

납이온이 잔틴 옥시다제 활성에 미치는 영향

허 근^{*} · 신억섭 · 이상훈 · 안원효

영남대학교 약학대학

(Received May 1, 1995)

Effect of Lead Ion on the Hepatic Xanthine Oxidase Activity *in Vitro*

Keun Huh^{*}, Uk-Seob Shin, Sang-Hoon Lee and Won-Hyo Ann
College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

Abstract—This study was done to determine the effect of lead acetate on the activities of the hepatic cytosolic xanthine oxidase and aldehyde oxidase which were well known as oxygen free radical generating enzyme *in vitro*. Lead ion accelerated the formation of lipid peroxide and the increment of xanthine oxidase(type O) activity and the type conversion ratio from xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase dose-dependently. But xanthine dehydrogenase(type D) activity was decreased. Aldehyde oxidase activity was not changed by lead ion. These data suggested that lead-induced cellular toxicity may be concerned partially with xanthine oxidase mediated lipid peroxidation.

Keywords □ Lead ion, Lipid peroxidation, Xanthine oxidase, Aldehyde oxidase.

납은 철, 구리 다음으로 일상생활을 통하여 많이 사용되고 있는 금속으로서 인류가 수준높은 문화생활을 누리기 시작할 때 부터 납의 응용기술이 급진적으로 발달하여 많은 분야에서 광범위하게 납을 이용하기에 이르렀다¹⁾.

산업혁명 이후 납 성분의 활용이 다양한 산업의 수단으로 사용되어짐에 따라 과다한 납의 노출로 인해 독성이 나타났을 것으로 간주되고 있다. 실제로 납 중독에 대한 것은 생명과학이 발달한 근대에 이르러 납 중독에 의한 여러가지 독성 증상이 과학적으로 관찰되므로서 산업공해 물질로서의 심각성이 사회적으로 관심을 갖게 하고 있다^{2, 6)}. 이미 오래전 부터 납은 환경오염물질원으로 작용하였을 것으로 추산되며 미국에서 납에 의한 오염을 조사한 자료에 의하면 1940년도 이후부터 오염이 급증하기 시작하여 연간 사용량 130만톤 중 약 10만톤이 오염원으로 배출된다고 보고하고 있다.^{7, 8)} 납 성분

은 체내에 흡수되어 순환 혈액 중에 존재하는데 적혈구와의 친화성이 높아서 주로 적혈구와 결합한 상태로 존재하고 약 5% 정도만이 혈장 단백질과 결합하고 있다. 적혈구와 결합한 납 성분은 적혈구의 파괴를 유도하며 또한 조혈장기에서의 globin 생합성을 저해하여 빈혈을 초래하는 작용을 나타내게 된다.^{9, 11)} 혈액의 조직의 분포상태를 보면 생체내 납 (lead body burden) 함량의 90% 정도가 뼈 조직에 결합되어 있으며 특히 긴뼈 (long bone) 의 양 끝에 다량의 납이 결합되어 있어 뼈의 대사나 골수에서 이루어지는 조혈과정의 여러 단계의 생화학 반응을 촉매하는 효소활성을 저해하여 heme 의 생합성을 억제한다.¹²⁾ 뼈 다음으로 간장, 신장 순으로 납과의 친화력을 가지므로 분포정도 또한 같은 순서로 관찰되고 있으며^{13, 16)} 또한 혈액-뇌 관문 (blood-brain barrier)을 용이하게 통과하므로 뇌 조직에 침투하여 손상을 주어 경련 발작과 같은 독성을 유발하며 또한 신경조직에 손상을 주어 여러가지 신경계의 장애로 인한 신경질환을 유발한다.^{17, 21)} 현재까지 납 독성에 대한 연구가 산발적으로 연구되어 납 중독에 대

^{*} 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 053-810-2814 (팩스) 053-811-3871

한 심각성을 고취시키고 있으나 독성발현 기전에 대해서는 충분하게 설명되지 못하고 있다.

저자는 수은이나 카드미움, 철 및 구리 이온이 free radical 을 개입시켜 독성을 나타내고 있음을 감안하여^{22, 24)} 납 독성 발현 기전을 free radical 생성효소의 활성 상태와 연관지어 구명코저 하였다.

실험방법

시약 및 동물 - Bovine serum albumin, lead acetate, nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺), malon dialdehyde, sodium dodesyl sulfate, xanthine sodium salt, N-methylnicotinamide(NMN) 및 thiobarbituric acid는 Sigma사의 것을 사용하였으며 기타 실험에 사용한 모든시약은 특급품을 사용하였다. 사용한 동물은 본 대학 동물사에서 오전 7시에 점등되고 오후 7시에 소등되는 일정한 조건으로 사육한 외관상 건강한 250 g 내외의 수컷 SD계 흰쥐를 사용하였다. 실험동물은 실험전 16시간 동안 물만 주고 절식시켰다.

효소원의 조제 - 흰쥐를 ether로 마취시킨 다음 복부 정중선을 따라 개복한 후, 복부대동맥으로부터 혈액을 채취하고 0.9% 생리식염수로 관류시킨 간장을 적출하여 생리식염수에 씻은 다음 여지로 압박, 간에 남아있는 생리식염수를 제거한 후, 간조직 1g당 4배량의 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5, 이하 K. P. buffer로 약함)를 가하여 병냉하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 상등액을 8,000×g에서 다시 원심분리시켜 상등액을 얻었다. 이것을 105,000×g에서 1시간동안 초원심분리하여 cytosolic fraction을 분리하였다. 이 fraction을 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase 활성측정의 효소원으로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 0~4°C에서 행하였다.

Xanthine 산화효소 활성 및 형전환비 측정 - Xanthine oxidase (type O) 활성측정은 Stirpe 등²⁵⁾의 방법에 준해 0.1 M K.P. buffer (pH 7.5) 일정량에 기질인 xanthine 60 μM 및 효소원을 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 다음, 20% trichloroacetic acid(TCA)를 가하여 단백질을 제거시키고 원심분리하였다. 이때 생성되어진 uric acid를 파장 292 nm에

서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 한편 xanthine dehydrogenase (type D)의 활성은 type O의 활성 측정 반응액에 coenzyme인 NAD⁺ 100 mM을 첨가해 동일하게 반응시킨 다음, 측정하여 나온 활성도 (total type: type D+O)에서 type O의 활성을 감한 값으로 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 uric acid 양을 nmole로 나타내었다. 한편 xanthine oxidase의 형전환비 산출은 xanthine dehydrogenase 및 xanthine oxidase 반응에서 얻어진 효소의 활성도를 이용하여 xanthine dehydrogenase (type D)에서 xanthine oxidase (type O)로의 형전환 비율을 O/O+D의 비로 산출하였다.

Aldehyde oxidase 활성 측정 - Aldehyde oxidase 활성 측정은 Rajagopalan 등²⁶⁾의 방법에 의해 0.1 M K.P. buffer (pH 7.5) 일정량에 기질인 N-methylnicotinamide 1.5 mM과 효소액을 첨가해 37°C에서 20분간 반응시킨 다음, 20% TCA를 가해 반응을 종료시켰다. 반응 종료 후 생성된 pyridone을 파장 300 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 pyridone의 양을 nmole로 나타내었다.

과산화지질 함량 측정 - 과산화지질 함량 측정은 Ohkawa 등²⁷⁾의 방법에 준해 간조직 마쇄균질액 일정량에 8.1% sodium dodesyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid(TBA) 용액을 가해 95°C에서 1시간동안 반응시키고 실온으로 냉각한 다음, 생성된 홍색의 TBA 반응산물을 n-butanol : pyridine(15 : 1) 혼액으로 이행시켜 파장 532 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 정량하였다. 과산화지질의 함량은 조직 1g당 malon dialdehyde(MDA)의 양을 nmole로 나타내었다.

단백질의 정량 및 통계처리 - 단백질의 정량은 Lowry 등²⁸⁾의 방법에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 행하였다. 한편, 실험결과의 유의성 검증은 Student's *t*-test를 이용하여 상호 비교하였다.

결 과

납이온이 간 과산화지질의 생성에 미치는 영향 - 생체내에서 중금속 중독의 가장 대표적인 금속중의 하나

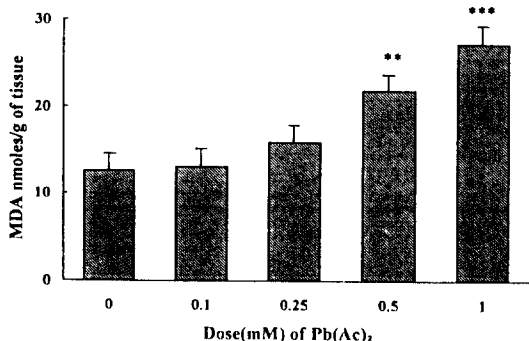


Fig. 1 — Effect of lead acetate on the hepatic lipid peroxidation *in vitro*.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±SE for 3 separate experiments. Significantly different from control (**: P<0.01, ***: P<0.001).

Table I — Effect of lead acetate on the hepatic xanthine oxidase activity *in vitro*

Concentration of lead ion(mM)	Specific Activity [†]	
	Type O	Type D+O
0	0.37±0.02	2.91±0.21
1×10 ⁻²	0.40±0.02	2.78±0.21
2.5×10 ⁻²	0.43±0.03	2.74±0.19
5×10 ⁻²	0.47±0.03*	2.75±0.20
1×10 ⁻¹	0.49±0.02**	2.53±0.17
2.5×10 ⁻¹	0.52±0.02***	2.60±0.19
5×10 ⁻¹	0.57±0.02***	2.54±0.18
1.0	0.61±0.03***	2.49±0.17

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±SE for 3 separate experiments. Significantly different from control(*: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001). †: Uric acid nmoles/mg protein/min.

인 납이 과산화지질 생성에 미치는 영향을 검토한 것이 Fig. 1이다.

시험관내에 용량을 달리하면서 납을 첨가시킨 후 조적마쇄액과 반응시켜 TBA 반응산물인 malon dialdehyde(MDA)의 함량을 측정하였을 때 첨가용량 의존적으로 MDA의 생성량이 증가하였으며 특히 첨가량이 1 mM되게 하였을 때는 MDA의 생성량이 대조치 12.57 nmoles/g of tissue에 비해 27.19 nmoles/g of tissue로 약 2배정도 증가하였다.

납이온이 간 xanthine oxidase 활성 변동에 미치는 영향 — 기질인 xanthine과 효소원이 존재하는 반응액에 납의 첨가농도를 변화시키면서 간 xanthine oxidase 활성변동을 관찰한 것이 Table I이다. Table에서 볼 수 있듯이 type O의 경우 반응액 중의 납의 첨가농도에 비

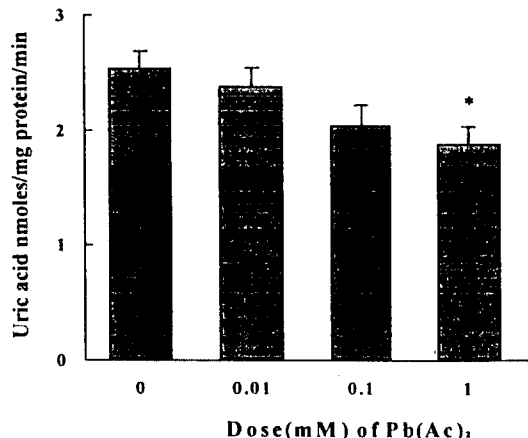


Fig 2 — Effect of lead acetate on the hepatic xanthine dehydrogenase activity *in vitro*.

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±SE for 3 separate experiments. Significantly different from control (*: P<0.05).

례하여 효소활성이 증가되었다. 납이온을 첨가하지 않은 control의 효소활성이 0.37 nmoles/mg protein/min인데 비해 1 mM을 첨가하였을 때는 0.61 nmoles/mg protein/min으로 control에 비해 약 60%이상 현저한 활성증가 현상을 볼 수 있었다. 그러나 total(D+O) type의 활성은 1 mM까지 납이온을 첨가시켜도 유의성 있는 효소활성의 변화가 관찰되지 않았다.

납이온이 간 xanthine dehydrogenase 활성에 미치는 영향 — 시험관내에 납을 용량별로 첨가시키면서 xanthine dehydrogenase 활성에 어떤 영향을 미치는지를 검토하여 Fig 2에 나타내었다.

대조치의 효소활성이 2.54 nmoles/mg protein/min이었으나 납의 첨가용량을 증가시키기에 따라 효소활성이 억제되었으며 특히 1 mM 첨가하였을 때는 효소활성이 1.88 nmoles/mg protein/min으로서 대조치에 비해 약 30% 가까이 현저하게 억제되어 짐을 관찰할 수 있었다.

납이온이 간 xanthine 산화효소의 형질환에 미치는 영향 — Xanthine 산화효소는 cytosol분획에 존재하는 주된 산화효소로서 정상적인 상태에서는 기질의 전자를 NAD에 전달하여 산화작용을 수행하는 xanthine dehydrogenase(type D)로 존재한다.²⁹⁾ 그러나 병태 생리조건이 형성되거나 비정상적인 순환장애가 발생할 때 oxidase(type O)형으로 전환되어 기질의 전자를 산

Table II—Effect of lead acetate on the type conversion of hepatic xanthine oxidase activity *in vitro*

Concentration of lead ion(mM)	Type Conversion Ratio (%)
0	12.7±0.83
1×10 ⁻²	14.4±1.10
2.5×10 ⁻²	15.7±1.17
5×10 ⁻²	17.1±1.08*
1×10 ⁻¹	19.4±1.31**
2.5×10 ⁻¹	20.0±1.21**
5×10 ⁻¹	22.4±1.37***
1.0	24.5±1.23***

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±SE for 3 separate experiments. Significantly different from control (*: P<0.01, **: P<0.01, ***: P<0.001).

Table III—Effect of lead acetate on the hepatic aldehyde oxidase activity *in vitro*

Concentration of lead ion(mM)	Specific Activity (Pyridone nmoles/mg protein/min)
0	1.30±0.08
1×10 ⁻⁴	1.34±0.10
1×10 ⁻³	1.36±0.07
5×10 ⁻³	1.42±0.07
1×10 ⁻²	1.48±0.11
5×10 ⁻²	1.57±0.08
1×10 ⁻¹	1.63±0.07
5×10 ⁻¹	1.52±0.08
1.0	1.49±0.09

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±SE for 3 separate experiments.

소분자에 전달하면서 활성산소를 생성하게 되는데 이때 생성된 활성산소류 등이 생체조직에 손상을 주게 되어 독성을 유발한다고 알려져 있다.³⁰⁾ 따라서 xanthine 산화효소의 형질변환에 납이온이 어떤 영향을 주는가를 관찰하여 Table II에 나타내었다.

대조치에 비해서 시험관내에 납이온의 첨가농도를 증가시킬수록 이에 비례하여 xanthine 산화효소의 형질변환비가 증가되었으며 납이온의 첨가농도가 1 mM 되게 하였을 때는 대조치에 비해 형질변환비가 약 2배정도 유의성 있게 증가되었다.

납이온이 간 aldehyde oxidase 활성에 미치는 영향
- 세포의 cytosol분획에 존재하는 산화효소의 일종으로 xanthine 산화효소와 구조와 기능면에서 대단히 유사한 효소인 aldehyde oxidase³¹⁾ 활성에 미치는 납이온의 영향을 관찰하여 Table III에 나타내었다.

Xanthine oxidase 활성은 납이온의 첨가농도 의존

Table IV—Effect of lead acetate on the lipid peroxidation and xanthine oxidase activity and type conversion *in vitro*

Parameter	Control	Lead ion (1 mM)
LPO ^{a)}	12.57±0.80	27.19±0.94***
XO ^{b)}	0.37±0.02	0.61±0.03***
XD ^{b)}	2.54±0.18	1.88±0.16*
TC(%)	12.70±0.83	24.50±1.23***

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±SE for 3 separate experiments. LPO: Content of lipid peroxide, XO: Xanthine oxidase activity(type O), XD: Xanthine dehydrogenase activity(type D), TC: Type conversion ratio from xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase.

a) MDA nmoles/g of tissue, b) Uric acid nmoles/mg protein/min. Significantly different from control (*: P<0.05, ***: P<0.001).

적으로 효소활성이 증가되었으나 aldehyde oxidase 활성에는 납이온의 농도를 달리하면서 첨가시켜도 별 다른 효소활성 변화를 나타내지 않았다.

지질의 과산화반응과 xanthine 산화효소 활성에 미치는 납이온의 영향 - Free radical 생성계효소인 xanthine 산화효소의 활성변화와 free radical들에 의해서 유도되어지는 지질의 과산화반응에 납이온이 미치는 영향을 관찰하여 Table IV에 나타내었다.

1 mM의 납이온을 시험관내에 첨가시킨후 지질의 과산화반응을 관찰하였을 때 대조치에 비해 2배 이상의 유의성있는 과산화지질생성 증가현상이 나타났으며 또한 xanthine oxidase 활성 및 형질변환비도 대조치에 비해 현저히 증가됨을 알 수 있었다. 그러나 xanthine dehydrogenase 활성은 xanthine oxidase 활성과 서로 상반되는 현상이 관찰되었다.

고 찰

납중독 증상은 모든 조직에서 나타날 수 있으나 흡수량에 따라서 다르게 나타난다. 납중독 증상으로 알려진 빈혈증상은 납성분이 적혈구와 친화력을 갖고 있어 hemoglobin이 파괴되기 때문이며 또 한편 뼈의 성분과도 친화력이 커서 납이 골수에서 heme의 생합성을 억제하는 작용기전을 통해서 빈혈상태가 초래된다는 사실이 널리 알려져 있으나¹²⁾ 정확한 작용기전은 밝혀져 있지 않다. 납의 독성을 free radical과 관련시켜 검토하는 과정에서 지질의 과산화반응 속도를 관찰하였을 때 반응액중의 납의 첨가농도가 0.25 mM에서 약

25% 정도의 과산화지질 생성증가현상을 관찰할 수 있었으며 납이온의 첨가농도에 비례하여 지질의 과산화반응이 촉진되었다. 특히 납의 첨가량이 1 mM되게 하였을 때는 대조치에 비해 약 2배정도의 증가현상이 나타났다. 일반적으로 중금속이온에 의한 중독증상이 발현될 경우 중금속이온의 혈중 농도가 정상치보다 훨씬 높은 고농도로 증가되는 점을 감안³¹⁾할 때 본 실험에서 사용한 납이온의 농도는 중독증상이 유발되었을 경우의 체내농도에 근접한 농도일 것으로 생각할 수 있다. 이와 같은 실험결과를 고려할 때 납성분에 의해서 독성이 발현되는 과정에는 지질의 과산화반응이 크게 관여하고 있음을 알 수 있었다. 최근 중금속독성 중에서 가장 논란이 많이 되고 있는 수은, 카드미움, 철 및 구리이온들이 독성을 나타내는 과정에 세포막 구성성분중 불포화 지방산의 과산화반응을 유도하여 막을 손상시켜 세포막 기능의 장애로 인해 독성이 나타난다는 연구보고^{22, 24)}와 관련시켜 볼 때 중금속들은 공통적으로 과산화반응을 개입하여 독성을 나타내는 성질을 갖고 있음을 알 수 있다. 지질의 과산화반응을 일으키는 initiator로 활성산소류와 같은 free radical을 들 수 있다.³⁰⁾ 활성산소류를 생성하는 생화학적 반응에서 purine 염기의 최종 대사단계인 hypoxanthine, xanthine을 xanthine oxidase의 촉매에 의해서 뇨산으로 전환시키는 산화반응이 중요한 역할을 하고 있다. Xanthine oxidase가 생체내에 존재하는 native form은 xanthine dehydrogenase로 기질의 전자를 NAD⁺에 전달하여 산화시키는 형태로서 이 경우는 활성산소류를 생성하지 못한다. 그러므로 이 효소가 활성산소류를 생성하려면 우선 xanthine dehydrogenase(type D)로 부터 xanthine oxidase(type O)로의 형전환이 이루어져야 되는 선행조건이 요구되어 진다.²⁹⁾ 납이온이 xanthine oxidase활성에 어떤 영향을 주는가를 관찰하였을 때 반응액중의 납이온 농도에 비례하여 type O의 활성은 점차적으로 증가하였는데 반해서 type D의 활성은 납이온 농도에 비례하여 감소하였다. 이러한 결과는 납이온에 의해서 total(type D+O)활성에는 거의 변화가 관찰되지 않았지만 type D가 type O로 전환이 촉진되어 나타난 결과로 type D의 활성은 감소되고 반면에 type O의 활성은 그만큼 증가되어진 것으로 생각된다. 그리고 납이온이 존재하는 반응액중에서 xanthine 산화효소의 형전환율(type D→type O)은 첨가된 납의 농도 의존적으로 증가되었다. Aldehyde oxidase는

xanthine oxidase와 물리화학적인 구조나 성질이 대단히 유사할 뿐만 아니라 xanthine oxidase와 마찬가지로 활성산소류를 생성시키는 효소로 알려져 있다.³²⁾ 반응액중에 납이온을 첨가시키고 aldehyde oxidase 활성 변화를 관찰하였을 때 납이온이 이 효소에는 별다른 영향을 미치지 않았다. 이것으로 보아 납이온은 aldehyde oxidase를 개입시키지 않고 선택적으로 xanthine dehydrogenase로 부터 xanthine oxidase로의 형전환을 촉진시켜 xanthine oxidase 활성의존도를 증가시키므로 이 효소에 의한 생화학적 산화반응이 상대적으로 증가하여 지질의 과산화반응을 촉진시키므로 독성이 유발되는 것으로 생각할 수 있다. 이상의 성적들을 종합하여 볼 때 납은 생체내에서 xanthine 산화효소의 활성과 형전환을 증가시켜 superoxide anion radical, hydroxyl radical 및 hydrogen peroxide 같은 oxygen free radical류들의 생성을 촉진시키므로서 지질의 과산화반응을 유도하기 때문에 독성이 나타날 것으로 사료된다.

감사의 말씀

이 연구의 일부는 영남 대학교 교비 연구비 지원에 의해 이루어 졌으며 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) Ng, A. and Patterson, C.: Natural concentration of lead in acient Arctic and Antarctic ice. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **45**, 2109 (1981).
- 2) Ziemsen, B., Angerer, J., Lehnert, G., Bernkmann, H. G. and Goedde, H. W.: Polymorphism of deltaaminoevulnic acid' dehydratase in lead-exposed workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **58**, 245 (1986).
- 3) Schumann, G. B., Lerner, S. I., Weiss, M. A., Gawronski, L. and Lohiya, G. K.: Inclusion bearing cells in industrial workers exposed to lead. *Am. J. Clin. Pathol.*, **74**, 192 (1980).
- 4) Copper, W. C. and Gaffey, W. R.: Mortality of lead workers. *J. O. M.*, **17**, 100 (1975).
- 5) Cooper, W. C.: Occuational lead exposure. What are the risk?. *Science* **180**, 129 (1980).
- 6) Dingwall-Fordyce, I. and Lane, R. E.: A follow-

- up study of lead workers. *Br. J. Ind. Med.* **20**, 313 (1963).
- 7) WHO: Environmental Health Criteria 3. Lead. World Health Organization, Geneva, (1977).
 - 8) EPA: Air Quality Criteria for lead, Vols. I-IV. EPA-600/8-83/02aF. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, D. C. (1984).
 - 9) Paglia, D. E., Valentine, W. N. and Dahlgren, J. G.: Effects of low level lead exposure on pyrimidine-5'-nucleotidase and other erythrocyte enzymes. *J. Clin. Invest.* **56**, 1164 (1975).
 - 10) Araki, S. and Ushio, K.: Mechanism of increased osmotic resistance of red cells in workers exposed to lead. *Br. J. Ind. Med.* **39**, 157 (1982).
 - 11) Heather, J. C., Robin, A. B. and Stanley, S. B.: Binding of lead to metallothionein-like Protein in human erythrocytes. *J. Inorgan. Biochem.* **49**, 55 (1993).
 - 12) Goyer, R. A. and Rhyne, B.: Pathological effects of Lead. *Int. Rev. Exp. Pathol.* **12**, 1 (1973).
 - 13) Needleman, H. L., Schell, A., Bellinger, D., Leviton, A. and Allred, E.: Long-term effects of childhood exposure to lead at low dose: an eleven-year follow-up report. *New Engl. J. Med.* **322**, 83 (1990).
 - 14) Nakagawa, K.: Hepatic glutathione metabolism in mice acutely treated with lead acetate. *Japan. J. Pharmacol.* **51**, 173 (1989).
 - 15) Dalvi, R. R. and Robbins, T. J.: Comparative studies on the effect of cadmium, cobalt, lead, and selenium on hepatic microsomal monooxygenase enzymes and glutathione levels in mice. *J. Environ. Pathol. Toxicol.* **1**, 601 (1978).
 - 16) Tyroler, H. A.: Epidemiology of hypertension as a public health problem: an overview as background for evaluation of blood lead-blood pressure relationship. *Environ. Health Perspect.* **78**, 3 (1988).
 - 17) Rossouw, J., Offermeier, J. and van Rooyen, J. M.: Apparent central neurotransmitter receptor changes induced by low-level lead exposure during different development phases in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **91**, 132 (1987).
 - 18) Michaelson, I. A. and Michael, B.: Effect of orally inorganic lead exposure on rat blood-brain barrier permeability to tyrosine or choline. *Biochem. Pharmacol.* **31**, 1881 (1982).
 - 19) Bressler, J. P. and Goldstein, G. W.: Mechanisms of lead neurotoxicity. *Biochem. Pharmacol.* **41**, 479 (1991).
 - 20) Manalis, R. S. and Cooper, G. P.: Presynaptic and postsynaptic effects of lead on neuromuscular junction. *Neurotoxicol.* **5**, 267 (1984).
 - 21) Seoh, D. W., Chong, E. Y., Chong, J. H. and Ko, K. H.: Selective toxicoty to central serotonergic nervous system in prenatally lead-exposed rats. *The 40th Ann. Conv. Pharmaceut. Soc. Kor.* 203 (1991).
 - 22) Woods, J. S., Calas, C. A., Aicher, L. D., Robinson, B. H. and Mailer, C.: Stimulation of porphyrinogen oxidation by mercuric ion. I. Evidence of free radical formation in the presence of thiol and hydrogen peroxide. *Mol. Pharm.* **38**, 253 (1990).
 - 23) Fernandes, A. C., Filipe, P. M., Coelho, G. and Manso, C. F.: The inhibition of lipid peroxidation by cinnarizine. *Biochem. Pharmacol.* **41**, 709 (1991).
 - 24) Shin, U. S. and Huh, K.: Effect of metallothionein on the lipid peroxidation and aldehyde oxidase activity. *Kor. J. Toxicol.* in press (1995).
 - 25) Stirpe, F. and Della Corte, E.: The regulation of rat liver xanthine oxidase: Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J. Biol. Chem.* **244**, 3855 (1969).
 - 26) Rajagopalan, K. V., Fridovich, I. and Handler, P.: Hepatic aldehyde oxidase. I. Purification and properties. *J. Biol. Chem.* **237**, 922 (1962).
 - 27) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K.: Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351 (1979).
 - 28) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
 - 29) Battelli, M. G., Della. Corte, E. and Stirpe, F.:

- Xanthine oxidase type D(dehydrogenase) in the intestine and organs of the rat. *Biochem. J.* **126**, 747 (1972).
- 30) Tubaro, E., Lotti, B., Croce, C., Caballo, G. and Borelli, G.: Liver xanthine oxidase increase in mice in three pathological models. *Biochem. Pharmacol.* **29**, 1939 (1980).
- 31) Doul, J., Klaassen, C. D. and Amdur, M. O.: *In Toxicology : The basis science of poisons*, 2nd ed., p. 409, Macmillan publishing Co., New York (1980).
- 32) Massey, V.: *In iron sulfur proteins* (Lovenberg, W., ed.) p. 301, Academic press, New York (1973).