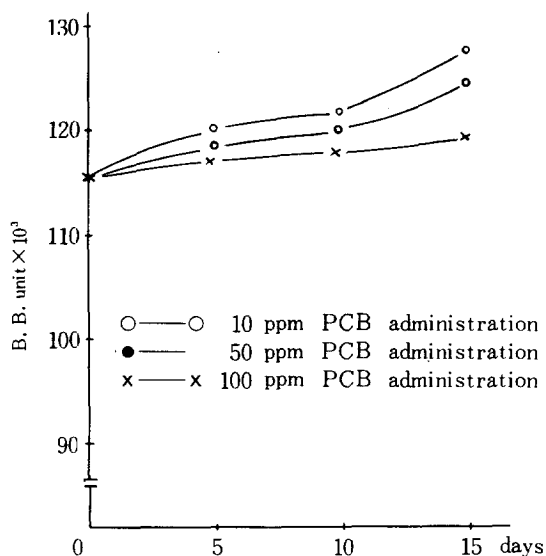


Fig. 3. The changes of LDH activities in the kidney of albino rat administrated with various amounts and periods.

活性 變化를 보면 腦組織에서의 變化와 비슷한 傾向을 보이며 投与後 10日에서 15日 사이에 最大의 活性 增加를 나타내었고, 肝 및 腦와 마찬가지로 PCB 投与濃度와 LDH活性은 比例하여 增加하는 것으로 나타났다.

요 약

PCB의 投与量 및 投与期明에 따른 흰쥐의 肝, 腦 및 腎臟組織의 LDH活性 變化를 研究한 結果

다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 肝, 腦 및 腎臟組織의 LDH活性은 PCB 投与量에 比例하여 漸次 增加함이 나타났다.
2. 肝의 LDH活性은 PCB 投与에 의해 顯著히 增加하였으며 50ppm, 100 ppm 投与群에서는 投与後 처음 5日 사이에, 10ppm 投与群에서는 投与後 5日에서 10日 사이에 最大增加率을 나타냈다.
3. 腦의 LDH活性은 50ppm, 100ppm 投与群에서 投与後 처음 5日 사이에 最大增加率을 나타내었으며, 그 後 계속 顯著한 增加를 나타낸 反面, 10ppm 投与群은 投与後 10일까지 거의 變化가 없었다.
4. 腎臟의 LDH活性은 投与後 10일에서 15일 사이에 最大의 增加를 보였다.

文 獻

- (1) Koeman, J. H., Ten Noever de Brauw, M. C. : *Nature* (London), 221, 1126 (1969)
- (2) Presset, L, Jefferies, D. J., and Moore, N. W., *Environ. Pollut.* 1, 3 (1970)
- (3) Holmes, D. C., Sommons, J. H., and Tatton, J. O. *Nature* (London), 216, 227 (1967)
- (4) Vos, J. G., and Koeman, J. H. : *Toxicol. Appl.*, 17 656 (1970)
- (5) Biros, F. A., Walker, A. C. and Medbery, A., : *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 5, 317 (1970)
- (6) Acker, L. and Schulte, E.: *Naturwissenschaften*, 57, 497 (1970)
- (7) Scott, M. L., Vadehra, D. V., Mullenhoff, P. A., Ramsey, G. L., and Rice, R. W. : *Proc. Cornell Nutrition Conf.*, 56 (1971)
- (8) Peaker, D. B., : *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6, 100 (1971)
- (9) Hansen, D. J., Parrish, P. R., Lowe, J. I., Wilson, A. J.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6, 113 (1971)
- (10) Litterst, C. L., Farber, I. M., Baker, A. M., Van Loon, E. J.: *Toxicol. and Appl. Pharmacol.* 23, 112 (1972)
- (11) Alvito, P. A., David, R. B., and Attallah K.: *Proc. Nat. Acad. Sci.* 70(5), 1321 (1973)
- (12) Uzawa, H., Ito, Y., Notomi, A. and Katsuki, S. : *Fukuoka Acta. Med.* 60, 449 (1969)
- (13) Uzawa, H. Ito, Y., Notomi, A., Hori, S., Ikeura, and Katsuki, S. 62, 66 (1971)
- (14) Ito, Y., Kimura, R. and Murata, T. *衛生化学* 25(6), 309 (1979)
- (15) L. Berger and D. Broida: *Sigma Tech. Bull.*, 500(8), 60 (1960)

- (16) Nishizumi, M. *Arch. Environ. Health*, **21**, 620 (1970)
- (17) Camp, B. J., Hejtmancik, E. Armour, C. Lewis, D H.: *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.*, **12**, (1974)
- (18) Wieme, R. J. : *Nature*, **192**, 287 (1962)
- (19) Theresa, S. C., and Kenneth, P. D. : *Toxicol. and Appl. Pharmacol.*, **26**, 504 (1973)
- (20) 鶴江春生, 伊東靖天, 納富昭光, 勝木司馬之助: 福岡医誌, **60**, 449 (1969)
- (21) Ito, Y. and Murata, T. : *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, **40**, (3), 262 (1974).
- (22) Johnson, H. L., and Kampschmidt, R. F. : *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.*, **120**, 557 (1965).