

흰쥐에 있어서 톨루엔 대사에 미치는 간손상의 영향

차상은 · 윤종국[†] · 이상일*

안동전문대학 산업안전위생과, [†]계명대학교 자연과학대학 공중보건학과, *계명전문대학 식품과학과

Effect of Hepatic Damage on the Toluene Metabolism in Carbon Tetrachloride Pretreated-Rats

Sang-Eun Cha, Chong-Guk Yoon[†] and Sang-Il Lee*

Department of Industrial Safety and Hygiene, Andong College, Andong, 762-820, Korea

[†]Department of Public Health, College of Natural Science, Keimyung University, Taegu, 704-701, Korea

*Department of Food Science, Keimyung Junior College, Taegu, 705-037, Korea

(Received May 30, 1998)

(Accepted August 13, 1998)

ABSTRACT : This study was performed to evaluate the effect of liver damage on toluene metabolism in rats pretreated with carbon tetrachloride. Liver damage in rats was induced by administration of 0.1 ml of carbon tetrachloride per 100 g of body weight intraperitoneally every other day for four weeks except the last day before sacrifice. One day before sacrifice, toluene was administered to the animals instead of carbon tetrachloride. Rats were sacrificed at the 1st, the 2nd, the 3rd and the 4th week after the first administration of carbon tetrachloride. Based on the histopathological findings, liver weight and serum alanine aminotransferase, the CCl₄-pretreated group was found to have gradual severe liver damage. Especially the degree of liver injury became increasingly severe throughout the whole course of the experiment. The contents of hippuric acid in urine was lower in the all groups pretreated with CCl₄ than that of the control. The contents of hepatic cytochrome P450 (CYP), benzylalcohol dehydrogenase and benzaldehyde dehydrogenase activities were decreased in CCl₄-pretreated rats than those of the control. The CCl₄-treated animals showed the gradual decreased activities of these enzyme as injection times elapsed. Km values of the benzylalcohol dehydrogenase in pooled liver samples from CCl₄-pretreated or control groups were similar. On the other hand, Vmax values of the CCl₄-pretreated group was lower than that of the control. Therefore, it can be concluded that reduction of the toluene metabolism in damaged rat liver induced with CCl₄ was due to the inhibition of CYP content, benzylalcohol and benzaldehyde dehydrogenase activities which related with toluene metabolic enzyme system.

Key Words : Carbon tetrachloride, Toluene, Cytochrome P450, Benzylalcohol or aldehyde dehydrogenase, Hippuric acid.

I. 서 론

산업발달과 더불어 유독성 유기용제의 사용량은 날로 증가 추세에 있으며, 이로 인한 산업장 근로자들의 건강은 심각한 위협을 받고 있다. 이와 같은 산업장 유해물질들 중 toluene은 비교적 그 안정성이 인정되어 여러 생산공정에서 benzene의 대체용제로 널리 이용되고 있다. 그러나 toluene은 인체의 신경계(Boor와 Hurtig, 1977; Rees 등, 1987), 순환계(Zee-Cheng 등,

1985; Vidrio 등, 1986), 조혈계(Rosin 등, 1988; Korpela 등, 1983) 등에 손상을 초래하며, 급성중독시에는 간 손상도 야기(Toftgard 등, 1982; Morris, 1989)시킨다고 보고하고 있어 이의 유해성에 관한 재평가가 필요한 실정이다.

Toluene의 생체내 대사는 주로 간조직 세포의 복합 산화기구(mixed function oxidation system)인 cytochrome P450(CYP)에 의해서 benzylalcohol로, 다시 benzylalcohol dehydrogenase에 의해 benzaldehyde로, benzaldehyde dehydrogenase의 산화를 받아 benzoic acid로 산화된 다음 glycine과 포함되어 마노산

[†]To whom correspondence should be addressed.

으로 요중에 배설(Cohr와 Stockholm, 1979; Ellenhorn과 Barceloux, 1988) 된다고 한다.

한편 사염화탄소는 조직 세포의 활면소포체에 존재하는 복합산화기구에 의하여 free radical(trichloromethyl radical; $\cdot\text{CCl}_3$)로 전환되며, 이것이 세포막의 과산화를 야기시켜 조직 손상을 일으키는 것(Simon 등, 1981; Freeman과 Crapo, 1982)으로 알려져 있는 간독성물질이다.

일반적으로 이물질(xenobiotics)의 독성은 이의 생체 내 대사율에 의해 결정되는 것으로 알려져 있으며, 대부분의 생체의 이물질들은 주로 간장에서 대사된다는 사실을 고려해 볼 때, 간장의 건강상태는 생체 내로 흡수된 이물질들의 대사에 영향을 미쳐 이들의 독성발현에 상당한 변동을 야기시킬 것으로 사료된다.

그러므로 본 연구에서는 실험동물에 사염화탄소의 전처치 기간을 달리하여 간손상의 모델을 만든다음 toluene을 투여하고 이의 대사에 관여하는 효소들의 활성변동과 간손상 지표, 산소독성물질 생성계 및 해독계 효소의 활성변동을 상호비교 검토하므로써 산업독성학적인 측면에서 산업 유해물질의 독성발현에 관한 기초자료를 제시코자한다.

II. 재료 및 방법

1. 동물의 사육 및 처치

실험 동물은 체중 100 g 내외의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종의 숫 흰쥐를 (주)대한실험동물센터에서 구입한 동물 사료(삼양사 제품)로 10일간 적응시킨 다음 체중 150 g 내외의 것을 대조군 및 사염화탄소 전처치군으로 나누고, 각각을 다시 1주, 2주, 3주, 4주 실험군으로 분류하였다. 그리고 각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 물과 사료의 양은 제한없이 공급하였다.

사염화탄소 전처치군은 50% 사염화탄소(olive oil과 1:1 혼합) 용액을 Rubin 등(1963)의 방법에 준해 흰쥐 체중 100 g 당 0.1 ml씩 1일 1회 2일 간격으로 1주, 2주, 3주, 4주 동안 복강내 주사하였으며, 또한 모든 실험군의 처치를 사염화탄소 4주 전처치군에 맞추기 위하여 사염화탄소 전처치 기간에 따라 4, 3, 2 및 1주간 동량의 olive oil을 복강내로 주사하였고, 4주간 olive oil을 주사한 실험동물은 정상대조군(NC) 및 toluene 대조군(TC)으로 나누었다. 각 주별 마지막 전처치를 행한 실험군의 흰쥐는 체중 100 g 당 0.2 ml씩의 톨루엔(Pathiratne 등, 1986)을 복강내 주사한 다음 24시간 절식시킨 후 도살하였다. 동물은 ether 마취하에 복부 정중선을 따라 개복하고, 복부 대동맥으로 부터 채혈하여 실험사 시킨 후,

4°C 생리 식염수로 간 문맥을 통하여 간을 관류, 간내에 남아있던 혈액을 제거한 다음 적출하였다. 적출한 간은 생리 식염수로 씻은 후 여지로 압박하여 간내에 남아있는 생리식염수를 가능한 모두 제거한 다음 무게를 칭량하고 효소 활성도 측정 및 병리 조직 검사에 사용하였다. 채취한 혈액은 혈청을 얻고 alanine aminotransferase (ALT) 활성도 측정용 시료로 사용하였다. 한편 metabolic cage를 이용하여 톨루엔을 주사한 후 24시간 동안의 요를 채취하여 마뇨산 함량 측정에 이용하였다.

2. 효소시료의 조제

적출한 간 일부를 취하여 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 가한 다음 빙냉하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄 균질액(20% W/V)을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 상정액을 10,000×g에서 20분간 재원심 분리한 다음 상정액을 얻었다. 다시 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol 분획과 microsome 분획을 얻고 이하의 실험에 사용하였다.

3. 효소의 활성 측정

간 조직 중 benzyl alcohol dehydrogenase(BAD) 활성은 Bergmeyer(1974)의 방법 benzaldehyde dehydrogenase (BzAD) 활성은 Stachow 등(1967)의 방법, glutathione peroxidase(GPx) 활성은 Paglia와 Valentine(1967)의 방법, 간 및 혈청 중 xanthine oxidase(XO) 활성은 Stirpe와 Della Corte(1969)의 방법, 혈청 중 ALT 활성 측정은 Reitman과 Frankel(1957)의 방법에 따라 행하였다.

4. 간조직 CYP, gluathione, 과산화지질 및 뇨중 마뇨산의 함량 측정

간조직 CYP의 함량은 Omura와 Sato(1964)의 방법, reduced glutathione(GSH) 함량은 Ellman(1959)의 방법, 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등(1979)의 방법에 준하여 측정하였다. 그리고 요 중 마뇨산은 Kiyoshi 등(1988)의 방법에 따라 HPLC를 이용하여 정량하였으며, 단백질 정량은 Lowry 등(1951)의 방법에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

5. 광학 및 전자현미경 관찰

적출한 흰쥐 간의 중엽을 즉시 고정, 수세, 탈수, 포

매, 염색하여 광학현미경으로 관찰하였고, 동시에 적출한 중엽을 전고정, 세정, 후고정, 탈수, 포매, 염색한다음 전자 현미경으로 관찰하였다.

한편 얻어진 실험성적의 유의성 검정은 Student's t-test(Scheffler, 1980)로 하였다.

III. 결 과

1. 실험동물의 체중, 체중당 간무게 및 혈청 ALT의 활성 변동

Olive oil을 투여한 대조군에 비해 사염화탄소를 전처치하는 동안 모든 실험기간에서 체중 증가율이 현저히 낮게 나타났다(Fig. 1).

체중당 간 무게 및 혈청 ALT의 활성은 사염화탄소의 전처치 없이 toluene만 1회 투여한 toluene 대조군인 TC 군에서는 정상대조군인 NC 군에 비해 증가하는 경향을 보였으며, 사염화탄소를 전처치한 모든 실험군에서는 NC 군에 비해 유의하게 증가되었고, 그 증가의 정도는 사염화탄소의 투여 회수에 비례하였다. 특히 사염화탄소 4주 전처치군에서는 TC군에 비해 유의한 증가를 나타내었다(Table 1).

2. 간의 조직학적 변화

간 조직의 조직학적 소견에 있어서는 정상군의 간

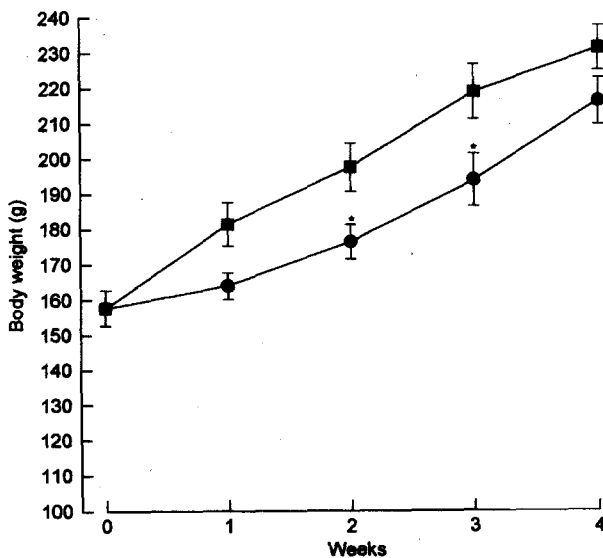


Fig. 1. Four week weight gains in toluene treated rats after pretreatment with carbon tetrachloride (CCl₄). Each value represents the mean \pm S.E. of 6 rats. ■—■; Control, ●—●; CCl₄, *; Significantly different from each control.

Table 1. Change of liver weight (L.W.) to body weight (B.W.) ratio (%) and serum ALT activity in toluene treated rats after pretreatment with carbon tetrachloride (CCl₄)

Pretreatment (Weeks)	L.W./B.W. (%)	Serum ALT ¹⁾
NC ²⁾	2.82 \pm 0.25	31.14 \pm 5.27
TC ³⁾	3.26 \pm 0.28	47.40 \pm 7.92
1	3.74 \pm 0.25**a)	79.00 \pm 20.61
2	3.71 \pm 0.34*a)	140.30 \pm 92.88
3	4.32 \pm 0.81*a)	240.50 \pm 106.80
4	4.82 \pm 0.39**b)	245.20 \pm 141.90

Data are expressed as mean \pm S.E. for 6 rats. According to the experimental methods in text, 0.1 ml of carbon tetrachloride per 100 g of body weight was administered through intraperitoneally every other day for four weeks except 1 day before sacrifice. One day before sacrifice of rats, 0.2 ml of toluene was administered instead of carbon tetrachloride. And rats were sacrificed at the 1st, 2nd, 3rd and 4th week after first administration of above xenobiotics. 1); Karmen unit/ml of serum, 2); Normal control, 3); Toluene control. a); Significantly different from NC, b); Significantly different from TC (*; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$, ***; $p < 0.001$).

조직은 중심 정맥을 중심으로 간 세포의 배열이 정상적으로 나타났으며 특기할만한 소견은 없었다(Fig. 2). 그러나 사염화탄소 전처치군에서는 1주째 부터 간세포의 변성소견이 심하며 미세지방 변성, bridging necrosis가 관찰되었다(Fig. 3). 또한 4주째는 본 논문에 제시하지 않았지만 necrosis가 매우 심하게 나타났다.

한편 전자현미경적 관찰에서 정상적인 대조군은 핵, mitochondria 및 endoplasmic reticulum 등의 간 세포 소기관이 잘 보존된 정상 간세포의 형태를 보였으며(Fig. 4), 사염화탄소를 1주간 전처치한 군에서는 mitochondria, RER 및 미세포 변화를 포함한 세포 소기관의 심한 변

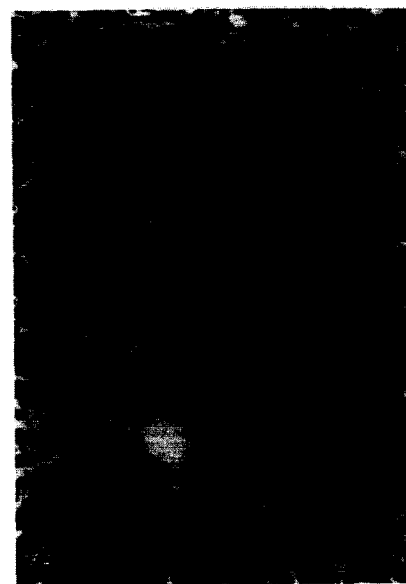


Fig. 2. Control rat. The hepatic parenchyma is well preserved (Hematoxylin-eosin stain; magnification $\times 100$).

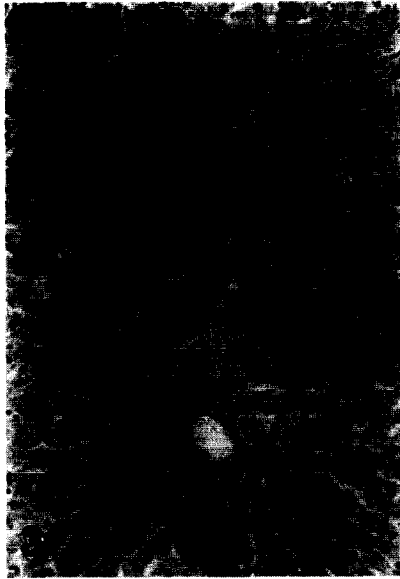


Fig. 3. Rat pretreated with CCl₄. Nodular formation of the hepatic parenchyme with bridging necrosis is seen. The hepatocytes show microfatty change and ballooning degeneration (Hematoxylin-eosin stain; magnification × 100).

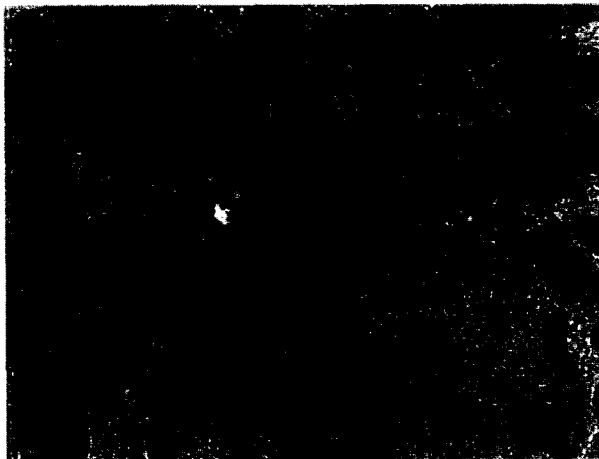


Fig. 4. Control liver of rat. N: nucleus, M: mitochondria (Uranyl acetate and lead citrate; magnification × 13,600)

성을 확인할 수 있었고(Fig. 5), 사염화탄소를 4주간 전처치한 군에서는 많은 mitochondria에서 cristae 소실과 함께 현저한 팽윤을 관찰할 수 있을 뿐만 아니라 다른 소기관도 심한 괴사 변성을 관찰할 수가 있었다(Fig. 6).

3. 간 조직중 GSH 및 LPO 함량 변동

간 조직의 GSH 및 과산화지질의 함량은 NC군에 비해 TC군 및 모든 사염화탄소 전처치군에서는 증가하는 경향을 나타내었으나 유의한 변동은 아니었다.

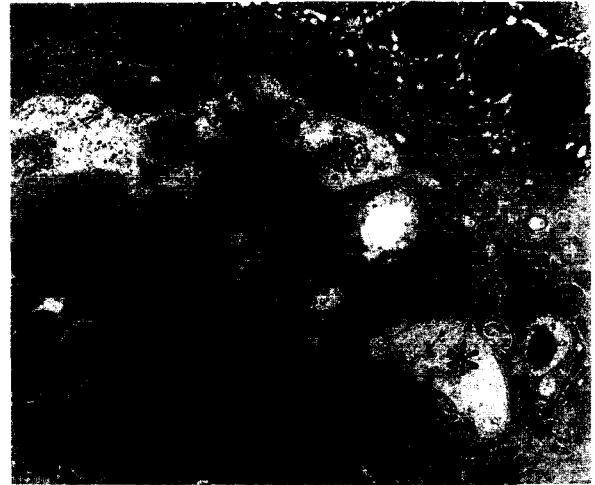


Fig. 5. Administration of carbon tetrachloride every other day for one week. Marked degeneration of cellular organelle including some mitochondria (small asterisk), RER and microcystic change (large asterisks). M: mitochondria (Uranyl acetate and lead citrate; magnification × 13,600).

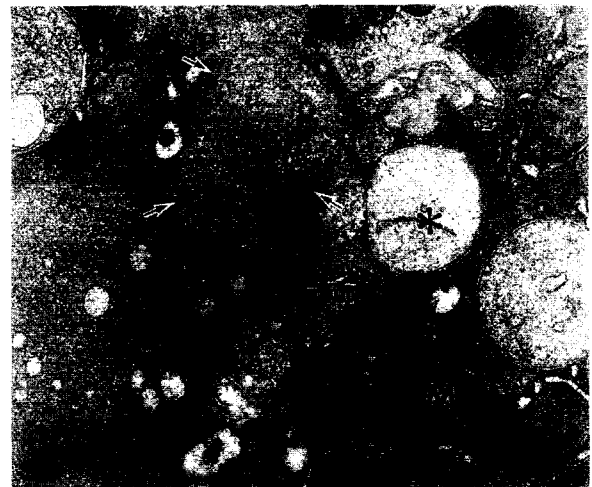


Fig. 6. Administration of carbon tetrachloride every other day for four weeks. Many mitochondria show prominent swelling change with loss of cristae (asterisks) and other organelle show marked necrotic degeneration (arrows). M: mitochondria (Uranyl acetate and lead citrate; magnification × 20,400).

Table 2. Changes of hepatic reduced glutathione (GSH) and lipid peroxide (LPO) contents in toluene treated rats after pretreatment with carbon tetrachloride (CCl₄)

Pretreatment (Weeks)	GSH ¹⁾	LPO ²⁾
NC	3.01±0.22	12.38±3.48
TC	3.58±0.41	13.58±3.14
1	4.03±0.61	13.45±3.67
2	3.60±0.27	12.56±4.09
3	3.77±0.56	18.10±5.93
4	3.71±0.37	18.81±7.42

Experimental methods are described in Table 1 and text. Data are expressed as mean±S.E. for 6 rats. 1); μmole/g of tissue, 2); MDA nmole/g of tissue.

Table 3. Changes of liver xanthine oxidase (XO) and glutathione peroxidase (GPx) activities in toluene treated rats after pretreatment with carbon tetrachloride (CCL₄)

Pretreatment (Weeks)	Xanthine oxidase ¹⁾	Glutathione peroxidase ²⁾
NC	1.37±0.45	15.95±6.61
TC	1.51±0.22	19.37±3.38
1	1.89±0.30	24.52±7.47
2	1.98±0.16	21.65±1.62
3	2.00±0.93	22.26±2.01
4	2.10±0.75	19.79±1.84

Experimental methods are described in Table 1 and text. Data are expressed as mean±S.E. for 6 rats. 1); μmol uric acid formed/min/100 g body weight, 2); NADPH oxidized nmol/mg protein/min.

Table 4. Changes of urinary hippuric acid contents in toluene treated rats after pretreatment with carbon tetrachloride (CCL₄)

Pretreatment (Weeks)	Hippuric acid ¹⁾
NC	0.18±0.05
TC	6.18±1.05
1	4.52±1.00
2	3.40±1.03
3	3.08±0.96
4	2.02±1.23*

Experimental methods are described in Table 1 and text. Data are expressed as mean±S.E. for 6 rats. 1); hippuric acid g/g of creatine, *, Significantly different from TC ($p<0.05$).

4. 간 조직 중 XO 및 GPx 활성도 변동

간 조직 중 XO 및 GPx의 활성은 NC군에 비해 TC군 및 모든 사염화탄소 전처치군에서 투여회수에 비례하여 경시적으로 증가하는 경향을 보였다(Table 3).

5. 요 중 마노산의 함량변동

요 중 마노산의 함량은 NC군에 비해서는 toluene을 투여한 모든 실험군에서 현저하게 증가하였고, TC군에 비해서는 사염화탄소 전처치 기간에 비례하여 감소하였으며, 특히 4주 전처치군에서는 약 67% 정도 현저하게 감소($P<0.05$)하였다(Table 4).

6. 간 조직 중 CYP의 함량 및 BAD 및 BzAD 활성도 변동

사염화탄소를 전처치하지 않은 TC군에서는 NC군에 비해 CYP의 함량과 BAD 및 BzAD의 활성은 모두 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 사염화탄소 전처치군은 NC 및 TC군에 비해 실험 전기간 동안 CYP의 함량이 현저히 감소되었으며, BAD 및 BzAD 활성 모두 실험 전기간을 통하여 사염화탄소 투여 회수가 증가

Table 5. Changes of CYP content and benzylalcohol dehydrogenase (BAD) and benzaldehyde dehydrogenase (BzAD) activities in toluene treated rats after pretreatment with carbon tetrachloride (CCL₄)

Pretreatment (Weeks)	CYP ¹⁾	BAD ²⁾	BzAD ³⁾
NC	0.30±0.06	2.04±0.12	1.69±0.27
TC	0.39±0.03	2.23±0.29	1.98±0.15
1	0.03±0.01*** ^{b)}	1.70±1.15	1.19±0.17** ^{b)}
2	0.07±0.01*** ^{b)}	1.73±0.54	1.08±0.17** ^{b)}
3	0.07±0.02*** ^{b)}	1.46±0.76	1.02±0.25** ^{b)}
4	0.05±0.01*** ^{b)}	1.20±0.44* ^{a)}	0.99±0.12** ^{b)}

Experimental methods are described in Table 1 and text. Data are expressed as mean±S.E. for 6 rats. 1); nmole/mg protein, 2); μmol NADH/mg protein/min, 3); μmol NADH/mg protein/min, a); Significantly different from NC, b); Significantly different from TC. (*; $p<0.05$, **; $p<0.01$, ***; $p<0.001$)

Table 6. Changes of K_m and V_{max} values of benzylalcohol dehydrogenase in toluene treated rats after pretreatment with carbon tetrachloride (CCL₄)

Pretreatment (Weeks)	K_m value ¹⁾	V_{max} value ²⁾
NC	2.97	14.71
TC	3.02	15.21
1	3.13	12.15
2	2.92	10.49
3	3.19	8.24
4	2.82	8.95

Experimental methods are described in Table 1 and text. Each value represents the mean of 3 experiments. 1); 10^{-4} M, 2); nmoles/mg protein/min.

할수록 효소 활성은 반비례하여 현저히 억제되었다(Table 5).

7. 간 조직 BAD의 K_m 치 및 V_{max} 치의 변동에 미치는 영향

간 cytosol 분획을 실험군별로 각각 모은 다음 이를 효소원으로하여 동력학적인 측면에서 검토한 결과 K_m 치는 사염화탄소를 전처치한 군과 정상 및 toluene 대조군 모두 유사한 값을 나타내었다. 한편 V_{max} 치는 TC와 NC군은 유사하였으나, 사염화탄소 전처치군에서는 NC 및 TC군에 비해 감소하였으며, 감소의 정도는 투여회수에 반비례하였다(Table 6).

IV. 고 찰

내인성 및 외인성 요인에 의하여 생성된 친전자성 물질(Trush 등, 1982; Croci와 Williams, 1985) 뿐만 아니라 이와 동시에 생성된 oxygen free radical 들은 체내에서 여러가지 독작용을 유발하는 것(Freeman과 Crapo, 1982; Susan과 Barry, 1980)으로 알려져 있으며,

해독기구의 작용으로 독성이 완화(Thor, 1978; Marklund와 Marklund, 1974; McCord와 Fridovich, 1967; Oh 등, 1982) 된다고 한다.

이 연구에서는 사염화탄소와 같은 생체 이물질에 의한 간손상 실험동물에서 톨루엔 대사가 어떠한 변동을 나타내는지를 검토할 목적으로 실험을 행하였다.

본 실험 조건하에서 사염화탄소를 전처치하면서 간손상시 증가하는 체중 당 간무게, 간조직 GSH 함량, XO 활성 및 혈청 ALT의 활성과 세포막 손상의 지표인 간조직 LPO의 함량 변동과 광학 및 전자현미경적 관찰 결과, 사염화탄소에 의해 간손상이 유발되었으며, 사염화탄소의 전처치 기간이 증가할수록 회복이 불가능한 정도의 심한 비가역적인 간 손상이 나타남을 확인할 수가 있었다. 이러한 결과는 타연구자들의 보고(Drill, 1952; Recknagel과 Glende, 1973; 윤, 1988)와 유사한 것으로, 사염화탄소 투여로 심한 간손상이 유발되어 실험 전기간동안 사료 섭취량이 감소되었으며, 이로 인하여 체중증가율이 대조군에 비해 현저히 낮게 나타난 것으로 사료된다.

생체내에서 톨루엔의 대사율은 이의 대사에 관여하는 간조직 CYP, BAD, BzAD 등의 활성 변동에 따라 영향을 받는다.

본 실험조건하에서는 사염화탄소 전처치군이 정상대조군에 비해 간조직 CYP의 함량, BAD와 BzAD의 활성이 모두 감소하였으며, 그 감소의 정도는 사염화탄소 투여기간에 비례하고 있었다. 그리고 이러한 감소 현상이 어떤 기전에 기인되어 나타난 것인지를 검토할 목적으로 동력학적인 측면에서 BAD의 활성을 측정하였을 때, K_m 치의 변화없이 V_{max} 치가 감소되었다. 이러한 실험결과와 타연구자들의 보고(Huh 등, 1986)를 고려해 볼 때 사염화탄소의 전처치로 심한 간손상이 야기되어 toluene의 대사에 관여하는 효소단백의 합성이 저해되어 효소의 활성이 저하된 것으로 사료되며, 이로 인하여, toluene의 대사율이 감소되어 사염화탄소를 전처치한 실험동물에서 toluene만 1회 투여한 대조군에 비해 toluene의 최종 대사산물인 마노산의 뇨중 함량이 현저히 감소된 것으로 생각된다.

이상 이 실험 성적들과 문헌상의 지견들을 종합해 볼 때, 간손상과 같은 질병시에는 생체내 독성물질 대사와 해독에 관여하는 효소 단백질의 합성 저하로 특정 산업장 뿐만 아니라 주위 환경으로부터 생체 내로 유입될 수 있는 독성물질들의 대사율이 감소되므로써 이들의 체내 축적현상이 심화될 것이며, 이로 인한 심각한 독작용이 유발될 것으로 사료된다.

V. 결 론

간 손상의 정도에 따른 톨루엔 대사의 변동을 알아 보기 위하여 흰쥐에 사염화탄소를 전처치한 후 toluene을 투여하여 이의 대사를 관찰코자 요 중 마노산 함량, 간조직 CYP 함량, benzylalcohol dehydrogenase(BAD) 및 benzaldehyde dehydrogenase(BzAD) 활성 변동을 측정함과 동시에 간 손상 정도를 병리조직학적 검사 및 간 기능검사, 간무게 및 혈청 alanine aminotransferase(ALT)와 free radical 생성 및 제거 효소의 활성을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

사염화탄소 전처치 기간중 흰쥐의 체중 증가율은 사염화탄소를 전처치한 군에서 현저히 낮게 나타났으며, 체중당 간무게는 실험 전기간을 통하여 정상 대조군에 비해 사염화탄소 전처치군에서 증가율이 높았다. 혈청 ALT는 사염화탄소 투여군이 정상대조군에 비해 현저하게 증가되었으며 그 증가의 정도는 사염화탄소 투여 기간에 비례하였다. 간조직 glutathione의 함량, xanthine oxidase 및 glutathione peroxidase의 활성은 정상대조군에 비해 유의한 변동은 아니었으나 사염화탄소를 전처치하므로써 증가하는 경향을 나타내었다.

광학현미경적 조직관찰의 결과 사염화탄소 전처치군은 간 조직의 변성이 심하게 나타나는 피사와 지방 공포를 관찰할 수 있었고, 전자현미경적 세포 소기구의 관찰에서 사염화탄소 전처치군에서는 mitochondria cristae의 소실 및 종창이 심하게 나타나는 세포 소기관 피사변성을 확인할 수가 있었다. 간조직 CYP의 함량과 BAD 및 BzAD 활성은 사염화탄소 전처치군에서 정상대조군에 비해 현저히 감소하였고, BAD의 K_m 치는 대조군과 유사하였으나 V_{max} 치는 사염화탄소 전처치군에서 경시적으로 감소하였다.

이상의 실험성적들과 문헌상의 지견들을 종합해 볼 때, 간손상의 정도에 따라서 toluene의 대사와 관련된 CYP의 함량, BAD 및 BzAD의 활성 변동이 초래되어 마노산의 요 중 배설량이 변화된 것으로 생각된다.

참고문헌

- Bergmeyer, H.U. (1974): *Methods of enzymatic analysis*. Vol. 1. (Academic Press, N.Y.), p. 428-429.
- Boor, J.W. and Hurtig, H.I. (1977): Persistent cerebellar ataxia after exposure to toluene. *Ann. Neurol.*, 2(5), 440-442.
- Cohr, K.H. and Stockholm, J. (1979): Toluene: A toxicologic review. *Scand. J. Work Environ. Health*, 5, 71-90.

- Croci, T. and Williams, G.M. (1985): Activities of several phase I and phase II xenobiotics biotransformation enzymes in cultured hepatocytes from male and female rats. *Biochem. Pharmacol.*, **34**(17), 3029-3035.
- Drill, V.A. (1952): Hepatotoxic agents: Mechanism of action and dietary relationship. *Pharmacol. Rev.*, **4**, 1.
- Ellenhorn, M.J. and Barceloux, D.G. (1988): "Toluene" in Medical Toxicology. (Elsevier Science Pub. Co. Inc., N.Y.), p. 959-963.
- Ellman, G.L. (1959): Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70-77.
- Freeman, B.A. and Crapo, J.D. (1982): Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*, **47**(5), 412-426.
- Huh, K., Lee, S.I., Park, J.M. and Kim, S.H. (1986): Effect of diallyl disulfide on the hepatic glutathione S-transferase activity in rat. *Arch. Pharm. Res.*, **9**, 205-209.
- Kiyoshi, K., Yukio, H., Keiko, K. and Takashi, I. (1988): Determination of benzoic acid and hippuric acid in human plasma and urine by high performance liquid chromatography. *J. Chromatography*, **425**, 67-75.
- Korpela, M., Vapaatalo, H. and Tahti, H. (1983): Effect of toluene on the hemolytic resistance of rat erythrocytes. *Toxicol. Lett.*, **17**(3,4), 253-257.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.L. (1951): Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- Marklund, S. and Marklund, G. (1974): Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, **47**(3), 469-474.
- McCord, J.M. and Fridovich, I. (1967): Superoxide dismutase.: An enzymatic function for erythrocyte cuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, **244**, 6049-6055.
- Morris, R.J. (1989): Toluene and hepatotoxicity. *J. Occup. Med.*, **31**(12), 1014-1015.
- Oh, S.M., Son, Y.S., Choi, K.S., Lim, J.K. and Chung, M.H. (1982): Effect of oxygen-derived free radicals on brain microsomal Na⁺/K⁺-ATPase activity. *Kor. J. Pharmacol.*, **18**, 1-14.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979): Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**(2), 351-358.
- Omura, T. and Sato, R. (1964): The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes: Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370-2378.
- Paglia, D.E. and Valentine, W.N. (1967): Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **70**(1), 158-169.
- Pathiratne, A., Puyear, R.L. and Brammer, J.D. (1986): A comparative study of the effects of benzene, toluene, and xylenes on their *in vitro* metabolism and drug-metabolizing enzymes in rat liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **82**(2), 272-280.
- Recknagel, R.O. and Glende, E.A. Jr. (1973): Carbon tetrachloride hepatotoxicity: An example of lethal cleavage. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, **2**, 263-297.
- Rees, D.C., Knisely, J.S. and Jordan, S. (1987): Discriminative stimulus properties of toluene in the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **88**, 97-104.
- Reitman, S. and Frankel, S. (1957): A Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. pathol.*, **28**, 50-63.
- Rosin, J., Bartosz, G. and Wronska Nofer, T. (1988): Studies on the effect of ethanol and/or toluene on rat erythrocytes. *J. Appl. Toxicol.*, **8**(5), 369-372.
- Rubin, E., Hutter, F. and Popper, H. (1963): Cell proliferation and fiber formation in chronic carbon tetrachloride intoxication, morphologic and chemical study. *Am. J. Pathol.*, **42**, 715-728.
- Scheffler, W.C. (1980): *Statistics for the Biological Sciences*. USA: Addison-Wesley Publishing Co.
- Simon, R.H., Scoggin, C.M. and Patterson, D. (1981): Hydrogen peroxide cause fetal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J. Biol. Chem.*, **266**, 7181-7186.
- Stachow, C.S., Stevenson, I.L. and Day, D.D. (1967): Purification and properties of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-specific benzaldehyde dehydrogenase from pseudomonas. *J. Biol. Chem.*, **242**, 5294-5300.
- Stirpe, F. and Della Corte, E. (1969): The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, **244**(14), 855-863.
- Susan, M.D. and Barry, L.F. (1980): Normobaric toxicity of lung. *New Eng. J. Med.*, **303**, 76-86.
- Thor, H. (1978): Drug biotransformation and hepatotoxicity studies with bromobenzene in isolated hepatocytes. *Arch. Toxicol.(Suppl.)*, **1**, 107-114.
- Toftgard, R., Nilsen, O.G. and Gustafsson, J.A. (1982): Dose dependent induction of rat liver microsomal cytochrome P450 and microsomal enzymatic activities after inhalation of toluene and dichloromethane. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **51**(2), 108-114.

- Trush, M.A., Mimnaugh, E.G. and Gram, T.E. (1982): Activation of pharmacologic agents to radical intermediates. Implications for the role of free radicals in drug action and toxicity. *Biochem. Pharmacol.*, **31**(21), 3335-3346.
- Vidrio, H., Magos, G.A. and Lorenzana-Jimenez, M. (1986): Electrocardio-graphic effects of toluene in the anesthetized rat. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **279**(1), 121-129.
- Zee-Cheng, C.S., Mueller, C.E. and Gibbs, H.R. (1985): Toluene sniffing and severe sinus bradycardia. *Ann. Intern. Med.*, **103**(3), 482.
- 윤종국 (1988): 흰쥐에 CCl₄ 투여에 의한 간손상시 actinomycin D 및 prednisolone이 혈청 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향. 연구논집(계명대학교 기초과학연구소), **7**(1), 193-123.