

Trichloroethylene 처리한 흰쥐의 간 미크로솜 Alcohol dehydrogenase와 Aldehyde dehydrogenase 활성도에 관한 연구

한국산업안전공단 산업보건연구원

김 기웅 · 강 성규 · 양 정선 · 박 인정 · 문 영한

— Abstract —

Studies on Hepatic Microsomal Alcohol Dehydrogenase(ADH) and Aldehyde Dehydrogenase(ALDH) Activities in Rats Treated with Trichloroethylene

Ki-Woong Kim, Seong Kyu Kang, Jeong Sun Yang, In-Jeong Park, Young-Hahn Moon

*Industrial Health Research Institute Korea Industrial Safety Corporation,
Kusan-Dong 34-4, Puk-Ku, Incheon 403-120, Korea*

Chloral hydrate(CH), an intermediate metabolite of trichloroethylene(TRI) is reduced to trichloroethanol(TCE-OH), and is oxidized to trichloroacetic acid(TCA) by the nicotinamide adenine dinucleotide(NAD)-dependent enzymes such as alcohol dehydrogenase(ADH) and aldehyde dehydrogenase(ALDH) in liver.

This study was performed to find out the change of activity of ADH and ALDH with increasing amount of TRI. Intraperitoneal injection of TRI were done to the male Sprague Dawely rats(mean body weight, 170 ± 10 g) in corn oil at the dosage of 150, 300, 600 mg/kg for 2 days. The results of experiments are following :

1. The contents of xenobiotic metabolic enzymes in liver are tended to be decreased with increasing amount of, but not significantly ($P > 0.05$).
2. Activity of ADH in microsome is decreased($p < 0.05$), and activity of ALDH is increased with amount of TRI($P < 0.05$).
3. Total trichloro-compounds(TTC) concentration in urine are increased with amount of TRI, but the ratio of between the TCE-OH and the TCA were not shown any critical change.

These results suggests that the ALDH in microsome may be related to metabolism of TRI, but ADH was nothing less than the effected to metabolism of TRI.

Key Words : Trichloroethylene, Hepatic microsomal cytochrome P-450, Liver Alcohol dehy-

서 론

Alcohol dehydrogenase(ADH)와 Aldehyde dehydrogenase(ALDH)는 주로 포유류의 간에 존재하는 효소로서 ethanol과 acetaldehyde의 산화-환원 작용에 중요한 역할을 하는 일종의 nicotinamide의존성 탈수소효소(dehydrogenase)이다 (Khanna와 Israel, 1980).

Bonnichsen과 Brink(1955)가 간에 있어서 ADH정제 및 정량방법과 Walkenstein과 Weinhouse(1953)에 의해서 쥐간의 미토콘드리아에 다양한 기질 특이성을 갖는 ALDH가 존재한다는 발표 후 간의 세포내에서 이들 효소와 관련한 많은 연구가 수행되었는데 (Roig 등, 1991; Sinclair 등, 1990; Crabb 등 1983) 특히 이들 효소의 세포질내 분포에 대한 양론적인 연구와 관련해서는 연구자간에 이견이 많다.

Lumeng 등(1979)에 의하면 ADH는 주로 시토플라즘에 존재한다고 하였으며, Teitz(1964)은 세포내에서 ALDH가 시토플라즘과 미크로솜에만 존재한다고 하였으며, Marjanen(1972)은 미토콘드리아에 약 80%이상, 시토플라즘에는 20%정도 존재한다고 보고하였다.

또한 Tottmar 등(1973)에 의하면 시토플라즘과 미크로솜 분획에 NAD^+ 를 보조효소로 하는 긴 사슬의 ALDH가 있음을 보고하였다. ADH와 ALDH가 세포질내의 어떤 장소에 분포하며 전체적인 양이 어느정도 되느냐에 초점을 둔 연구는 세포질내에서 존재하는 장소와 양에 따라서 이들 효소의 기능 및 작용이 다르기 때문이다(최주영과 주충노, 1992; 구현서와 주충노, 1992; cho와 Joo, 1990). 이와같이 ADH와 ALDH는 기질선택성과 반응성이 넓어 ethanol 및 acetaldehyde뿐만 아니라 유기용제 및 환경오염물질과 같은 많은 이물질(xenobiotics)대사에 있어서 중요한 역할을 하는데, 특히 금속표면 세척제, 살충제, 페인트 원료 및 피혁의 지방질 제거에 널리 사용되는(NOISH, 1978) trichloroethylene(TRI)의 대사에 있어서의 작용은 매우 중요하

다(Williams, 1959).

TRI가 체내로 흡입이 되면 간의 endoplasmic reticulum의 microsome에 존재하는 이물질 대사 효소인 cytochrome P-450에 의해서 활성화된 중간체인 chloral hydrate(CH)로 일차변형된 (Reynold와 Molslen, 1977; Miller와 Guengerich, 1982) 후 탈수소효소 즉, ADH와 ALDH에 의해서 trichloroethanol(TCE-OH)과 trichloroacetic acid(TCA)로 이차변형되며 체외로 배설된다 (Daniel, 1963; Byngton과 Leibman, 1965).

kawamoto 등(1987)에 의하면 원취에 0.25mM 이하 0.5mM이상의 CH를 투여하였을 경우에 낮은 농도(below 0.25mM)에서는 TCE-OH보다 TCA가 더 생성이 되고, 높은 농도(over 0.5mM)에서는 많은 양의 TCE-OH가 생성된다고 보고하였다. 또한, Nakanishi 등(1978)에 의하면 TRI에 폭로시킨 후 간에 있어서 ALDH 활성도와 혈중에 있어서 acetaldehyde수준을 실험한 결과, TRI의 대사시 혈중의 acetaldehyde 농도는 증가했으며, 간 미

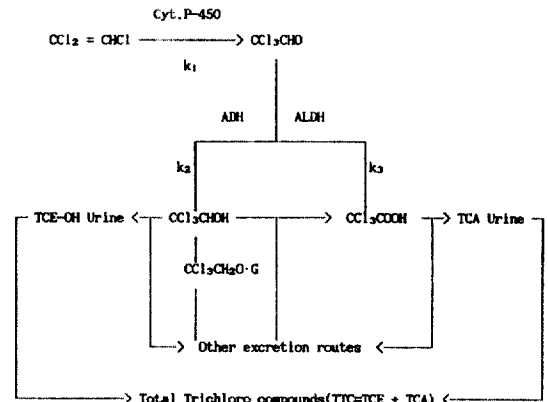


Fig 1. A scheme of TRI metabolism proposed by Fernandez et al.(1977) with a slight modification. (Cyto. P-450; Cytochrome P-450, ADH; Alcohol Dehydrogenase, ALDH; Aldehyde Dehydrogenase, TCE-OH; Trichloroethanol, TCA; Trichloroacetic Acid, CCl_3CH_2O-G ; TRI-Glucuronide conjugation form)

토콘드리아 분질의 low Km ALDH의 활성도는 감소되었고 미토콘드리아와 미크로솜의 high Km ALDH의 활성도 변화는 나타나지 않았다고 보고하였다.

그러므로 본 연구는 흰쥐를 이용하여 산업체에서 많이 사용되는 TRI의 대사에 있어서 전체적인 대사 속도를 조절하는 간장의 mixed function oxidase(MFO)의 활성도와 미크로솜에 존재하는 탈수소효소인 ADH와 ALDH의 활성도가 TRI의 투여 농도에 따라 변화되는 양상을 관찰하고, 이들 효소들에 의하여 대사된 후 배설되는 요중 대사산물의 양을 측정하여 상관성을 보고자 시도하였다.

재료 및 방법

Cytochrome C, NADPH, NADH, sucrose, BSA, pyrazol, acetaldehyde, ethanol, KCl, sodium hydroxide, sodium phosphate, glycine 등 관련 실험에 사용된 시약은 Sigma사로부터 구입하였으며, 투여물질인 trichloroethylene은 Aldrich사로부터 구입하여 사용하였고 그밖의 일반적인 시약은 Sigma사와 Aldrich사로부터 구입하여 사용했다.

실험동물은 국립보건안전연구원으로부터 분양받은 Sprague Dawley(sp-D)계 6주령 웅성 흰쥐(170±10g)를 사용하였으며, 실험 1주일전부터 온도(23±3°C), 습도(55±5%) 및 채광조절(12h light/dark)된 사육장에서 사료와 음용수를 자유로이 섭취시킨후 대조군과 150, 300, 600 mg/kg TRI 처리군으로 분류하여 corn oil에 용해시켜 1일 1회씩 2일간 연속하여 복강주사하였으며, 각 실험군은 4마리로 하였다.

1. 간 Microsome 분획의 분리

실험동물을 경부탈골에 의한 방법에 의해 죽인후 즉시 간을 절제하여 0.9% sodium chloride solution(saline 용액)으로 혈액을 씻어내고, 응고된 혈액 및 지방질을 제거한 간을 0.25M sucrose 용액으로 균질화한 다음, 차등 원심분리(12,000xg에서 40분, 105,000xg에서 60분)하여 KCl(0.15M)로 씻어낸후 남은 pellet만을 모아 0.25M sucrose로 resuspension한 후(Park and Kim, 1984) 단백질 정량, 활성도 측정 및 각종실험에 사용하였다.

모든 실험과정들은 0-4°C에서 수행하였으며 다음 실험을 위하여 분리한 microsome 분획을 -70°C에 보관하였다.

2. 단백질, Cytochrome P450 및 Cytochrome b₅ 정량

Lowry 등(1951)의 방법에 의해서 BSA를 표준 물질로 하여 단백질 농도를 결정하였다.

Cytochrome P450의 함량은 Omura와 Sato의 방법(1964)에 따라 450 nm와 490 nm에서 흡광도 차이를 측정하여 몰 흡광계수 91 Cm⁻¹mM⁻¹로 부터 함량을 결정하였으며, cytochrome b₅의 농도는 Werringloar와 Estabrook의 방법(1975)에 의하여 426 nm와 409 nm에서 흡광도 차이를 측정하여 몰 흡광계수 185 Cm⁻¹mM⁻¹을 이용하여 농도를 결정하였다.

3. 간 microsomal fraction의 Alcohol dehydrogenase(ADH) 및 Aldehyde dehydrogenase(ALDH) 활성도 측정

ADH의 활성도 측정은 Bonnichsen과 Brink(1955)의 방법을 다소 변형하여 측정하였다. 반응액의 최종농도 조성(1ml)은 48mM glycine-sodium hydroxide buffer(pH9.6), 0.8 mM NAD⁺, 3mM ethanol과 효소원으로 하여 340nm에서 흡광도를 측정하여, 몰 흡광계수(ε = 6,220 M⁻¹Cm⁻¹)를 이용하여 계산하였다.

ALDH는 Tottmar 등(1973)의 방법을 변형하여 최종농도 조성을 1ml로 하여, 50 mM sodium pyrophosphate buffer(pH 8.5), 1 mM NAD⁺, 2 mM pyrazol, 10 mM acetaldehyde와 효소원으로 하여 340 nm에서 흡광도를 측정하고, 몰 흡광계수 6,220 M⁻¹Cm⁻¹를 이용하여 활성도를 계산하였다.

4. 뇨중 대사산물 측정

TRI를 복강주사한 후 metabolic cage를 이용하여 24시간 뇨를 채취하여, 실험전까지 냉장보관 하였으며, 시료분석은 48시간 이내에 수행하였다.

요중 TCE-OH 및 TCA의 분석은 Christensen 등(1988)의 방법에 의해서 headspace sampler가 부착된 GC/ECD(Hewlett Packard 5890, USA)를 이용하여 분석하였다.

5. 자료분석

실험자료 분석은 PC/SPSS통계프로그램을 이용

Table 1. Effects of trichloroethylene on the contents of hepatic protein

TRI(mg/kg)	Quantity of Protein			
	Microsomal Protein Mean (mg/ml) ±SD	Cytochrome P-450 Mean (nmol/mg) ±SD	Cytochrome b ₅ Mean (nmol/mg) ±SD	b ₅ /P-450 (%)
Control	5.81±0.5413	1.0330±0.3575	0.3163±0.0669	30.6
150	5.65±0.5332	0.9797±0.2527	0.2990±0.0655	30.5
300	5.69±0.7181	0.8489±0.1305	0.2692±0.0678	31.7
600	5.92±0.9842	0.7455±0.1059	0.2350±0.0421	31.5
F-value	0.14	1.53	1.68	

* all F-values are not statistically significant

Table 2. Specific activities for the NAD⁺-dependent alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in microsomal fraction from rats treated with trichloroethylene

TRI(mg/kg)	Activity of Liver Enzyme (U/mg of Protein)	
	ADH(U/mg) ± SD	ALDH(U/mg) ± SD
Control	0.0140±0.0017	0.0319±0.0027
150	0.0096 ^a ±0.0095	0.0403±0.0064
300	0.0119±0.0019	0.0504 ^a ±0.0027
600	0.0109 ^a ±0.0001	0.0574 ^a ±0.0034
F-value	6.38	22.69

* p<0.05

a : Significantly different from control at $\alpha = 0.05$

하여 실험군에 있어서 측정된 결과를 일원배치로 분산 분석하였고, Scheffe 방법으로 실험군간의 평균치를 비교하였다.

결 과

1. 단백질 함량의 변화

TRI 처리후 간 microsomal 단백질과 cytochrome P-450, cytochrome b₅의 함량변화를 본 결과 표1의 성적을 얻었다.

생체내에 흡입된 이물질과 생체합성물질은 여러가지 생체반응을 통하여 생물학적인 변화를 거쳐 대사가 되는데, 이때 깊은 관여를 하고 있는 microsomal 단백질에 대한 TRI의 투여농도별 영향을 실험한 결과, 대조군과 비교시 투여농도에 따른 영향은 나타나지 않았다(p>0.05). 유도물질과 종에 따른 유전적인 형태에 의해서 현저한 차이를 보이는 cytochrome P-450의 함량을 실험군별로 비교시, TRI 150 mg/kg 처리군은 0.9797로 300 mg/kg은 0.8489로 나타났으며 600 mg/kg 처리군에 있어서는

0.7455 nmol/mg으로 대조군(1.0330 nmol/mg)보다 처리군에 있어서 약 5-18% 정도 감소되는 현상을 나타냈으나 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다(p>0.05). 또한 이물질 및 생체내 고분자물질(fatty acids, hormone 등)의 대사시 산화-환원 반응에 관여하여 전자를 전달하는 물질로 알려진 cytochrome b₅ 함량을 측정된 결과를 보면, 대조군에 있어서의 cytochrome b₅ 함량은 0.3163 nmol/mg으로 측정되었으며, TRI 처리군에 있어서는 150 mg/kg 투여시 0.2990 nmol/mg, 300 mg/kg과 600 mg/kg 투여시 각각 0.2692와 0.2350 nmol/mg으로 투여량의 증가에 따라 대조군보다 다소의 감소현상을 보였으나 통계학적으로 유의하지는 않았다(p>0.05).

2. 간 microsomal fraction의 Alcohol dehydrogenase (ADH) 및 Aldehyde dehydrogenase (ALDH) 활성도 측정

TRI 대사에 있어서 활성화된 CH를 TCE-OH와 TCA로 배설시키는 ADH와 ALDH의 활성도를 측정된 결과 표2의 성적을 얻었다.

ADH 활성도는 TRI를 처리하지 않은 대조군에서

의 평균값이 0.0140 U/mg로 측정되었으며 150 mg/kg 투여군에서는 0.0096 U/mg, 300 mg/kg과 600 mg/kg 투여군에서는 각각 0.0119 U/mg, 0.0109 U/mg으로 측정되었다. 대조군과 비교해 보면 투여군에 있어서 간 마이크로솜에 존재하는 ADH 활성도가 감소된 경향을 보이는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

ALDH활성도의 경우, ADH활성도와 상반되는 경향을 보이는데, 대조군에서 0.0319 U/mg로 측정되었으며, 농도별 투여군에 있어서 150 mg/kg군에서는 0.0403 U/mg, 300 mg/kg 투여군에서는 0.0504 U/mg, 600 mg/kg 투여군에서는 0.0574 U/mg으로 각각 측정이 되었다. 측정된 군별 ALDH의 활성도를 보면 투여농도 증가와 더불어 활성도의 증가도 보이고 있다($p < 0.05$).

3. Trichloroethylene의 요중 대사산물 농도

각 실험군별 TRI의 요중 대사산물의 배설량은 표 3과 같다.

TRI의 투여 용량별 24시간 요중 TCE-OH의 배설량은 TRI를 투여하지 않은 대조군의 경우 15.91 mg/l로 측정이 되었으며, 투여군에 있어서 150 mg/kg은 973.28 mg/l, 300 mg/kg은 1954.01 mg/l로, 600 mg/kg 투여군은 3176.34 mg/l로 각각 측정되었다. 대조군과 투여 용량별 실험군과 비교시 TRI의 투여 용량의 증가에 따라 요중 TCE-OH의 배설량도 증가되었다.

TRI의 요중 대사산물의 하나인 TCA의 배설량을 보면, 대조군에서는 3.96 mg/l 측정되었으나, 투여군에 있어서 150 mg/kg군은 229.91 mg/l, 300 mg/kg 군은 355.59mg/l로 측정되었고 600 mg/kg 투여군은 528.92 mg/l로 측정이 되었다. 또한 24시간 요중 총 삼염화물의 배설량을 보면, 대조군은 19.87 mg/l, 150 mg/kg 군은 1203.19 mg/l, 300 및

600 mg/kg 투여군의 경우는 2309.60 mg/l, 3705.26 mg/l로 각각 측정이 되었다. 그러나 이들 실험군에 있어서 투여 용량이 증가함에 따라 전체적인 배설량은 증가하나, 투여용량별 TCE-OH의 증가율과 TCA의 증가비율의 변화는 나타나지 않았다 ($p > 0.05$).

고 찰

본 연구는 금속표면 세정제, 추출용매, 페인트 원료 및 유기물질 제거용으로 널리 이용되는 TRI가 체내에 흡입되었을 때, 생체내 자기방어 기전에 의해서 간에서의 이물질 대사효소, 즉 cytochrome P-450 dependent monooxygenase의 농도변화, 탈수소효소인 ADH와 ALDH의 활성도 변화와 TRI의 요중대사물 배설량을 TRI의 투여농도와 연관하여 관찰하였다.

TRI의 대사에 있어서 대사속도를 결정하는 단계는 대사 중간체인 CH가 형성되는 단계이고(k_1), 이때 관여하는 효소가 cytochrome P-450이다. 금번 실험결과, 간 microsomal 단백질의 함량변화는 대조군과 투여군간에 있어서 유의성이 없는 것으로 나타났으며($p > 0.05$), cytochrome P-450과 b_5 의 함량은 대조군에서 보다 처리군에 있어서 투여농도의 증가에 따라 감소하는 경향을 보이고 있으나 통계학적인 유의성은 없었다($p > 0.05$).

Okino 등(1990)에 의하면 6주령 Wister계 웅성 흰쥐에 8시간 동안 500ppm(≈ 2.7 g)과 2000 ppm(≈ 10.8 g)의 TRI에 폭로시 통계학적인 유의성은 없으나($p > 0.05$), microsomal 단백질이 증가하는 현상을 보고하였다. 그러나 Rouisse와 Chakrabarti(1986)는 TRI의 투여용량을 0.25,

Table 3. Cumulative amount of urinary metabolite in 24 after ip administration to different doses of trichloroethylene

TRI(mg/kg)	Urinary methabolite level(mg/l)		
	TCE-OH	TCA	Total
Control	15.91±1.13	3.96±1.01	19.87±0.74
150	973.28±89.05	229.91±54.64	1203.19±114.17
300	1954.01±303.50	355.59±80.15	2309.60±369.69
600	3176.34±346.24	528.92±89.99	3705.26±421.99

Values in the table are mean±SD

0.50, 0.75, 1.00, 1.50, 2.00 ml/kg TRI(d_{20} : 1 ml=0.68g)로 하여 1일 복강주사한 후 간장의 microsome 단백질 함량을 측정된 결과, 투여량이 1.0 ml(약 0.68g) 투여군까지는 감소를 보이다 1.5 ml 투여군 부터는 다소 증가하는 현상을 보였다 ($p < 0.05$). 그러나 본 실험에 있어서는 TRI의 농도를 달리하여 2일간 처리한 투여군(150, 300, 600 mg/kg TRI)에 있어서 함량 변화가 뚜렷이 나타나지 않았다. 이러한 결과를 Okino 등(1990)과 Rouisse와 Chakrabarti(1986)의 연구결과와 비교 해석해보면, CH의 생성량을 측정하지 않아서 단정하기는 어려우나 간 조직검사에서 간손상이 있음을 보아 TRI에 의한 간손상의 결과라 보여진다. 또한 Koop 등(1985)은 New Zealand White male rabbits(2.0-2.5kg)에 TRI 11 mmol/kg을 1회 복강주사한 후 간 microsomes에 있는 cytochrome P-450의 함량을 관찰한 결과, 투여하지 않은 군에서 보다 감소된 측정치를 보였고, Kawamoto 등(1988)은 반복적인 TRI 폭로시 cytochrome P450이 유도된다고 하였으며, Okino 등(1991)은 TRI 투여량이 1.0 ml (d_{20} : 0.68 g/kg) 미만의 폭로시에 cytochrome P450의 함량이 감소되는 경향을 보이거나 통계학적으로 유의하지는 않았으며 ($p > 0.05$), 1.0ml/kg TCE 이상의 폭로시에 통계학적으로 유의한 감소가 나타난다고 보고 하였다($p < 0.05$). 금번 실험에 있어서 TRI의 투여농도를 달리하여 간장에 있어서 cytochrome P450의 함량을 측정된 결과, 통계적인 유의성은 없으나 ($p > 0.05$) 투여농도의 증가에 따라 감소하는 경향을 보여 Koop 등(1985)과 Okino 등(1991)의 결과와 일치하는 경향을 보였다.

ADH와 ALDH는 NAD^+ 와 NADP를 보조효소로 이용하여 생체내 합성물질과 이물질질을 산화-환원 작용을 시키는데, ADH는 dimeric zinc metalloenzyme으로서 이 효소의 활성도는 체내의 호르몬 상태(Mezey 등, 1988; Mezey 등, 1986), 약물(Cablieria 등, 1989; Roig 등:1991), 식이상태(Lumeng 등, 1979)등에 따라 영향을 받는다. 금번 실험에 있어서 TRI에 의한 간 microsome에 있어서의 ADH의 활성도 변화는 대조군과 투여군의 비교시 투여군에 있어서 활성도가 감소된 현상을 보였다($p < 0.05$). ADH가 주로 시토플라에 존재하고

있어 microsome내의 ADH의 양은 시토플라에 있는 ADH의 양과 비교시 매우 적어 ADH보다는 다른 효소에 의해서 대사 중간체인 CH가 TCE-OH로 변환되기 때문으로 생각된다.

ALDH는 체내의 전반적인 기관에 분포하고 있는데, 특히 간에서 추출한 ALDH에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Tottmar 등, 1973; Carbb 등, 1983; Card와 Berin, 1989; Sinclair 등, 1990). 간 세포질내의 mitochondria, cytosol 및 microsome에 분포하고 있는 ALDH는 동위효소의 형태와 분자량이 다르며, 기질의 형태에 따라서 작용특이성이 다르다(Takagi 등, 1985; Tottmar 등, 1973; Cho와 Joo, 1990). 이와같이 세포질내에 존재하는 부분에 따라 ALDH의 성질이 다르다는 점을 고려하여 microsome에 있는 ALDH에 의한 TRI의 대사에 따른 영향을 보기 위하여 실험한 결과, 대조군에서 보다 투여군에 있어서의 ALDH의 활성도가 증가하고 있다. 이러한 현상은 세포질내의 mitochondria, cytosol의 ALDH에 대한 활성도를 측정하지 않고, microsome에 있는 ALDH 활성도만을 측정하여 TRI의 대사에 관여하는 ALDH에 대한 전반적인 작용을 파악하기는 어려우나, Benedetti 등(1984)과 Cho와 Joo(1990) 등의 연구결과에서 나타났듯이 포화 및 불포화 탄화수소의 탄소수가 증가할수록 km 값이 감소하고 있어 microsome ALDH는 TRI와 같이 탄소수가 적은 탄화수소의 대사에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 보여진다.

TRI를 포함한 대부분의 유기용제에 대한 흡수, 분포, 대사, 배설 등의 기전과 표적기관, 체내 흡수에 대한 생물학적 감시(biological monitoring) 방법등은 많은 연구가 되고 있는데, TRI의 경우는 요즘 총삼염화물(TCE-OH과 TCA)의 측정으로 생물학적 감시를 하고 있다(Ogata 등, 1970; Ikeda와 Hara, 1980; ACGIH, 1991). Soucek과 Valchova(1960)에 의하면 흡수된 TRI의 73% 중 50% 정도는 TCE-OH로, 19%는 TCA, 나머지 4%는 monochloroacetic acid로 배설된다고 하였으며, Nakajima 등(1988)은 Wister계 웅성 흰쥐(8-12주)에 TRI를 500, 1000, 2000, 4000, 8000 ppm을 2시간 동안 폭로시킨 후 요즘 총삼염화물의 배설량을 측정된 결과, 배설된 총삼염화물중 TCA

의 양은 전체의 2.9%이하로서 대부분 TCE-OH로 배설된다고 하였다. 금번 연구에 있어서 투여군의 경우 TRI의 투여량 증가에 따라 총삼염화물의 배설량은 증가하였으나(표 3), 총삼염화물 중 TCE-OH(약 83%)와 TCA(약 17%)의 배설량 비율은 투여량에 따라서 차이를 보이지 않았으며, Nakajima 등(1988)의 실험결과와 금번 연구결과를 비교시 TCA의 배설량이 차이를 보이는데, 이러한 현상은 종(species)과 폭로방법에 따른 흡수와 분포상태, 용용수의 섭취 및 식이상태 등 여러가지의 요인으로 인한 결과라 보여진다. 따라서 본 연구는 동물을 대상으로 하여 인위적으로 일정량의 TRI를 복강주사한 후 나타난 현상을 관찰한 결과로서 산업보건학적인 측면에서 사람을 대상으로 적용하기에는 다소의 어려움이 따를 것으로 보이나, TRI의 대사기전과 이 물질의 대사시 관여하는 특정한 효소들의 성질을 파악하므로 인하여 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 보인다.

결 론

TRI의 중간체인 chloral hydrate(CH)는 간에 있는 NAD⁺의존성 효소인 ADH와 ALDH에 의해서 TCA와 TCE-OH로 산화, 환원된다. 본 연구는 TRI의 투여용량에 따른 ADH와 ALDH의 활성도 변화를 관찰하기 위하여, 웅성 Sprague Dawley계 흰쥐(170±10g)에 TRI를 150 mg/kg, 300 mg/kg, 600 mg/kg을 2일간 복강주사한 후 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 간장에 있어서 이물질 대사 효소의 함량변화는 통계학적으로 유의하지는 않았지만($p > 0.05$), 투여량 증가에 따라 감소하는 경향을 보였다.

2. Microsome에 있는 ADH의 활성도는 TRI의 투여용량에 따라 감소되고($p < 0.05$), ALDH의 활성도는 TRI의 투여량과 더불어 유의한 증가를 보였다($p < 0.05$).

3. 요중 총삼염화물의 배설량은 TRI의 투여량에 따라 증가를 보였으나, TCE-OH와 TCA의 배설량 비는 차이를 보이지 않았다.

이상의 결과를 보아 microsome에 존재하는 ALDH는 TRI의 대사에 관여하는 것으로 보이나 microsome ADH는 TRI의 대사에 미치는 영향이

매우 적은 것으로 보인다.

REFERENCES

- 구현서, 주충노 : 소의 간 시토크롬 알데히드 탈수소효소의 정제와 특성에 관한 연구, 한국생화학회지 1992;25:475-482
- 최주영, 주충노 : 쥐의 간 미토콘드리아 Aldehyde Dehydrogenase의 분포와 특성에 관한 연구, 한국생화학회지 1992;25:452-459
- ACGIH : *TLVs Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices for 1991-1992, Cincinnati, OH, ACGIH, 1991*
- Benedetti AM, Comporti R, Fulceri R, and Esterbauer H : *Cytotoxic aldehydes originating from the peroxidation of liver microsomal lipids. Biochem Biophys Acta 1984;792:172-181*
- Bonnichsen RK and Brink NG : *Liver Alcohol dehydrogenase. Methods in Enzymology 1955;78:495-500*
- Byngton KH, Leibman KC : *Metabolism of trichloroethylene in liver microsome. II. Identification of the reaction products as chloral hydrate. Molecular Pharmacology 1965;1:247-254*
- Caballeria J, Baraona E, Rodamilans M, and Lieber CS : *Effects of Cimetidine on Gastric Alcohol Dehydrogenase Activity and Blood Ethanol Levels. Gastroenterology 1989;96:388-392*
- Card SE and Brien JF : *No effect of chronic ethanol administration on the activity of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in the near-term pregnant guinea pig. Can J Physiol Pharmacol 1989;67:601-606*
- Cho EW, Joo CN : *Probable Function of Rat Liver Microsomal Aldehyde Dehydrogenase. Korean Biochem J 1990;23:528-534*
- Christensen JM, Rasmussen K, Koeppen B : *Automatic headspace gas chromatographic method for the simultaneous determination of trichloroethylene and metabolites in blood and urine. J Chromatogr 1988;442:317-323*
- Crabb DW, Bosron WF, and Li T-K : *Steady-State Kinetic Properties of Purified Rat Liver Alcohol*

- Dehydrogenase : Application to Predicting Alcohol Elimination Rates in Vivo. Arch Biochem Biophys* 1983;224(1):299-309
- Daniel JW : *The metabolism C¹⁴-labelled trichloroethylene and tetrachloroethylene in the rat. Biochem Pharmacol* 1963;12:795-802
- Fernandez JG, Droz PO, Humbert BE, and Caperos JR : *Trichloroethylene exposure simulation of uptake, excretion, and metabolism using a mathematical model. Br J Ind Med* 1977;34:43-55
- Ikeda M, Hara I : *Evaluation of the exposure to organic solvents by means of urinalysis for metabolites. Jap J Ind Health* 1980;22:3-17
- Kawamoto T, Hobarra T, Nakamura K, Imamura A, Ogino K, Kobayashi H, Iwamoto S, and Sakai T : *Induction of cytochrome P-450, cytochrome b₅, NADPH-cytochrome C reductase and change of cytochrome P-450 isozymes with long-term trichloroethylene treatment. Toxicology* 1988;53:239-249
- Khanna JM and Israel Y : *Ethanol metabolism. Int Rev Physiol* 1980;21:275-315
- Koop DR, Crump BL, Nordblom GD, and Coon MJ : *Immunochemical evidence for induction of the alcohol-oxidizing cytochrome P-450 of rabbit liver microsomes by diverse agents : Ethanol, imidazole, trichloroethylene, acetone, pyrazole, and isoniazid. Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:4065-4069
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, and Randall RJ : *Protein measurement with folin phenol reagent. J Biol Chem* 1951;193:401-404
- Lumeng L, Bosron WF, Li T-K : *Quantitative correlation of ethanol elimination rates in vivo with liver alcohol dehydrogenase activity in fasted and food-restricted rats. Biochem Pharmacol* 1979;28:1547-1551
- Marjanen L : *Intracellular localization of aldehyde dehydrogenase in rat liver. Biochem J* 1972;127:633-639
- Mezey E, Potter JJ, Litt MR and Rhodes DL : *Influence of epinephrine on alcohol dehydrogenase activity in rat hepatocyte culture. Biochem Pharmacol* 1988;37:2993-3000
- Mezey E, Potter JJ, Phodes DL : *Effect of Glucagon on Alcohol Dehydrogenase Activity in Rat Hepatocyte Culture. Gastroenterology* 1986;91:1271-1277
- Miller RE, and Guengerich FP : *Oxidation of trichloroethylene by liver microsomal cytochrome P-450 : Evidence for chlorine migration in a transition state not involving trichloroethylene oxide. Biochemistry* 1982;21:1090-1097
- Nakajima T, Okino T, Okuyama S, Kaneko T, Yonekura I, and Sato A : *Ethanol-induced Enhancement of Trichloroethylene Metabolism and Hepatotoxicity : Difference from the Effect of Phenobarbital. Toxicol Appl Pharmacol* 1988;94:227-237
- Nakanishi S, Shiohara E, Tsukada M, Yamazaki H, Okumura K : *Acetaldehyde level in blood and liver aldehyde dehydrogenase activities in trichloroethylene treated rats. Arch Toxicol* 1978;41:207-214
- Niosh : *Special Occupational Hazard Review with Control Recommendation Trichloroethylene, US. Dept. of Health Education and Welfare Public Health Service, 1978, 1-59*
- Ogata M, Takatsuka Y, Tomokuni K : *A simple method for the quantitative analysis of urinary trichloroethanol and trichloroacetic acid as an index of trichloroethylene exposure. Br J Ind Med* 1970;27:378-381
- Okino T, Nakajima T, and Nakano M : *Morphological and biochemical analysis of trichloroethylene hepatotoxicity : Differences in ethanol and phenobarbital pretreated rats. Toxicol Appl Pharmacol* 1991;108:379-389
- Omura T, Sato R : *The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. J Biol Chem* 1964;239:2370-2378
- Park KH and Kim CR : *Induction of the different forms cytochrome P-450 isozymes and comparison of aryl hydrocarbon hydroxylase levels on rat tissues by chemical treatment. Korean Biochem J* 1984;17:10-19
- Reynold ES, and Moslen MT : *Damage to hepatic cellular membranes by chlorinated olefins with emphasis on synergism and antagonism. Environ*

- Health Perspect* 1977;21:137-147
- Roig MG, Bello F, Burguillo FJ, Cachaza JM, and Kenedy JF : *In vitro* interaction between psychotropic drugs and alcohol dehydrogenase activity. *J Pharmaceut Sci* 1991;80:267-270
- Rouisse L, and Chakrabarti SK : Dose-dependent metabolism of trichloroethylene and its relevance to hepatotoxicity in rats. *Environmental Research* 1986;40:450-458
- Sinclair J, Lambrecht L, Smith EL : Hepatic alcohol dehydrogenase activity in chicken hepatocytes towards the major alcohols present in commercial alcoholic beverages : Comparison with activities in rat and human liver. *Comp Biochem Physiol* 1990;96B(4):677-682
- Soucek B, Vlachova D : Excretion of trichloroethylene metabolites in human urine. *Br J Ind Med* 1960;17(60):60-64
- Takagi Y, Ito A, and Omura T : Biogenesis of microsomal aldehyde dehydrogenase in rat liver. *J Biochem* 1985;98:1647-1652
- Teitz A: Lindberg M, and Kennedy EP. *J Biol Chem* 1964;239:4081-4090
- Tottmar SOC, Pettersson H and Kiessling K-H : *The Subcellular Distribution and Properties of Aldehyde Dehydrogenase in Rat Liver. Biochem J* 1973;135:577-586
- Walkenstein SS and Weinhouse S : Oxidation of aldehydes by mitochondria of rat tissues. *J Biol Chem* 1953;200:515-523
- Werringloar J, and Estabrook NR : Heterogeneity of liver microsomal cytochrome P-450 : The spectral characterization of reactants with reduced cytochrome P-450. *Arch Biochem Biophys* 1975;167:270-286
- Williams RT : *In detoxification mechanism. John Wiley & Sons, New York 1959, pp29-30*