

## 웅성 랫트에서 이염화메탄의 사염화 탄소 독성 증폭효과

김대병 · 김영철\*

서울대학교 약학대학

## POTENTIATION OF CARBON TETRACHLORIDE TOXICITY BY DICHLOROMETHANE IN ADULT MALE RATS

Dae Byung Kim and Young Chul Kim\*

College of Pharmacy, Seoul National University, Shinrim-Dong San 56-1,  
Kwanak-Ku, Seoul 151-742, Korea

(Received August 28, 1993)

(Accepted September 29, 1993)

**ABSTRACT:** *The effects of dichloromethane (DCM) on carbon tetrachloride (CT) toxicity were examined in adult male rats. A concomitant treatment of rats with DCM (0.3, 0.6, 1.2 g/kg, po) significantly potentiated the hepatotoxicity of CT (1.0 g/kg, po) as determined by increases in serum GPT (glutamic pyruvic transaminase), GOT (glutamic oxaloacetic transaminase), and SDH (sorbitol dehydrogenase) activity 24 hr following the treatments. Serum LDH (lactate dehydrogenase) activity was increased by either DCM or CT treatment. But increasing DCM dose did not result in further increase in LDH. DCM did not affect the increase in serum BUN (blood urea nitrogen) level induced by CT. Orally administered CT decreased the hepatic microsomal cytochrome P-450 level and glucose-6-phosphotase activity, however, neither of these parameters was decreased further by DCM suggesting that the potentiating action of DCM on CT toxicity may not be associated with increased lipid peroxidative damage. DCM treatment increased the blood carboxyhemoglobin (COHb) level which appears to be saturated at the lowest dose of DCM used in the study. A significant decrease in COHb generation was observed in the rats treated with CT simultaneously indicating that the specific subtype of cytochrome P-450 responsible for the metabolic conversion of DCM to carbon monoxide (CO) was damaged by CT treatment.*

Supported in part by the grant No. 921-1600-023-2 awarded by KOSEF.

\*To whom all correspondences should be addressed.

**Key Words:** Dichloromethane, Carbon tetrachloride, Carbon monoxide, Carboxyhemoglobin, Cytochrome P-450, Hepatotoxicity

## 서 론

사염화탄소는 (CCl<sub>4</sub>; CT) 대표적인 산업용 용매로 강력한 간 및 신장독성을 갖고 있다. 사염화탄소의 독성은 cytochrome P-450에 의해 생성되는 trichloromethyl free radical ( $\cdot\text{CCl}_3$ )에 기인한다 (Recknagel, 1967, Recknagel and Glende, 1973). Recknagel 등은(1982) 사염화탄소로부터 생성된 trichloromethyl free radicals에 의해 세포내 소기관의 membrane에 lipid peroxidation이 유발되고 이 과정이 fatty liver, liver necrosis에 이르게 하는 중요 기전인 것으로 설명하였다. 반면 생성된 free radical이 세포내 protein 및 lipid와 covalent binding을 이루는 것이 사염화탄소의 독성에 더 중요한 역할을 갖고 있다는 관점도 있다(Gillete, 1974). 최근에는 사염화탄소 대사물에 의한 cytoplasmic Ca<sup>++</sup> level 증가가 최종적인 necrosis 유발기전으로 제시되고 있다(Long and Moore, 1986a, 1986b).

이염화메탄은 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; DCM) 사염화탄소와 유사한 물리화학적 성질을 갖고 있으나, 간 및 신장독성은 매우 낮은 용매이다(Moskowitz and Shapiro, 1944; Hanke *et al.*, 1974). 그러나 이염화메탄은 이 계열의 타 halogenated hydrocarbons류와 구별되는 생체독성을 가지며 이것은 이 용매의 대사결과 생성되는 일산화탄소에 기인한다(Stewart and Hake, 1976). 이염화메탄은 NADPH와 O<sub>2</sub> 존재하에서 일산화탄소로 대사되며(Kubic *et al.*, 1974; Kubic and Anders, 1975, 1978), 일부는 간의 cytosol fraction에서 glutathion 존재하에 formaldehyde, formic acid를 거쳐 이산화탄소로 대사된다(Ahmed and Anders, 1976, 1978). 생성된 일산화탄소는 혈액중 hemoglobin과 결합하여 (carboxyhemoglobin; COHb) 적혈구의 산소수송능력을 저하시키며 이것이 이염화메탄의 주독성으로 알려져 있다.

사염화탄소의 강력한 독성이 인지된 이후로 이 용매의 사용은 점차 제한되고 있으며 대체 물질로 유사한 성질을 가진 이염화메탄의 사용은 증가되고 있다. 따라서 이 두가지 용매류에 의한 혼합 노출의 빈도는 상당히 빈번할 것으로 예상된다. 사염화탄소와 이염화메탄은 동일한 효소군의 활성화에 의해 대사되며 모두 그 대사물에 의해 독성이 유발된다는 공통점을 갖는다. 따라서 이들 화합물의 혼합투여가 각 화합물이 가진 자체의 독성에 주는 변화에 관한 연구실험은 매우 흥미로운 결과를 보일 것으로 기대되었다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

체중 150~250 g의 숫컷 Sprague-Dawley 랫트를 국립보건안전연구원으로부터 분양받아 사용하였다. 분양받은 랫트는 1주일 이상 동물실에서 적응시킨 후 사용하였다. 동물실은 온도 22±1°C 와 12시간씩의 light : darkness cycle을 유지하였고 동물에게 사료와 식수를 제한없이 공급하였다. 사염화탄소와 이염화메탄은 corn oil에 희석하여 경구로 투여하였으며 24시간 경과 후에 채혈하거나 decapitation하여 간조직을 절취하였다.

### 시약

사염화탄소, 이염화메탄, 디에틸에테르, 메타놀, 싸이클로헥산은 일본 Wako 사로부터 구입하였다. EDTA, Folin's phenol reagent, SDH kit는 미국 Sigma사로부터, Clinical Chemistry

Analyzer를 이용한 LDH, GOT, GPT, BUN, creatinine 분석을 위한 시약은 미국 Gilford사로 부터 구입하였다. 그외 실험에 사용된 모든 화합물은 reagent grade 또는 그 이상의 품질이었다.

### Assay

혈액중 COHb %는 Rodkey 등의(1979) 방법을 다소 수정하여 측정하였다. 랫트의 꼬리말 단부를 절단하여 채취된 혈액을 0.01 M Tris 용액으로 약 1000배 희석하고 sodium dithionite 수 mg을 가한 후 420 nm와 432 nm에서 흡광도를 측정하였다. Total Hb 중 COHb %는 측정된 흡광도와 Hb, COHb의 molar absorptivity로부터 계산하였다.

채취된 혈액으로부터 간독성의 지표로 GPT(glutamic pyruvic transaminase), GOT(glutamic oxaloacetic transaminase), LDH(lactate dehydrogenase)와 신장독성의 지표로 creatinine, BUN (blood urea nitrogen)을 Clinical Chemistry Analyzer Impact 400E (Gilford Co., U.S.A.)를 사용하여 측정하였다.

보다 specific한 간독성의 지표로 간주되는 SDH(sorbitol dehydrogenase) 활성은 Gerlach의 (1965) spectrophotometer를 사용하는 방법으로 측정하였다. 동물로부터 채취한 혈청 0.2 ml에 0.2 M triethanolamine-HCl buffer (pH 7.4)과 NADH(23.3 mg/4 ml H<sub>2</sub>O)를 가하고 25°C 에서 30분간 배양한 후 fructose를 가해 366 nm에서 흡광도의 변화를 기록하여 SDH 활성을 측정 하였다.

Glucose-6-phosphatase 활성은 Traiger와 Plaa의(1971) 방법으로 측정하였다. 절취된 간조직에 19배 부피의 1.0 M maleate buffer(pH 6.25)를 가하고 homogenization하여 0.2 ml을 취해 0.2 M glucose-6-phosphate 0.5 ml, maleate buffer 1.8 ml과 37°C 에서 40분간 배양하였다. TCA 용액을 가해 반응을 종료시킨 후 원심분리하고 상등액을 취해 ammonium molybdate 용액과 환원제인 1-amino-2-naphthol-4-sulphonic acid를 가하고 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Microsomal cytochrome P-450는 Omura와 Sato의(1964) 방법으로 측정하였다. 조제된 간 microsomes을 phosphate buffer(pH 7.4)로 희석하고 sodium dithionite를 가한 후 sample cuvette에 CO로 bubbling하였다. 400-500 nm에서 흡광도를 scanning하여 difference spectrum 으로부터 cytochrome P-450을 정량하였다. Microsomal suspension 중의 protein 함량은 Lowry 등의(1951) 방법으로 측정하였다.

모든 실험결과는 각 동물군의 평균± 표준오차로 표시하였다. 각 군은 two-tailed Student's t-test 나 oneway ANOVA 실시 후 Duncan's multiple range test로 비교하였다. 따로 기술하지 않은 한 P<0.05인 경우 유의성있는 차이로 인정하였다.

## 결 과

대표적인 혈청내 간독성지표인 GPT와 GOT는 실험에 사용된 최소용량의 이염화메탄에 의해 변화하지 않았으며 이염화메탄의 용량을 2배 또는 3배로 증가시켰을 때도 증가되지 않았다(Table 1). 비교적 nonspecific tissue injury를 반영하는 LDH는 최소용량의 이염화메탄 투여에 의해서도 대조군에 비하여 상승되었으나 용량의존성을 보이지는 않았다. 한편 사염화탄소는 사용된 용량에서 현저하게 GPT, GOT, LDH 활성을 증가시켜 간독성이 유발되었음을 보여주고 있다. 한편 그 자체로는 간독성을 유발하지 않은 이염화메탄을 사염화탄소와 동시에 투여했을 때 간독성 지표들은 이염화메탄의 용량에 따라 특징적인 변화를 보였다. 이염화메탄은 사용된 최소용량(0.3 g/kg)에서 통계적인 유의성을 보이지는 않으나 다소 GPT와 GOT 활성을 증가시키는 경향을 보였으며 두배 용량에서 현저하게 사염화탄소의 간독성을 증가시켰다. 그러나 이염화메탄의 용량이 세배로 증가되었을 때 사염화탄소의 간독성 증가효과는 오히려 감소하는 양상을 보였다. 이와 같은 이염화메탄에 의한 용량의존적 변화양상은 LDH와 SDH 측정실험

에서도 관찰되었다.

한편 smooth endoplasmic reticulum의 integrity의 손상여부를 반영하는 지표인 glucose-6-phosphatase 활성을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 사염화탄소는 현저하게 glucose-6-phosphatase 활성을 감소시켰으나 이염화메탄은 본 실험에 사용된 최고용량인 1.2 g/kg 용량에서도 이 지표에 영향을 주지 않았으며 또 사염화탄소와 동시에 투여되었을 때에도 사염화탄소의 효과를 증폭시키지 않았다. 오히려 사용된 최고용량에서 사염화탄소에 의해 저하된 glucose-6-phosphatase 활성을 다소 회복시켜 Table 1의 결과와 동일한 양상을 보였다.

사염화탄소의 또다른 표적기관인 신장에 대한 독성의 지표로서 blood urea nitrogen (BUN)과 creatinine을 측정하였다(Table 3). 사염화탄소는 사용된 용량에서 BUN을 유의성있게 증가시켰으나 이염화메탄은 사용된 전 용량에서 이 지표에 영향을 주지 못하였으며 또한 사염화탄소의 효과에도 변화를 주지 않았다. 한편 creatinine level에는 사염화탄소와 이염화메탄은 모두 본

**Table 1.** Changes in parameters of carbon tetrachloride hepatotoxicity induced by dichloromethane treatment in rats.<sup>a</sup>

Treatment	GPT (units/ml)	GOT (units/ml)	LDH (units/ml)	SDH (units/ml)
Control	33 ± 16	110 ± 24	455 ± 128	
CT (1.0 g/kg)	496 ± 393 <sup>b</sup>	594 ± 250 <sup>b</sup>	2044 ± 1449 <sup>b</sup>	
DCM (0.3 g/kg)	38 ± 11	133 ± 43	1103 ± 270 <sup>b</sup>	
DCM (0.6 g/kg)	40 ± 8	134 ± 42	843 ± 267 <sup>b</sup>	
DCM (1.2 g/kg)	46 ± 17	150 ± 34	896 ± 256 <sup>b</sup>	
CT (1.0 g/kg)				
+DCM (0.3 g/kg)	604 ± 375 <sup>b</sup>	1590 ± 1942 <sup>b</sup>	3078 ± 1483 <sup>b</sup>	842 ± 171
+DCM (0.6 g/kg)	2376 ± 1494 <sup>b,c</sup>	8867 ± 6877 <sup>b,c</sup>	4636 ± 845 <sup>b,c</sup>	1262 ± 220 <sup>d</sup>
+DCM (1.2 g/kg)	1127 ± 678 <sup>b</sup>	1936 ± 1220 <sup>b</sup>	2306 ± 862 <sup>b</sup>	

<sup>a</sup>Blood was sampled 24 hr following oral administration of the solvent(s). Each value represents the mean ± SE for 5 to 10 rats.

<sup>b</sup>Significantly different from the control animals ( $P < 0.05$ ).

<sup>c</sup>Significantly different from the animals treated with CT only ( $P < 0.05$ ).

<sup>d</sup>Significantly different from the animals treated concomitantly with CT (1.0 mg/kg) and DCM (0.3 g/kg) ( $P < 0.05$ ).

**Table 2.** Changes in glucose-6-phosphatase activity induced by carbon tetrachloride and dichloromethane in rats.<sup>a</sup>

Treatment	Glucose-6-Phosphatase
	( $\mu$ moles PO <sub>4</sub> formed/g liver/min)
Control	9.39 ± 2.22
CT (1.0 g/kg)	4.28 ± 1.01 <sup>b</sup>
DCM (1.2 g/kg)	10.40 ± 3.81
CT (1.0 g/kg)	
+DCM (0.3 g/kg)	5.38 ± 0.72 <sup>b</sup>
+DCM (0.6 g/kg)	5.07 ± 0.81 <sup>b</sup>
+DCM (1.2 g/kg)	6.05 ± 1.12 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Rats were sacrificed 24 hr following oral administration of the solvent(s) and the enzymic activity was measured in the liver homogenates. Each value represents the mean ± SE for 5 rats.

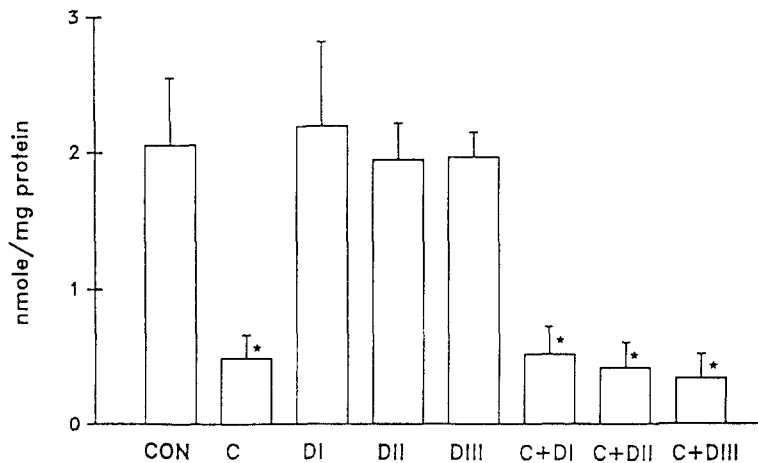
<sup>b</sup>Significantly different from the control animals ( $P < 0.05$ ). However, values with the same superscripts are not different from each other (oneway ANOVA, Duncan's multiple range test).

**Table 3.** Changes in BUN/creatinine in rats treated with carbon tetrachloride and dichloromethane.<sup>a</sup>

Treatment	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
Control	13.6 ± 2.6	0.48 ± 0.08
CT (1.0 g/kg)	24.7 ± 5.5 <sup>b</sup>	0.65 ± 0.14
DCM (0.3 g/kg)	18.3 ± 6.4	0.49 ± 0.09
DCM (0.6 g/kg)	18.6 ± 4.2	0.65 ± 0.24
DCM (1.2 g/kg)	13.6 ± 2.3	0.54 ± 0.13
CT (1.0 g/kg)		
+DCM (0.3 g/kg)	22.6 ± 4.9 <sup>b</sup>	0.56 ± 0.10
+DCM (0.6 g/kg)	22.8 ± 4.9 <sup>b</sup>	0.56 ± 0.11
+DCM (1.2 g/kg)	26.2 ± 4.9 <sup>b</sup>	0.65 ± 0.12

<sup>a</sup>Blood was sampled 24 hr following oral administration of the solvent(s). Each value represents the mean ± SE for 10 rats except the control value which used 5 rats.

<sup>b</sup>Significantly different from the control animals ( $P < 0.05$ ). However, values with the same superscripts are not different from each other (oneway ANOVA, Duncan's multiple range test).

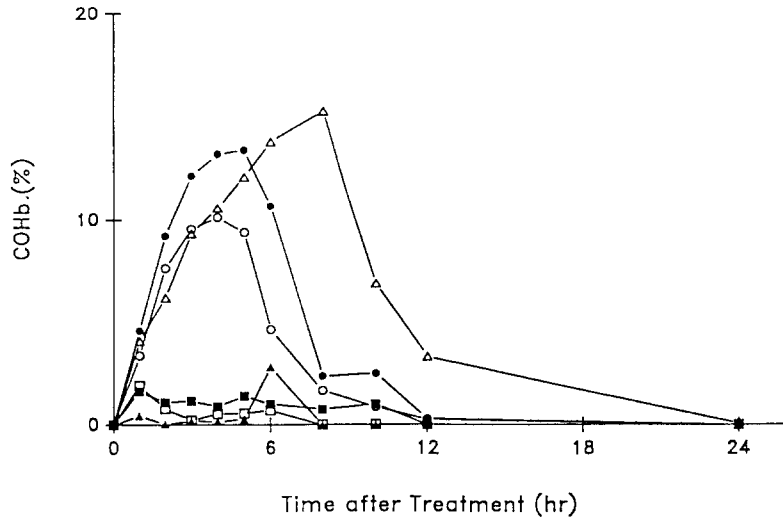
**Figure 1.** Cytochrome P-450 contents in rats treated with DCM and/or CT.

- CON : control
- C : CT (1.0 g/kg)
- DI : DCM (0.3 g/kg)
- DII : DCM (0.6 g/kg)
- DIII : DCM (1.2 g/kg)
- C+DI : CT (1.0 g/kg)+DCM (0.3 g/kg)
- C+DII : CT (1.0 g/kg)+DCM (0.6 g/kg)
- C+DIII : CT (1.0 g/kg)+DCM (1.2 g/kg)

Each value represents the mean ± SE for five rats. An asterisk indicates significant difference from the control animals ( $P < 0.05$ ). However, values with the asterisk are not different from each other (oneway ANOVA, Duncan's multiple range test,  $P > 0.05$ ).

실험에서 사용된 용량에서 영향을 주지 않았다.

사염화탄소와 이염화메탄의 독성활성형으로의 대사를 매개하는 효소군에서 핵심적인 역할을 하며 또 사염화탄소의 간독성에 의해 함량이 감소하는 cytochrome P-450를 측정된 결과는 Fi-



**Figure 2.** Carboxyhemoglobin saturation in rats treated with DCM and/or CT. Each value represents the mean for five rats. Standard errors are omitted for the sake of clarity.

- Open circle : DCM (0.3 g/kg)
- Closed circle : DCM (0.6 g/kg)
- Open triangle : DCM (1.2 g/kg)
- Closed triangle : CT (1.0 g/kg)+DCM (0.3 g/kg)
- Open square : CT (1.0 g/kg)+DCM (0.6 g/kg)
- Closed square : CT (1.0 g/kg)+DCM (1.2 g/kg)

Figure 1과 같다. 사용된 1.0 g/kg의 용량에서 사염화탄소는 정상동물에 비해 cytochrome P-450 level을 약 1/4로 감소시켜 이 효소함량에 손상을 주는 것으로 관찰되었다. 이염화메탄은 용량에 관계없이 cytochrome P-450 함량에 변화를 유발하지 않았으며 또 사염화탄소의 cytochrome P-450 level 저하효과에 영향을 미치지 못하였다.

한편 이염화메탄의 MFO 의존성 대사결과 생성되는 일산화탄소(CO)에 의한 COHb 생성은 Figure 2와 같다. 혈중 COHb peak은 이염화메탄 경구투여 후 약 4시간대에 도달하였으며 그 peak level은 약 12~17%로 투여된 이염화메탄의 용량에 의존적으로 증가하지 않았다. 그러나 이염화메탄의 용량증가에 따라 혈중 COHb level의 감소는 지연되어 최고 용량의 경우 이염화메탄 투여 후 12시간 경과시에도 COHb level은 정상상태에 비해 상승되어 있었다. 사염화탄소가 동시에 투여되었을 때 이염화메탄에 의한 COHb 생성은 저하되어 혈중 COHb level은 전 시간대에 걸쳐 2%를 상회하지 못하였다. 이 결과는 MFO 의존성 반응에 의해 매개되는 이염화메탄으로부터 일산화탄소의 생성이 사염화탄소에 의해 현저하게 억제됨을 보여주고 있다.

## 고 찰

사염화탄소는 대표적인 간 및 신장독성 유발물질로서 오랜 기간동안 연구대상이 되어 왔다. 이 산업용 용매는 간의 MFO 의존성 반응에 의해 trichloromethyl free radical ( $\cdot\text{CCl}_3$ )을 생성하고 이 free radicals에 의해 간독성이 야기됨은 널리 알려져 있다. 그러나 생성된 이 free radicals이 간독성의 유발에 어떻게 기여하는 가에는 아직 많은 논란이 계속되고 있다. 즉, 일부 연구자들은 사염화탄소로부터 생성된 trichloromethyl free radicals에 의해 membrane의 lipid

peroxidation이 일어나고 그 결과 fatty liver, liver necrosis에 이르게 된다는 관점을 유지하는 반면 생성된 free radical이 세포내 protein 및 lipid와 covalent binding을 이루는 것이 사염화탄소의 독성에 더 중요한 역할을 하고 있다는 견해도 제시되고 있다(Gillete, 1974; Recknagel *et al.*, 1982).

한편 사염화탄소의 독성은 여러가지 화합물에 의해 증가됨이 보고되어 있다. 대표적인 물질로는 알콜류로서 ethanol, methanol, isopropanol, butanol은 모두 사염화탄소의 간독성을 증가시킨다(Cornish and Adefuin, 1967; Tragier and Plaa, 1971; Maling *et al.*, 1975; Strubelt *et al.*, 1978). 이중 ethanol은 그 자체가 사염화탄소의 활성화를 매개하는 cytochrome P-450 subtype의 유도물질로 작용하는 것이 그 기전으로 보고되어 있으며(Traiger and Plaa, 1972) isopropanol의 경우 그 대사물인 acetone이 같은 효소계에 ethanol과 동일한 효과를 가지므로 사염화탄소 독성을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Charbonneau *et al.*, 1988). 마찬가지로 여러 종류의 ketones 은 사염화탄소에 의한 독성을 증가시킨다 (Brodeur *et al.*, 1986).

이와 같이 일부 물질들은 사염화탄소의 활성형으로의 대사를 증가시켜 간독성을 증가시키기에 반하여 또다른 물질은 사염화탄소의 대사분해의 증가와는 관계없는 기전에 의해 사염화탄소의 독성에 영향을 주는 것으로 보인다. Suarez 등은(1976) 일산화탄소 흡입이 혈액중 GPT, GOT level을 증가시키며 관찰하였으며, 실험동물에 유발된 methemoglobinemia가 사염화탄소 간독성을 증가시키며 보고된 바 있다(Pankow and Ponsold, 1976). 또한 Shen 등은(1982) 산소 분압을 12%로 저하시킨 공기와 사염화탄소를 랫트에 흡입시켰을 때 사염화탄소의 간독성 지표들이 현저하게 상승됨을 관찰하였다. 저자들은 측정된 lipid peroxidation의 지표들은 변화를 보이지 않았음에 반해 microsomal lipid 및 protein에 사염화탄소의 binding이 현저하게 증가하였음을 관찰하고 이것이 저산소증이 사염화탄소의 간독성을 증가시킨 기전으로 제시하였다.

본 연구실험에서는 이염화메탄이 이 계열의 용매류중에서 가장 저독성으로 인식되어 보다 독성이 강한 사염화탄소 등의 대체물로 사용이 증대되고 있다는 사실과 이염화메탄의 주요 독성이 COHb를 통한 저산소증의 유발에 있다는 점을 주시하여 이염화메탄이 사염화탄소 독성에 주는 영향을 시험하였다. 실험결과 이염화메탄은 사염화탄소에 의한 GPT, GOT 및 SDH 증가를 현저하게 상승시켜 사염화탄소 독성을 증폭시킴을 보였다. 그러나 간독성을 유발하지 않는 용량에서 이염화메탄은 혈중 LDH 활성을 증가시켰으며 이 효소활성의 체내 분포를 고려할 때 이 결과는 이염화메탄에 의해 유도된 저산소증을 통한 nonspecific tissue injury에 기인하는 것으로 보인다. 이염화메탄이 사염화탄소에 의한 혈중 GPT, GOT, 및 SDH 증가효과를 증폭시키나 LDH 활성증가에는 상가작용 만을 보이는 것은 이염화메탄에 의한 LDH 상승효과가 이 용매의 간에 대한 작용에 기인하지 않음을 암시한다. 또한 이염화메탄에 의한 LDH 상승은 실험에 사용된 최소 용량에서 최대에 달해 이염화메탄 용량증가에 따라 더 이상의 상승을 보이지 않았다. 이 결과는 이염화메탄에 의한 COHb 생성 역시 포화현상을 보이는 것과 함께 고려할 때 LDH 상승은 이염화메탄의 대사물인 일산화탄소에 의한 hypoxic injury에 기인하였음을 시사하고 있다.

한편 trichloromethyl free radicals에 의한 peroxidative damage를 반영하는 것으로 인정되는 cytochrome P-450 및 glucose-6-phosphatase 활성은 본 실험에 사용된 용량의 사염화탄소에 의해 현저하게 저하되었으나 추가투여된 이염화메탄은 이 지표들에 영향을 주지 않았다. 이 결과는 사염화탄소 간독성을 증가시키는 이염화메탄의 효과가 사염화탄소 대사물에 의한 lipid peroxidation의 증가에 기인하지 않음을 시사하고 있다. 즉, 위에서 거론한 사염화탄소 간독성에 저산소증 유발물질이 주는 효과를 고려할 때 이염화메탄의 사염화탄소 간독성 증폭효과는 이 용매에 의한 lipid peroxidation의 증가보다는 사염화탄소 대사물의 세포내 macromolecules에 대한 binding 증가효과에 기인하는 것으로 보인다. 이를 검증하는 연구실험은 현재 본 연구실에서 계속 진행중에 있다.

이염화메탄에 의한 COHb 상승은 사용된 용매의 용량증가에 따라 의존적으로 증가하지 않아 이염화메탄으로부터 일산화탄소로의 대사는 실험에 사용된 최소용량에서 포화됨을 보여 주었다. 이 결과는 타 연구자들의 결과와 일치하고 있다(Hogan *et al.*, 1976; Kurppa and Vainio, 1981; Kim and Carlson, 1986). 그러나 투여된 이염화메탄의 용량증가에 따라 혈중 COHb 감소속도는 지연되었으며 이 결과는 이염화메탄의 투여 용량이 증가됨에 따라 혈액 및 기타 조직내의 이염화메탄 잔류량이 증가됨을 시사한다. 이염화메탄의 일산화탄소로의 대사가 포화현상을 보이는 이유는 분명하지 않으나 Hogan 등은(1976) 계속적인 일산화탄소 생성이 cytochrome P-450와 결합하여 MFO 의존성 반응을 저해하는 것을 가설로 제시한 바 있다.

본 실험에서 이염화메탄의 일산화탄소로의 대사는 사염화탄소에 의해 현저하게 억제되었다. 이 억제효과는 사염화탄소의 간독성 결과 약물대사활성이 저하되어 동일한 효소군에 의해 매개되는 이염화메탄의 대사저하에 기인한 것으로 보인다. 사염화탄소와 동시에 투여된 이염화메탄의 용량증가에 따라 다소 COHb level은 증가하였다. 이 두용매는 동일한 효소군에 의해 대사되며 따라서 동시에 투여되었을 때 효소활성부위에서 경쟁적으로 반응할 것이며 따라서 이염화메탄의 용량증가는 효소활성부위에서 사염화탄소와의 경쟁에 유리하게 작용하여 COHb level 상승을 다소 상승시키는 것으로 보인다.

사염화탄소는 본 실험에 사용된 용량에서 일부 신장독성의 지표를 상승시켰으나 이 지표에 대한 이염화메탄의 영향은 관찰되지 않았다.

본 연구실험은 그 자체로는 간독성을 유발하지 않는 용량의 이염화메탄이 사염화탄소의 간독성을 현저하게 증가시킬 수 있음을 보여주고 있다. 따라서 본 실험의 결과는 어떤 화학물질의 위해 (chemical hazards)를 정확히 예측하기 위해서는 동시에 투여되는 저독성 또는 무독성 물질에 의한 혼합효과를 고려해야 하며 이를 위해서는 혼합되는 개별적인 물질의 생체효과 뿐만아니라 각각의 생체내 반응 유발과정에 주는 다른 물질의 효과를 검토해야 함을 지적하고 있다.

## 참 고 문 헌

- Ahmed, A.E. and Anders, M.W. (1976): Metabolism of dihalomethanes to formaldehyde and inorganic halide I. *In vitro* studies, *Drug Metab. Dispos.*, **4**, 357-361.
- Ahmed, A.E. and Anders, M.W. (1978): Metabolism of dihalomethanes to formaldehyde and inorganic halide II. Studies on the mechanism of the reaction, *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 2021-2025.
- Brodeur, J., Plaa, G.L., Charbonneau, M. and Pilon, D. (1986): Metabolites and ketone body production following methyl n-butyl ketone exposure as possible indices of MnBK potentiation of carbon tetrachloride hepatotoxicity, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **36**, 143-150.
- Charbonneau, M., Perreault, F. and Plaa, G.L. (1988): Assessment of the minimal effective dose of acetone for potentiation of the hepatotoxicity induced by trichloroethylene-carbon tetrachloride mixture, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **10**, 431-438.
- Cornish, H.H. and Adefuin, J. (1967): Potentiation of carbon tetrachloride toxicity by aliphatic alcohols, *Arch. Environ. Health*, **14**, 447-449.
- Gerlach, U. (1965): Sorbitol dehydrogenase in *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H.U. Ed.), A.E. Harper. 761.
- Gillete, J.R. (1974): A perspective on the role of chemically reactive intermediates of foreign compounds on toxicity I. Correlation of changes in covalent binding of reactive metabolites with changes in the incidence and severity of toxicity, *Bio-*



- chem. Pharmacol.*, **23**, 2785-2793.
- Hogan, G.K., Smith, R.G. and McLaughlin, J.M. (1976): Studies on the microsomal conversion of dichloromethane to carbon monoxide, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **37**, 112.
- Kim, Y.C. and Carlson, G.P. (1986): The effect of an unusual workshift on chemical toxicity. I. Studies on the exposure of rats and mice to dichloromethane, *Fundam. Appl. Toxicol.* **6**, 162-171.
- Kubic, V.L. and Anders, M.W. (1975): Metabolism of dihalomethanes to carbon monoxide II. *In vitro* studies, *Drug Metab. Dispos.*, **3**, 104-111.
- Kubic, V.L. and Anders, M.W. (1978): Metabolism of dihalomethanes to carbon monoxide III. Studies on the mechanism of the reaction, *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 2349-2355.
- Kubic, V.L., Anders, M.W., Engel, R.R. and Barlow, C.H. (1974): Metabolism of dihalomethanes to carbon monoxide I. *In vivo* studies, *Drug Metab. Dispos.*, **2**, 53-57.
- Kurppa, K. and Vainio, H. (1981): Effects of intermittent dichloromethane inhalation on blood carboxyhemoglobin concentration and drug metabolizing enzymes in rat. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **32**, 535-544.
- Long, R.M. and Moore, L. (1986a): Elevated cytosolic calcium in rat hepatocytes exposed to carbon tetrachloride, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **238**(1), 186-191.
- Long, R.M. and Moore, L. (1986b): Inhibition of liver endoplasmic reticulum calcium pump by carbon tetrachloride and release of a sequestered calcium pump, *Biochem. Pharmacol.*, **35**(23), 4131-4137.
- Maling, H.M., Stripp, B., Sipes, I.J. and Highmann, B.B. (1975): Enhanced hepatotoxicity of carbon tetrachloride, thioacetamide and dimethylnitrosamine by pretreatment of rats with ethanol and some comparisons with potentiation by isopropanol, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **33**, 291-308.
- Moskowitz, S. and Shapiro, H. (1944): Fatal exposure to methylene chloride vapor, *Hyg. Occup. Med.*, **6**, 116-123.
- Omura, T. and Sato, R. (1964): The carbon monoxide-binding pigments of liver microsomes, *J. Biol. Chem.*, **239**(7), 2379-2385.
- Pankow, D. and Ponsold, W. (1976): Effect of methemoglobinemia on carbon tetrachloride hepatotoxicity, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **36**, 143-150.
- Recknagel, R.O. and Glende, E.A.Jr. (1973): Carbon tetrachloride; An example of lethal cleavage, *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, **2**, 263-297.
- Recknagel, R.O. and Glende, E.A.Jr., Waller, R.L. and Lowery, K. (1982): Lipid peroxidation; Biochemistry, measurement and significance in liver cell injury in *Toxicology of the Liver* (Plaa, G.L. and Hewitt, W.R. Eds.), *Raven Press*, 213-241.
- Recknagel, R.O.(1967): Carbon tetrachloride hepatotoxicity, *Pharmacol. Rev.*, **19**, 145-208.
- Rodkey, F.L., Hill, T.A., Pitts, L.L. and Robertson, R.F. (1979): Spectrophotometric measurement of carboxyhemoglobin and methemoglobin in blood, *Clin. Chem.*, **25**, 1388-1393.
- Shen, E.S., Gary, V.F. and Anders, M.W. (1982): Effect of hypoxia on carbon tetrachloride hepatotoxicity, *Biochem. Pharmacol.*, **31**(23), 3787-3793.
- Stewart, R.D. and Hake, C.L. (1976): Paint remover hazard, *J. Am. Med. Assoc.*, **235**,

389-401.

- Strubelt, O., Obermeire, F., Siegers, C.P. and Volpel, M. (1978): Increased carbon tetrachloride hepatotoxicity after low level ethanol consumption, *Toxicology*, **10**, 261-270.
- Suarez, K.A., Carlson, G.P. and Fuller, G.C. (1972): Effect of carbon monoxide or hypoxia on carbon tetrachloride hepatotoxicity, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **23**, 789-791.
- Traiger, G.J. and Plaa, G.L. (1971): Difference in the potentiation of carbon tetrachloride in rats by ethanol and isopropanol pretreatment, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **20**, 105-112.
- Traiger, G.L. and Plaa, G.L. (1972): Relationship of alcohol metabolism to the potentiation of carbon tetrachloride hepatotoxicity induced by aliphatic alcohols, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **183**, 481-488.