

□ 원 저 □

Paraquat중독에 의한 폐독성에 미치는 Aminotriazole의 영향

조선대학교 의과대학 내과학교실

이승일 · 안기완 · 정춘해

= Abstract =

Effects of Aminotriazole on Lung Toxicity of Paraquat Intoxicated Mice

Seung Il Lee, M.D., Gi Wan An, M.D. and Choon Hae Chung, M.D.

Department of Internal Medicine, Chosun University College of Medicine, Kwangju, Korea

Background: Paraquat, a widely used herbicide, is extremely toxic, causing multiple organ failure in humans. Paraquat especially leads to irreversible progressive pulmonary fibrosis, which is related to oxygen free radicals. However, its biochemical mechanism is not clear. Natural mechanisms that prevent damage from oxygen free radicals include changes in glutathione level, G6PDH, superoxide dismutase(SOD), catalase, and glutathione peroxidase. The authors think catalase is closely related to paraquat toxicity in the lungs

Method: The effects of 3-amino-1,2,4-triazole(aminotriazole), a catalase inhibitor, on mice administered with paraquat were investigated. We studied the effects of aminotriazole on the survival of mice administered with paraquat, by comparing life spans between the group to which paraquat had been administered and the group to which a combination of paraquat and aminotriazole had been administered. We measured glutathione level, glucose 6-phosphate dehydrogenase(G6PDH), superoxide dismutase(SOD), catalase, and glutathione peroxidase(GPx) in the lung tissue of 4 groups of mice: the control group, group A(aminotriazole injected), group B(paraquat administered), group C(paraquat and aminotriazole administered).

Results: The mortality of mice administered with paraquat which were treated with aminotriazole was significantly increased compared with those of mice not treated with aminotriazole. Glutathione level in group B was decreased by 20%, a significant decrease compared with the control group. However, this level was not changed by the administration of aminotriazole(group C). The activity of G6PDH in all groups was not significantly changed compared with the control group. The activities of SOD, catalase, and glutathione peroxidase(GPx) in the lung tissue were significantly decreased by paraquat administration(group B); catalase showed the largest decrease. Catalase and GPX were significantly decreased by aminotriazole treatment in mice administered with paraquat but change in SOD activity was not significant (group C).

Conclusion: Decrease in catalase activity by paraquat suggests that paraquat toxicity in the lungs is closely related to catalase activity. Paraquat toxicity in mice is enhanced by aminotriazole administration, and its result is related to the decrease of catalase activity rather than glutathione

level in the lungs.

Production of hydroxyl radicals, the most reactive oxygen metabolite, is accelerated due to increased hydrogen peroxide by catalase inhibition and the lung damage probably results from nonspecific tissue injury of hydroxyl radicals.

Key Words: Paraquat, Aminotriazole, Lung toxicity

서 론

Paraquat(N,N'-dimethyl-4,4'-bipyridilium; methyl viologen)는 광범위 제초제로 널리 사용되고 있는데, 미생물이나 동물 및 사람에게 중독시 치명적인 중독증상을 일으킨다¹⁻⁴⁾. Paraquat 독성은 초기에 신장, 간장, 심장, 중추신경계, 부신, 골격근, 비장등 여러기관에 손상을 초래하지만 최종적인 표적기관은 폐장으로 진행성 불가역성 폐섬유증을 유발한다⁵⁾. 따라서 이러한 paraquat 유발성 폐섬유증이 간질성 폐질환의 원인과 병리기전을 연구하는 model로서 이용 되기도 한다.

Paraquat는 세포내 효소 즉 DT-diaphorase나 xanthine oxidase 등에 의해 전자를 받아서 paraquat radical로 환원되고 산소가 존재하면 자가산화에 의해 superoxide가 형성되므로 paraquat독성은 세포내 superoxide와 같은 산소유리의 생성과 관련이 있는 것으로 생각 되고¹⁻⁴⁾, Forman등은 세포내 NADPH 저하를 paraquat독성의 주 요인으로 보고하여⁶⁾ paraquat독성의 생화학적 기전은 아직도 명확치 않다.

Paraquat에 의한 폐포손상은 superoxide와 같은 산소유리기가 폐포상피세포인 type I과 type II세포에 직접 작용하여 폐포내 출혈, 폐부종, 폐포상피세포의 파괴를 급격히 초래하게되어 폐포염을 유발하게 되고⁷⁻⁹⁾ 결국 폐섬유증을 일으키게 된다^{10,11)}.

Superoxide가 생성되면 이를 제거하기 위해 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione peroxide(GPx)등 항산화효소들의 활성도와 glutathione량의 변화가 생긴다.

본 실험에서는 특히 catalase의 억제제인 3-amino-1,2,4-triazole(이하 aminotriazole로 약함)을 투여함으로¹²⁾ paraquat의 독성의 변화에 미치는 영향을 생쥐의 생존율로서 알아보고, paraquat에 의한 주 손상장기인 폐에

서 항산화 효소활성, glutathione량의 변화로서 paraquat의 폐독성에 대한 aminotriazole의 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 시 약

Paraquat, 3-amino-1,2,4-triazole(aminotriazole), potassium phosphate(monobasic and dibasic), cytochrome C, xanthine oxidase, reduced glutathione(GSH), glutathione reductase, 5,5'-dithiobis-2 nitrobenzenic acid(DTNB), sodium azide(NaN₃), reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADPH), oxidized nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADP), glucose 6-phosphate, bovine serum albumin, sodium chloride, magnesium chloride, phenol reagent, sulfosalicylic acid등은 Sigma Chem. Co.에서, hydrogen peroxide(H₂O₂), ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA)는 E. Merk에서 구입하였고, hydrochloric acid(HCl) 등 기타시약은 1급 이상의 것을 사용하였다.

2. 생존률 측정

실험동물은 Balb/C계 생쥐로 암수구별없이 20~30g 되는 것을 사용하였다. 생쥐 60마리를 각각 20마리씩 paraquat투여군, aminotriazole투여군 및 paraquat와 aminotriazole병합 투여군으로 나누어, paraquat(50mg/kg body weight)를 생리식염수에 5mg/ml 농도로 용해시켜 구강내로 투여하고, 1시간후에 aminotriazole(0.5 gm/kg body weight)를 100mg/ml농도로 생리식염수에 용해하여 복강내로 투여하여, 1일 간격으로 14일까지 생존한 생쥐의 수를 관찰 하였다.

3. 시료의 조제

실험군은 생쥐 40마리를 각각 10마리씩 정상대조군, group A(aminotriazole투여군), Group B(paraquat투여군), Group C(paraquat와 aminotriazole 병합투여군) 4군으로 나누었고, aminotriazole은 0.5g/kg BW를 복강내로 주사하였고, paraquat는 100mg/kg BW를 경구 투여하였으며 Group C인 경우는 paraquat투여하고, 1시간 경과후 aminotriazole를 투여 하였다. paraquat및 aminotriazole를 투여하고, 72시간 경과후에 경추탈골에 의해 도살하고 폐를 적출하여 50mM phosphate buffer, pH 7.0, 20배 용량(W/V)을 가해 homogenizer로 균질화 하였다. 균질액의 1/2은 4℃에서 12,000 xg로 10분간 원심분리하여 상청액을 취해 효소 활성도 측정의 조효소액으로 사용하였으며, 나머지 균질액에 10% sulfosalicylic acid를 첨가해 4℃에서 10,000 xg로 10분간 원심분리하여 상청액을 glutathione정량의 시료로 사용하였다.

4. Glutathione 정량

Glutathione 정량은 Tietze의 방법¹³⁾에 의해 측정하였다. 즉, 반응액(2mM EDTA, 1mM DTNB, 0.45U GSSG reductase in 100mM phosphate buffer pH7.5) 2.9ml에 시료액 25 μ l를 가하여 30℃에서 3분간 방치한 후 NADPH를 최종농도가 1 μ M이 되게 가하여 415nm에서 흡광도의 변화를 1분간 측정 하였다.

5. Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase 활성도 측정

Glucose 6-phosphate dehydrogenase(G6PDH)활성도는 Robert G.L.의 방법¹⁴⁾에 의해서 측정했다. 즉 효소 반응액(0.1mM NADP⁺, 10mM MgCl₂를 함유한 50mM Tris-HCl buffer, pH 7.5) 2.85ml에 조효소 용액 50 μ l를 첨가하여 25℃에서 3분간 방치시킨 후 glucose 6-phosphate를 최종 농도가 1mM 이 되게 가하고 잘 흔들어서 340nm에서 5분 동안의 흡광도 변화를 측정 하였다. 효소 활성도는 NADPH흡광계수 2.07/mM/Cm을 이용하여 단위 시간당 1 micromole의 NADPH를 생성할 수 있는 효소의 양을 1unit로 표시하였다.

6. Catalase 활성도 측정

Catalase 활성도는 Aebi의 방법¹⁵⁾에 따라 측정하였다. 즉 50mM phosphate buffer(pH7.0) 2.0ml에, 100mM H₂O₂ 용액 0.98ml, 조효소 20 μ l를 넣은 후 240nm에서 30초간 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소의 활성도는 1분동안에 1 μ M의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

7. Superoxide Dismutase 활성도 측정

SOD활성도는 Crapo등의 방법¹⁶⁾에 의해서 측정했다. 즉 0.1mM EDTA와 0.1mM KCN를 함유한 0.05M phosphate buffer(pH7.8) 2.3ml에 0.5mM xanthine 0.3ml, 0.1mM cytochrome C 0.3ml를 넣은 후 xanthine oxidase 0.1ml를 가하여 550nm에서 1분간 흡광도의 증가를 측정하여 흡광도의 증가 속도가 매분당 0.020이 되게 xanthine oxidase의 농도를 조절하였다. 효소의 활성도는 상기 조건에서 효소액 0.05ml를 가하여 흡광도 증가의 억제 정도를 측정하였으며, cytochrome C의 환원 속도를 50% 억제하는 효소의 양을 1 unit로 표시하였다.

8. Glutathione Peroxidase 활성도 측정

Glutathione peroxidase활성은 Flohe등의 방법¹⁷⁾에 의해 측정했다. 즉, 1 mM EDTA를 함유한 100 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 2.5ml에 3mM GSH, 20mM NaN₃, glutathione reductase 0.72 U, NADPH 0.45 mM 과 조효소 용액 10 μ l를 넣고 37℃에서 5분간 방치한 후 0.45mM H₂O₂를 가하여 340nm에서 3분 동안 흡광도의 변화를 측정 하였으며, 비효소적 반응은 상기와 같은 조건에서 단지 0.45mM H₂O₂를 가하지 않고 반응시켜 흡광도의 변화를 측정하였고, 효소 활성도는 비효소적 반응에 의한 흡광도 변화를 감한 값을 다음식에 의해서 계산하였다.

$$A=0.868([NADPH]/[GSH]_0t)(V_i/V_s)$$

여기서 A; 효소 활성도, [NADPH]; NADPH농도변화, [GSH]₀; GSH의 처음농도, t; 반응 시간, V_i; 반응액의 용량 및 V_s; 효소액의 용량 이다.

9. 단백질 정량

단백질의 정량은 Lowry등의 방법¹⁸⁾에 의해서 측정

했으며, 표준 단백질로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

이상의 실험결과는 student t-test에 의해서 검정하였다.

결 과

1. Aminotriazole이 Paraquat에 의한 생쥐 생존율에 미치는 영향

Aminotriazole투여군은 14일 경과후에도 20마리 모두 생존했으며, paraquat투여군에서는 3일과 4일째에 각각 1마리씩 치사하여 14일까지 18마리 생존했고, aminotriazole와 paraquat 병합 투여군에서는 1일째 1마리, 2일째 2마리, 3일째 6마리, 4일째 4마리, 5일째 2마리, 6일째 1마리, 7일째 1마리가 각각 사망하여 14일까지 모두 3마리가 생존하여 paraquat와 aminotriazole 병합 투여로 생존률이 유의하게 감소됨을 알 수 있다(Fig. 1).

2. Aminotriazole이 Catalase 활성도 미치는 영향

생쥐에 aminotriazole(0.5g/Kg BW)을 복강내로 주사하고, 6시간후에 경추탈골에 의해 도살 하여 간, 폐 및 신장에서 catalase활성을 측정된 결과, 간에서는 amino-

triazole 투여에 의해 정상대조군의 효소활성도 96.94 ± 20.21 U/mg protein에 비하여 35%가 감소한 62.10 ± 18.33 U/mg protein($p < 0.01$)를 나타냈고, 폐에서는 정상대조군의 효소활성도 6.54 ± 1.23 U/mg protein에 비하여 38%가 감소한 4.00 ± 1.08 U/mg protein($p < 0.01$)를 나타냈으며, 신장에서는 정상대조군의 효소활성도 74.29 ± 15.54 U/mg protein에 비하여 74%가 감소한 19.57 ± 2.23 U/mg protein($p < 0.01$)를 나타내, 간과 폐에서는 aminotriazole에 의한 catalase활성의 억제정도가 비슷하였고, 신장에서 가장 큰 감소를 나타냈다(Fig. 2).

3. Paraquat와 Aminotriazole병합투여가 생쥐 폐 Glutathione량에 미치는 영향

Group B에서 glutathione량은 정상대조군의 422.12 ± 26.67 nM/mg protein에 비하여 20%가 감소한($p < 0.01$) 339.42 ± 52.44 nM/mg protein를 나타냈고, Group C에서는 352.05 ± 45.43 nM/mg protein으로 정상대조군에 비하여는 유의한 감소를($p < 0.05$) 나타냈으나 Group B와 비교하면 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 1).

4. Paraquat와 Aminotriazole병합투여가 생쥐의 폐 G6PDH활성에 미치는 영향

Group B에서 G6PDH활성도는 정상대조군 효소활성도 31.29 ± 6.99 U/mg protein와 유의한 차이를 나타내지

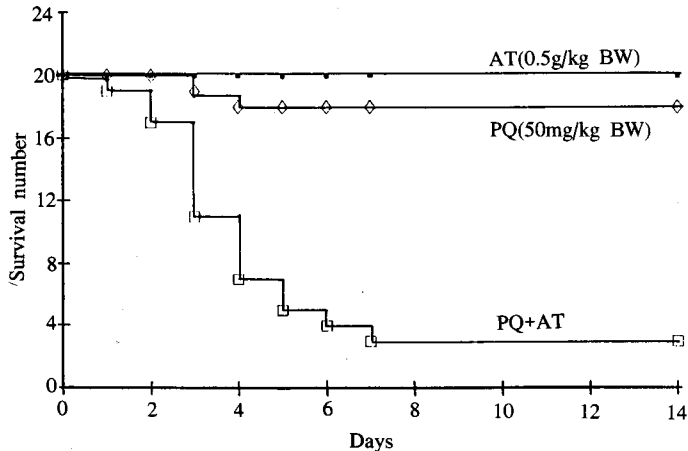


Fig. 1. Effects of AT on the survival of mice administered with PQ. AT: 3-amino-1,2,4-triazole, PQ: paraquat. PQ(50mg/kg BW) was administered orally and AT(0.5g/kg BW) was injected intraperitoneally 1 hour after PQ treatment.

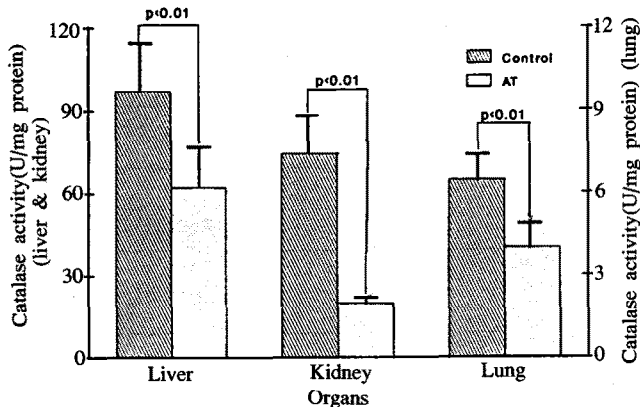


Fig. 2. Effects of AT on catalase activities in various organs of mice. AT(3-amino-1,2,4-triazole 0.5mg/kg BW) was administered by intraperitoneal injection. Catalase activity assayed 6 hours later of AT treatment

Table 1. Effects of AT on Glutathione Level in Lung of Paraquat-Treated Mice(mean \pm S.D., n=10)

Groups	Glutathione level (nM/mg protein)
Control	422.12 \pm 26.67
A: AT(0.5gm/kg BW)	426.40 \pm 63.53
B: PQ(100mg/kg BW)	339.42 \pm 52.44**
C: PQ+AT	352.05 \pm 45.43**

AT: 3-amino-1,2,4-triazole, PQ: paraquat. PQ was administered orally and AT was injected intraperitoneally 1 hour after PQ treatment. Mice were killed 3days later. **: p<0.01 vs control group.

않았으며, Group C에서는 정상대조군에 비하여 18% 감소한 25.67 \pm 5.68U/mg protein을 나타냈으나, 유의성은 없었다(Table 2).

5. Paraquat와 Aminotriazole병합투여가 생쥐의 폐 SOD활성에 미치는 영향

Group B와 C의 폐 SOD활성도는 모두 정상대조군의 활성도 12.48 \pm 2.44U/mg protein에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았다(Table 3, Fig. 3).

6. Paraquat와 Aminotriazole병합투여가 생쥐의 폐 Catalase활성에 미치는 영향

Group B에서 catalase활성도는 정상대조군 효소활성

Table 2. Effects of AT on G6PDH in Lung of Paraquat-Treated Mice(mean \pm S.D., n =10)

Groups	G6PDH activity (U/mg protein)
Control	31.29 \pm 6.99
A: AT(0.5gm/kg BW)	29.18 \pm 3.83
B: PQ(100mg/kg BW)	26.17 \pm 1.76
C: PQ+AT	25.67 \pm 5.68

AT: 3-amino-1,2,4-triazole, PQ: paraquat, G6PDH: gluucose 6-phosphate dehydrogenase. PQ was administered orally and AT was injected intraperitoneally 1 hour after PQ treatment. Mice were killed 3 days later.

도 4.20 \pm 0.65U/mg protein에 비하여 3.22 \pm 0.53U/mg protein으로 유의하게 낮게 나타났으며(p<0.05), Group C에서도 정상대조군에 비하여 2.87 \pm 0.25U/mg protein으로 유의하게 낮은(p<0.01) 효소활성도를 나타냈으나, Group B와 C사이의 유의한 효소활성도 차이는 없었다 (Table 4, Fig. 3).

7. Paraquat와 Aminotriazole병합투여가 생쥐의 폐 GPx활성에 미치는 영향

Group B에서 GPx활성도는 정상대조군 효소활성도 2.24 \pm 0.41U/mg protein에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않았고, Group C에서는 정상대조군에 비하여 1.89

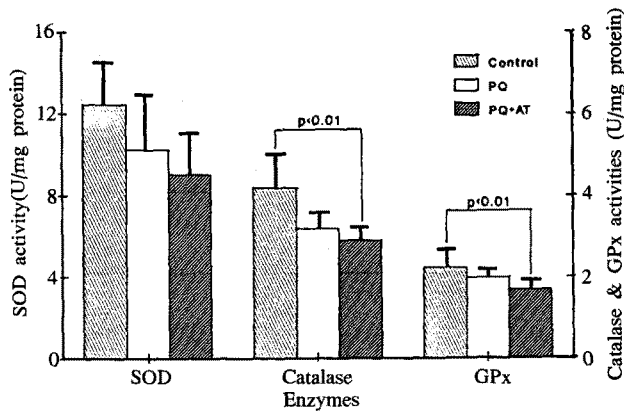


Fig. 3. Effects of AT and paraquat on the antioxidant enzymes in lung of mice. AT: 3-amino-1,2,4-triazole(0.5g/kg BW), PQ: paraquat(100mg/kg).

Table 3. Effects of AT on SOD in Lung of Paraquat-Treated Mice(mean ± S.D., n = 10)

Groups	SOD activity (U/mg protein)
Control	12.48 ± 2.44
A: AT(0.5gm/kg BW)	11.99 ± 1.78
B: PQ(100mg/kg BW)	10.26 ± 2.49
C: PQ+AT	10.62 ± 1.59

AT: 3-amino-1,2,4-triazole, PQ: paraquat, SOD: superoxide dismutase. PQ was administered orally and AT was injected intraperitoneally 1 hour after PQ treatment. Mice were killed 3 days later.

Table 4. Effects of AT on Catalase in Lung of Paraquat-Treated Mice(mean ± S.D., n = 10)

Groups	Catalase activity (U/mg protein)
Control	4.20 ± 0.65
A: AT(0.5gm/kg BW)	3.82 ± 0.56
B: PQ(100mg/kg BW)	3.22 ± 0.53*
C: PQ+AT	2.87 ± 0.25**

AT: 3-amino-1,2,4-triazole, PQ: paraquat, PQ was administered orally and AT was injected intraperitoneally 1 hour after PQ treatment. Mice were killed 3 days later.

*: p<0.05, **: p<0.01 vs control group.

Table 5 Effects of AT on GPx in Lung of Paraquat-Treated Mice(mean ± S.D., n = 10)

Groups	GPx activity (U/mg protein)
Control	2.24 ± 0.41
A: AT(0.5gm/kg BW)	2.03 ± 0.10
B: PQ(100mg/kg BW)	1.99 ± 0.10*
C: PQ+AT	1.89 ± 0.04**

AT: 3-amino-1,2,4-triazole, PQ: paraquat, GPx: glutathione peroxidase. PQ was administered orally and AT was injected intraperitoneally 1 hour after PQ treatment. Mice were killed 3 days later.

*: p<0.05 vs control group

±0.04 U/mg protein으로 유의하게(p<0.05) 낮은 효소 활성도를 나타냈으나, Group B와 C 사이의 유의한 효소활성도 차이는 없었다(Table 5, Fig. 3).

고 찰

Paraquat는 DT-diaphorase에 의해 paraquat radical로 환원되고, 산소가 존재 하면 superoxide를 형성 하기때문에, superoxide생성은 paraquat의 독작용에 매우 중요한 요인으로 알려져 있는데^{1-4,19)}, paraquat radicals는 H₂O₂와 작용하여 hydroxyl radicals를 생성하므로 세포

내 H₂O₂량은 paraquat독성에 매우 중요한 요인이 될 것으로 생각된다. 본 실험에서는 catalase억제제로 알려져 있는 aminotriazole가 paraquat 독성에 미치는 영향을 paraquat를 투여한 생쥐에 aminotriazole를 병합 투여하여 생쥐 생존율로서 관찰한 결과, paraquat와 aminotriazole 병합 투여군의 생존율이, paraquat 단독 투여군의 생존율에 비하여 현저히 감소하여, paraquat 독성이 aminotriazole의 투여로 증가됨을 보여주고 있는데, aminotriazole을 투여한 생쥐의 간, 폐 및 신장에서 catalase활성도가 현저히 감소 되어 catalase활성 감소가 paraquat독성에 밀접한 연관이 있는 것으로 사료된다.

Glutathione은 γ -glutamylcysteine synthetase와 GSH synthetase에 의해 cysteine과 glutamate로부터 합성된 tripeptide로서 단백질의 분해나 합성, DNA의 합성 및 여러가지 화학약품이나 약제의 대사에 직접 또는 간접적으로 관여하는데, 유리산소나 free radicals에 의한 손상으로 부터 세포를 보호하는 기능이 있어서 생물학적으로 대단히 중요한 물질이다^{1,20}. 본 실험에서 paraquat투여로 인하여 폐 총 glutathione량은 20%정도 감소되었으나, paraquat와 aminotriazole병합 투여군에서는 paraquat단독투여군에 비하여 총 glutathione량의 유의한 변화는 없어 aminotriazole병합 투여에 의한 생쥐의 생존을 감소에 미치는 총 glutathione량의 영향은 적은 것으로 생각된다.

Glucose 6-phosphate dehydrogenase(G6PDH)는 glutathione reductase 에 의해서 일어나는 glutathione 환원 반응에 관여하는 환원당량인 NADPH을 공급하는 효소로서 H₂O₂의 제거에 관여하는 환원 glutathione의 공급에 대단히 중요한 효소로서^{1,20}, 본 실험에서 paraquat투여로 인한 유의한 감소는 없었으나, paraquat와 aminotriazole병합 투여군에서는 정상대조군에 비하여 약 18%의 효소 활성도감소를 나타내 paraquat와 aminotriazole병합 투여군에서 glutathione환원량이 저하되어 H₂O₂제거가 불충분 하여 hydroxyl radicals의 생성이 증가되어 세포손상이 가중될 수 있을 것으로 생각된다.

SOD는 superoxide를 H₂O₂와 O₂로 전환시키며, H₂O₂는 catalase와 glutathione peroxidase에 의해 소거되므로, SOD, catalase 및 glutathione peroxidase는 세포내에 생성된 superoxide radicals 제거에 중요한 역할을 하는 효소인데^{1,21-24}, paraquat 투여로 SOD, catalase 및

glutathione peroxidase활성이 모두 유의한 감소를 나타냈는데, 특히 catalase가 가장 큰 효소활성 감소를 나타냈으며, paraquat와 aminotriazole병합 투여군에서는 catalase와 glutathione peroxidase활성이 paraquat단독 투여군에 비하여 유의한 효소활성감소를 나타냈고 SOD는 효소활성의 변화가 감지되지 않아 paraquat와 aminotriazole의 병합 투여에 의한 항산화효소의 변화는 주로 catalase와 glutathione peroxidase활성 감소가 나타나므로 세포내 과산화수소량은 더욱 증가되어, Haber-Weiss 반응이나, Fenton 반응의 산물인 HO· 형성 증가에 의해 DNA나 세포막지질 및 단백질등의 손상이 유발되어 세포 손상이 증가 될 것으로 생각된다.

Paraquat에 의한 독성이 aminotriazole의 병합 투여로 더욱 증가됨을 알 수 있는데, 이러한 결과는 aminotriazole투여로 catalase활성의 억제에 의한 결과로 생각되는데, 과산화수소는 Haber-Weiss 반응이나, Fenton 반응 또는 세포내 효소에 의해서 형성된 paraquat radical이 직접 과산화 수소와 반응하여 hydroxyl radicals을 생성하므로 aminotriazole을 투여하여 catalase 활성이 억제되면 세포내 과산화수소가 증가하여 paraquat에 의한 독성이 더욱 증가될 것으로 생각되어 paraquat의 독성은 항산화효소중 catalase와 가장 관계가 있는 것으로 추측된다.

요 약

연구배경 : Paraquat는 광범위 제초제로서 널리 사용하고 있으나, 중독시 치명적인 중독 증상을 일으킨다. 특히 폐에서는 진행성 불가역성 폐섬유증을 일으키는데, 이의 기전으로 산소유리기와 관계가 있으나 아직은 생화학적 기전이 명확하지 않다. paraquat에 의한 산소유리기가 생기면 glutathione의 변화와 G6PDH, SOD, catalase 및 glutathione peroxidase등의 효소 활성의 변화가 생길 것으로 생각되며, 특히 catalase가 많이 관여할 것으로 생각되어진다.

방법 : Catalase 억제제인 aminotriazole을 사용하여 paraquat만 쓰는 것과 paraquat와 aminotriazole을 같이 투여할때 생쥐의 생존율을 알아보고, 실험군을 정상대조군, Group A(aminotriazole투여군), Group B(paraquat 투여군), Group C(paraquat와 amino-triazole 병합

투여군) 4군으로 나누어 폐조직에서 glutathione, G6PDH, SOD, catalase 및 glutathione peroxidase 활성도를 측정하여 비교했다.

결과 : Paraquat와 aminotriazole 병합 투여군의 생존율이 paraquat투여군보다 현저히 감소하였고, paraquat투여로 인하여 폐 glutathione량은 정상대조군에 비해 20%정도 감소 되었으나, aminotriazole의 투여로 인하여 폐 glutathione량의 변화는 없었다. Paraquat투여로 폐 SOD, catalase 및 glutathione peroxidase활성이 모두 유의한 감소를 나타냈는 데, 특히 catalase가 가장 큰 효소활성 감소를 나타냈으며, paraquat와 aminotriazole 병합 투여군에서는 catalase와 glutathione peroxidase활성이 paraquat단독투여군에 비하여 유의한 효소활성감소를 나타냈고, SOD는 효소활성의 변화가 감지되지 않았다.

결론 : Paraquat투여시 catalase활성이 유의하게 감소되는 점으로 보아 paraquat독성이 catalase활성과 밀접하게 연관되는 것으로 사료되며, 또한 paraquat의 독성이 aminotriazole 의 병합 투여로 더욱 증가되어 나타나는데, 이러한 결과는 aminotriazole투여로 catalase활성의 감소가 크게 나타나나 glutathione량의 변화는 없는 점으로 보아, aminotriazole투여에 의한 paraquat독성의 증가는 총 폐 glutathione량의 변화에 의한 영향보다는 catalase활성감소에 의한 결과로 생각된다.

Paraquat와 aminotriazole를 병합 투여하여 catalase활성이 억제되면 증가된 과산화수소로 hydroxyl radicals이 생성되고, 이에 의한 폐 세포손상이 유발되어 나타나는 것으로 사료된다.

REFERENCES

- 1) Halliwell B, Gutteridge JMC: Roles of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview, In Fleischer S, Packer L (Ed.) *Methods in enzymology*, **186**:1-85, New York, Academic Press, 1990
- 2) Kornbrust DJ, Mavis RD : The effect of paraquat on microsomal lipid peroxidation in vitro and in vivo. *Toxicol Appl Pharmacol* **153**:323, 1982
- 3) Sutton HC, Winterbourn CC: Hydroxyl radical production from hydrogen peroxide and enzymatically generated paraquat radicals. *Arch Biochem Biophys* **235**:116, 1984
- 4) Hassan HM, Fridovich I: Paraquat and Escherichia coli. *J Biol Chem* **254**:10846, 1979
- 5) Hampson ECGM, Pond SM: Ultrastructure of canine lung during the proliferative phase of paraquat toxicity. *Br J Exp Path* **69**:57, 1988
- 6) Kensler T, Bush D, Kozumbo W: Antitumor promoter effects of a copper coordination compound with superoxide dismutase-like activity in mouse epidermis, In Greenwald RA, Cohen G(Ed.) *Oxygen radicals and their scavenger systems*, p173-179, Elsevier Science Publishing Co, 1983
- 7) Skillrud DM, Martin WJ H: Paraquat-induced injury of type II alveolar cells. An in vitro model of oxidant injury. *Am Rev Respir Dis* **129**:995, 1984
- 8) Greenberg DB, Reiser KM, Last JA: correlation of biochemical and morphologic manifestations of acute pulmonary fibrosis in rats administered paraquat. *Chest* **74**:421, 1978
- 9) Butler C: Pulmonary fibrosis from paraquat in the hamster. *Ach Pathol* **99**:503, 1975
- 10) Jenkinson SG: Free radical effects on lung metabolism. *Clin Chest Med* **10**:37, 1989
- 11) Waddell WJ, Marlowe C: Tissue and cellular disposition of paraquat in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* **56**:127, 1980
- 12) Bertrand G, Sudhir V. Shah: Enhanced in vivo H₂O₂ generation by rat kidney in glycerol-induced renal failure. *American physiological Society*, 1989
- 13) Tietze F: Enzymatic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. *Anal Biochem* **27**:502, 1969
- 14) Langdon RG: Glucose6-phosphate dehydrogenase from erythrocyte, In Wood WA(Ed.) *Methods in enzymology*, New York, Academic Press, **9**:126, 1966
- 15) Aebi H: Catalase, In Bergmeyer HU, Bergmeyer

- J, GraBl M(Ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd Ed, 3:273-286, Verlag Chemie, 1983
- 16) Crapo CH, McCord JM, Fridovich I: Preparation and assay of superoxide dismutase, In Fleischer S, Packer L(Ed.) *Methods enzymology*, New York, Academic press, 53:382, 1978
 - 17) Flohe L, Wolfng A, Gunzler WA: Assay of glutathione peroxidase. In Packer L(Ed.) *Methods in enzymatic analysis*, New York, Academic Press, 105:114, 1984
 - 18) Lowry OH, Rsenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193:256, 1951
 - 19) Rossi L, Moore GA, Orrenius S, O'brine PI: Quinone toxicity in hepatocytes without oxidative stress. *Arch Biochem Biophy* 251:25, 1986
 - 20) Meister A, Anderson ME: Glutathione. *Ann Revi Biochem* 52:711, 1983
 - 21) Fridovich I: Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys* 247:1, 1986
 - 22) Fridovich I: Superoxide Dismutases. *J Biol Chem* 264:7761, 1989
 - 23) Fred J, Yost J, Fridovich I: Superoxide and hydrogen peroxide in oxygen damage. *Arch Biochem Biophys* 175:514, 1976
 - 24) Forman HJ, Nelson J, Fisher AB: Rat alveolar macrophage require NADPH for superoxide production in the respiratory burst. *J Biol Chem* 255: 9879, 1980