

연 폭로 근로자들의 지질과산화 및 항산화상태에 관한 연구

이원진¹, 황천현¹, 김청식¹, 장성훈¹, 김양호², 김해준³

건국대학교 의과대학 예방의학교실¹ 한국산업안전공단 산업보건연구원²

고려대학교 의과대학 예방의학교실³

= Abstract =

LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANTS IN WORKERS EXPOSED TO LEAD

Won-Jin Lee¹, Cheon-Hyun Hwang¹, Cheong-Sik Kim¹,
Soung-Hoon Chang¹, Yangho Kim², Hae-Joon Kim³

Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Kon-Kuk University¹

Industrial Health Research Institute, Korea Industrial Safety Corporation(KISCO)²

Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Korea University³

This study was started to find out if plasma malondialdehyde(MDA), α -tocopherol and erythrocyte superoxide dismutase(SOD) activity could be markers of biological activity resulting from exposed to lead in workers. Blood samples were randomly obtained from lead-exposed workers(n=29), CO₂ welders(n=60) and office workers(n=60). We used whole blood to analyse blood lead with atomic absorption spectrophotometer. Superoxide dismutase activity in erythrocyte was measured with spectrophotometer. MDA and α -tocopherol in plasma were measured with high performance liquid chromatography.

Lead-exposed workers was significantly high in blood lead concentration(29.37 μ g/dl) compared with welders(6.42 μ g/dl) and office workers(5.01 μ g/dl). The level of plasma MDA was significantly higher in the lead-exposed workers(1.87 μ mol/g cholesterol) than the welders(1.41 μ mol/g cholesterol) and office workers(1.41 μ mol/g cholesterol). Erythrocyte SOD activity in lead-exposed workers(56.80 U/g Hb) was significantly increased than those of welders(37.63 U/g Hb) and office workers(20.47 U/g Hb). The plasma α -tocopherol level of lead-exposed workers(4.93 μ g/g cholesterol) was

* 본 연구는 1997년도 교육부 학술연구조성비(기초의학)에 의하여 연구되었음.

statistically different from welders(4.25 $\mu\text{g/g}$ cholesterol) and office workers(4.28 $\mu\text{g/g}$ cholesterol). Neither age nor smoking was related to SOD or MDA level. Blood lead was significantly correlated with erythrocyte SOD activity($r=0.405$), plasma MDA($r=0.296$) and α -tocopherol($r=0.207$). Plasma MDA was also significantly correlated with SOD ($r=0.217$). In multiple regression analysis, the change of MDA and SOD activity level related to the blood lead concentration.

These results suggested that the increase of plasma MDA and erythrocyte SOD activity in lead-exposed workers had a close relationship with the oxidative stress induced by lead.

Key words : Blood lead, MDA, SOD, α -tocopherol

I. 서 론

작업장 근로자들은 중금속, 유기용제, 방사선, 소음, 분진 등 많은 유해인자에 폭로된 상태에서 근무하고 있으나 이들 각종 유해물질들이 어떤 기전에 의해 신체에 독작용을 나타내고 있는지에 대해 정확히 알려지지 않고 있는 실정이다. 그런데 최근 연구에 의하면 산업장에서 많이 사용되고 있는 중금속 및 유기용제가 인체에 흡수되어 반응성 산소기(reactive oxygen species)를 생성함으로써 지질의 과산화, DNA 및 단백질 손상 등의 독작용을 일으켜 각종 질환을 유발시키는 것으로 보고되고 있다. 산업장에서 흔히 사용되는 톨루엔의 경우도 반응성 산소기를 생성시켜 신경독성을 촉진시킨다고 알려져 있으며(Hayes, 1994) 최근에는 요중 마뇨산과 지질과산화물과의 상관성이 보고되기도 하였다(이원진과 장성훈, 1997).

또한 우리나라에서 가장 흔하게 발생하는 중금속 중독의 원인 물질이며, 일반 주민들에게도 대기오염 물질의 하나로서 많이 폭로되고 있는 연의 독성기전에도 반응성 산소기가 관여한다고 보고되고 있다. Donaldson과 Knowles(1993)는 연이 oxidative stress를 통해 지방산 구성을 변화시킨다고 보고한 바 있다. Ramstoeck 등(1980)은 쥐에게 연을 복용시킨 후 지질과산화의 지표로서 ethane 발생을 측정하였으며, 이 동물에게서 비타민 E가 지질과산화를 억제한다고 보

고한 바 있다. 그 외 Gerber 등(1978), Rehman(1984), Ali와 Bondy(1989)는 쥐를 통한 동물실험에서 연 복용으로 인해 뇌의 지질과산화가 촉진됨을 보고하였다. 다른 중금속들로서 카드뮴(Jamall과 Smith, 1985; Husain 등, 1987; 김성무와 정규철, 1990; Stohs & Bagchi, 1995), 철(Minotti와 Aust, 1987; Bacon과 Brotton, 1990; Toyokuni, 1996), 망간(Donaldson 등, 1982; Goyer 등, 1995), 수은(Bano와 Hasan, 1989; Lund 등, 1991), 니켈(Stinson 등, 1992; Huang 등, 1993), 크롬(Shi와 Dalal, 1991; Sugiyama, 1992)등의 독성작용이 반응성 산소기 생성에 의한 oxidative stress 기전에 의한다는 것이 많은 실험실적 연구들을 통해 보고되고 있다.

그러나 이러한 지질과산화 및 항산화제에 관한 연구가 근로자 집단을 대상으로 한 산업의학적 연구에 적용된 경우는 국내외적으로 많지 않다. 외국에서는 Nadif 등(1996a)이 탄광부들을, Sugawara 등(1991)과 Jiun과 Hsien(1994)는 연 폭로 근로자들을, Kamal 등(1989)이 석면 분진 및 규소에 폭로된 근로자들을 대상으로 한 연구들이 있었으며 이들은 주로 oxidative stress의 지표로서 혈중 malondialdehyde(이하 MDA) 농도와 superoxide dismutase(이하 SOD) 활성도 등을 직업적 폭로정도와 비교하였다. 국내의 연구들로는 dimethylformamide(DMF) 폭로 근로자들에서 lipid peroxide 함량과 SOD의 활성도를 측정하 연구(김기웅

과 문영한, 1995)와 크롬 폭로 근로자에서 DNA 부가체의 하나인 8-hydroxydeoxyguanosine이 증가되었음을 보고한 연구(한상환 등, 1995)가 있다.

따라서 본 조사는 중금속으로 인한 직업성 질환중 가장 흔한 것으로 보고되고 있는(노동부, 1997) 연의 독성평가에서 유리산소기 생성능을 연구하고자 시도하였다. 즉, 연 폭로에 의해 생성된 반응성 산소기가 인체에 독작용을 나타낼 것이라는 가설을 설정하고 이를 검증하기 위하여 oxidative stress의 생체 영향 평가를 위한 생물학적 지표로서, 지질과산화의 산물인 혈장내 MDA와 항산화제로 작용하는 것으로 알려진 혈장중 α -tocopherol과 적혈구내 SOD의 활성도를 측정 비교하였다.

II. 연구 대상 및 방법

1. 연구 대상 및 기간

폭로군으로서 배터리 제조 연 취급 근로자와 연 도금 근로자를 선정하였으며, 비폭로군으로는 일반 생산직 대조군으로 CO₂ 아크용접을 하는 근로자와 특별한 유해요인에 노출되지 않고 있는 사무직 근로자를 선정하였다. 연구대상자들은 모두 남성이었으며 이들 중 면접 설문조사에 의해 간장질환, 당뇨, 고혈압 등의 병력이 있거나 현재 상기 질환등으로 인해 치료약 또는 항생제, 비타민제 복용자들을 제외한 폭로군 29명과 일반 생산직 근로자 60명, 사무직 근로자 60명을 최종 연구 대상으로 선정하였다. 연구기간은 1997년 10월부터 1998년 2월 까지 시행하였다.

2. 연구 내용 및 방법

1) 면접 설문 조사

연령 및 직업력을 비롯하여 분석 물질에 영향을 줄 수 있는 간장질환, 신장질환, 심장질환, 당뇨, 관절염, 화상 등의 질병력과 항생제, 비타민제, 한약 등 약 복용력, 그리고 음주 및 흡연에 대한 사항을 면접조사하

였다.

2) 혈액채취

조사 당일 작업중인 근로자 149명으로 부터 혈액 5 ml씩을 채취하였다. 채취한 혈액은 헤파린이 들어있는 진공튜브에 넣었으며 당일에 전혈 1 ml를 중금속 분석을 위해 분리하였다. 그리고 3,000 g로 5분간 원심 분리한 뒤 혈장과 적혈구를 각각 분리하여 분석시까지 -70℃에 보관하였다. 적혈구 SOD 활성도는 채취일로부터 2일 이내에 측정하였으며, 그 외의 분석은 3주 이내에 실시하였다.

3) 혈액내 각 물질 분석

(1) 혈중 연 분석

① 변형제(matrix modifier) 용액을 제조하기 위해서 TritonX-100 2 ml, (NH₄)HPO₄ 2g을 탈이온수를 가하여 1 l를 만들었다. ② 혈액 0.1 ml와 농도별 표준 용액 0.1 ml을 변형제 용액에 가한 표준첨가제(addition standard), 공시료(blank), 시료(sample)를 전기로(graphite furnace)가 부착된 원자흡광광도계(Varian spectrAA · 800 GTA-100)에 10 μ l씩 자동주입시켰다. ③ 검량선 방법은 표준물첨가법(standard addition)방법을 이용하여 농도를 산출하였다. ④ 전기로의 온도 프로그램은 주입된 혈액의 손실이 없도록 하고, 연 성분의 기화는 막고 타방해물질은 완전기화되도록 단계별 적정 회화온도에서 가열하도록 맞추었다(Varian, 1988).

(2) 혈장중 MDA 분석

혈장중 MDA 분석은 다음과 같이 Chirico(1994)의 방법에 의하였다. ① 혈장 0.25 ml를 0.2% BHT(butylated hydroxytoluene) 25 μ l에 섞은 후 0.44 mol H₃PO₄ 1.5 ml를 넣었다. ② 실온에서 10분간 보관한 후 0.6% TBA(thiobarbituric acid) 0.5 ml를 넣고 90℃ 수조에서 45분간 반응시켰다. ③ 시료를 얼음물로 냉각시키고 주사기투과막(PTFE, 0.45 μ m)를 통과시킨 후 20 μ l를 HPLC에 주입하여 분석하였다. ④ 고속액체

크로마토그래피(HPLC, Shimadzu LC-10AD pump, SPD-10AV UV-VIS detector, SIL-10A_{XL} auto injector)의 분석조건은 컬럼: C18(id 3.9×300 mm stainless steel, Waters), 이동상: 50 mM KH₂PO₄-KOH, pH: 7.0/methanol(65:35, v/v), 유속: 1.0 ml/min, 검출기: UV 532 nm로 하였다. 결과는 MDA가 지질의 양에 영향을 받는 것을 보정하기 위하여 효소법으로 측정된 혈장중 콜레스테롤 값으로 나누어 표시하였다.

(3) 혈장중 α -tocopherol 분석

혈장중 α -tocopherol 분석은 Bui(1994)가 실시한 방법에 준하여 분석하였다. ① 진공튜브에 100 μ l tocopheryl acetate internal standard(50 μ g/ml)와 혈장 200 μ l를 넣고 10초간 교반시켰다. ② 여기에 hexane 400 μ l를 넣고 1분간 세계 교반시켰다. ③ 1500 rpm에서 5분간 원심분리를 하였다. ④ Hexane 상층을 분취한 뒤 하층을 다시 hexane으로 재추출하여 진공튜브에 합하였다. ⑤ 증발시켜 건조하게된 시료에 25 μ l diethyl ether 와 75 μ l methanol을 넣어 잘 용해시킨 후 HPLC에 10 μ l를 주입하였다. 사용하는 고속액체크로마토그래피(HPLC; Shimadzu LC-10AD pump, SPD-10AV UV-VIS detector, SIL-10A_{XL} Auto Injector)의 분석조건은 컬럼; μ Bondapak C18 (id 3.9×300 mm stainless steel, Waters), 이동상; methanol: DW = 95:5 (v/v), 유속; 2.5 ml/min, 컬럼오븐(CTO-10A); 40 $^{\circ}$ C, 검출기; 292 nm, 시료냉각기; 4 $^{\circ}$ C로 하였고, 증발장치(Model; RapidVap Evaporation system, Labconco)의 조건은 온도; 60 $^{\circ}$ C, 교반속도; 20 rpm, 가동시간; 25min, 진공압력; 10 inch Hg으로 하였다. 이때 α -tocopherol의 결과값은 혈장내 총지질 농도에 영향을 받을 수 있으므로(Combs, 1992) 위에서 구한 콜레스테롤 값으로 보정한 후 표현하였다.

(4) 적혈구내 SOD 활성도 측정

적혈구내 SOD 활성도는 Sun 등(1988)이 실시한 방법에 의하여 측정하였다. ① 적혈구 0.1 ml에 4 $^{\circ}$ C 증류수 0.9 ml를 가해 용혈시켰다. ② chloroform 0.3 ml와 ethanol 0.5 ml를 넣은 후 1분간 교반시켜 헤모글로

빈을 제거하였다. ③ 위 용액을 5,000 g로 20분간 원심분리하여 상층액을 분리한 후 25배 희석하여 0.05 ml를 효소 활성도 검사의 시료로 사용하였다. ④ pH 10.2로 맞춘 2.45 ml SOD 용액(xanthine 0.1 mmol/l, EDTA 0.1 mmol/l, bovine serum albumin 50 mg/l, nitroblue tetrazolium solution(NBT) 25 μ mol/l, xanthine oxidase 9.9 nmol/l, Na₂CO₃ 40 mmol/l)에 검사 시료 0.5 ml를 넣고 25 $^{\circ}$ C 수조에서 30분간 놓아 두었다. ⑤ 30분 후에 xanthine oxidase 50 μ l를 넣고 20분간 반응시켰다. ⑥ 20분 후에 CuCl₂ 0.8 mmol/l를 1 ml 첨가함으로써 반응을 정지시켰다. ⑦ 생성된 반응물을 분광광도계를 이용하여 560 nm에서 흡광도를 산출하였다. 표준물질은 human erythrocyte SOD (cat. no. S-9636; Sigma)를 사용하였으며 단위는 NBT의 환원 속도를 50% 억제시키는 때의 효소의 양을 1 unit로 하였다. 결과는 시안메트헤모글로빈법으로 측정된 혈액의 헤모글로빈당 효소의 unit로 나타내었다.

3. 연구 결과의 분석

자료의 분석은 SAS(version 6.12)를 사용하였으며 각 측정값들이 정규분포를 하고 있지 않아 대수전환(log transformation)하여 평균값을 비교하였다. 각 측정값들간에는 상관계수를 구하였으며, 혈장중 MDA, α -tocopherol 및 적혈구 SOD 활성도를 종속변수로 하고 이들과 유의한 관련성을 보인 변수들을 독립변수로 하여 중회귀분석을 실시하였다. 이때 설명변수의 선택은 단계적 선택방법(stepwise selection)을 사용하였으며, 모든 통계적 검정은 5% 유의수준에서 판정하였다.

III. 연구 결과

1. 조사 대상자들의 일반적 특성

폭로군의 평균연령은 32.60세이며 용접공들은 32.86세, 사무직 근로자들은 32.43세로서 군간 연령차이는

Table 1. General characteristics in lead exposed workers, welders and office workers

| Characteristics | Lead exposed workers(Number=29) | Welders(Number=60) | Office workers(Number=60) |
|-------------------------------|---------------------------------|--------------------|---------------------------|
| Age(years) ⁺ | 32.60(17.88-59.43) | 32.86(21.36-50.56) | 32.43(19.94-52.73) |
| Duration(years) ⁺ | 3.14(0.49-20.13) | 4.19(1.32-13.34) | 5.92(1.31-26.80)* |
| SMOKING ⁺⁺ | | | |
| Smoker | 18(62.07%) | 36(60.00%) | 34(56.67%) |
| Non-smoker | 8(27.59%) | 16(26.67%) | 23(38.33%) |
| Ex-smoker | 3(10.34%) | 8(13.33%) | 3(5.00%) |
| ALCOHOL(intake) ⁺⁺ | | | |
| less than 1/wk | 21(72.41%) | 31(51.67%) | 35(58.33%) |
| more than 1/wk | 8(27.59%) | 29(48.33%) | 25(41.64%) |

⁺ Values are geometric mean(95% of distribution)

⁺⁺ Number(%)

* P < 0.01 by ANOVA

Table 2. Blood lead, Plasma MDA, α -tocopherol and erythrocyte SOD activity

| Characteristics | Lead exposed workers(Number=29) | Welders(Number=60) | Office workers(Number=60) |
|--|---------------------------------|--------------------|---------------------------|
| Blood Lead($\mu\text{g}/\text{dL}$) | 29.37(10.72-80.43)** | 6.42(2.11-19.51) | 5.10(1.23-21.04) |
| Plasma MDA($\mu\text{mol}/\text{g}$ cholesterol) | 1.87(1.30-2.68)** | 1.41(0.79-2.55) | 1.41(1.04-1.88) |
| Plasma α -tocopherol($\mu\text{g}/\text{g}$ cholesterol) | 4.93(2.94-8.26)* | 4.25(2.80-6.46) | 4.28(2.55-7.20) |
| SOD activity(U/g Hb) | 56.80(37.02-87.13)** | 37.63(23.66-59.82) | 20.47(8.44-49.62) |

Values are geometric mean(95% of distribution)

* P < 0.05, ** P < 0.01 by ANOVA

매우 적었다. 근무년수는 연 폭로자가 3.14년, 용접공이 4.19년, 사무직 근로자가 5.92년으로 대조군의 근무경력이 폭로군보다 상대적으로 길었다. 흡연 상태는 연 폭로자에서 흡연자가 62.07%, 비흡연자가 27.59%, 과거흡연자가 10.34%로서 용접공의 60.00%, 26.67%, 13.33% 과 사무직 근로자의 56.67%, 38.33%, 5.00%보다 흡연자 비율이 약간 높았으나 유의한 차이는 없었다. 음주양상도 연 폭로자에서 주당 1회이상 음주자가 27.59%, 1회 미만인 72.41%로서 용접공의 48.33%, 51.67%, 사무직 근로자의 41.64%, 58.33%보다 낮았으나 유의한 차이는 없었다(표 1).

2. 혈중 연, 혈장중 MDA, α -tocopherol 및 적혈구 SOD 활성도

혈중 연의 평균농도는 연 폭로자 근로자에서 29.37 $\mu\text{g}/\text{dL}$, 용접공에서 6.42 $\mu\text{g}/\text{dL}$, 사무직 근로자에서

5.10 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 로서 폭로군에서 유의하게 높았다. oxidative stress의 생물학적 지표들로서 혈장중 MDA는 연 폭로 근로자에서 1.87 $\mu\text{mol}/\text{g}$ cholesterol로서 용접공의 1.41 $\mu\text{mol}/\text{g}$ cholesterol, 사무직 근로자의 1.41 $\mu\text{mol}/\text{g}$ cholesterol 보다 유의하게 증가되어 있었으며, 적혈구 SOD 활성도도 연 폭로 근로자에서 56.80 U/g Hb로서 용접공의 37.63 U/g Hb, 사무직 근로자의 20.47 U/g Hb보다 유의하게 증가되어 있었다. 한편 혈장중 α -tocopherol 농도는 연 폭로 근로자에서 4.93 $\mu\text{g}/\text{g}$ cholesterol로서, 용접공의 4.25 $\mu\text{g}/\text{g}$ cholesterol과 사무직 근로자의 4.28 $\mu\text{g}/\text{g}$ cholesterol 보다 다소 높았다(표 2).

3. 혈장중 MDA, α -tocopherol, 적혈구 SOD 활성도, 연령 및 혈중 연 농도간의 상관관계

표 3은 조사대상자 149명에서 각 변수간의 상관관계를 살펴본 결과이다. 혈중 연은 혈장중 MDA와

Table 3. Correlation matrix of plasma MDA, α -tocopherol, erythrocyte SOD activity, age, duration of work and blood lead concentration.

| Variables | MDA | SOD | α -tocopherol | Age |
|--|---------|---------|----------------------|---------|
| Lead(μ g/dl) | 0.296** | 0.405** | 0.207* | -0.006 |
| MDA(μ mol/g cholesterol) | | 0.217** | 0.174* | -0.060 |
| SOD(U/g Hb) | | | 0.137 | 0.067 |
| α -tocopherol(μ g/g cholesterol) | | | | 0.305** |

Values are log-transformed

* P < 0.05, ** P < 0.01 by Pearson correlation

0.296, 적혈구 SOD 활성도와 0.405, 혈장중 α -tocopherol과는 0.207의 유의한 순 상관관계를 나타내었으며 연령과는 상관성이 적었다. 적혈구 SOD 활성도는 혈장중 MDA와 0.217의 유의한 순 상관성을 보였다. 또한 혈장중 α -tocopherol은 연령과 0.305의 유의한 상관성을 나타내었다.

4. 혈장 MDA, α -tocopherol 및 적혈구 SOD 활성도에 영향을 미치는 요인

혈장중 MDA, α -tocopherol 및 적혈구 SOD 활성도에 영향을 미치는 변수들의 영향을 살펴보기 위하여 표 3에서 유의한 상관성을 보인 변수들로 단계별 중회귀분석을 하였다. 적혈구 SOD(U/g Hb) 활성도는 혈중 연 변수와 유의한 연관성이 있었고 이들 변수들로서 15.96%의 설명력을 가졌다. 그리고 MDA(μ mol/g cholesterol)는 혈중 연 농도로서 단지 7.80%의 설명력을 가졌으며, α -tocopherol 값은 연령과 혈중 연의 변수로서 13.78%를 설명할 수 있었다(표 4).

IV. 고 찰

본 조사는 연 폭로가 근로자들에게 oxidative stress를 유발시켜 체내 지질과산화와 항산화상태에 영향을 주는지를 알아보기 위하여, 혈장중 MDA와 α -tocopherol 그리고 적혈구내 SOD의 활성도를 측정하는 것이

Table 4. Stepwise multiple regression of oxidative biomarkers with selected variables

| Variables | Dependant | Independent | Step | Regression coefficient | Standard error | P value | R-square |
|---|------------|-------------|------|------------------------|----------------|---------|----------|
| log MDA (μ mol/g cholesterol) | Blood Lead | | 1 | 0.0705 | 0.0226 | 0.0006 | 0.0780 |
| log SOD (U/g Hb) | Blood Lead | | 1 | 0.2322 | 0.0442 | 0.0001 | 0.1596 |
| log α -tocopherol (μ g/g cholesterol) | Age | | 1 | 0.3150 | 0.0781 | 0.0001 | 0.0944 |
| | Blood Lead | | 2 | 0.0468 | 0.0222 | 0.0366 | 0.1378 |

다. Oxidative stress란 생체내에서 반응성 산소기의 발생으로 산화제와 항산화제간의 균형이 산화제쪽으로 깨진 상태를 의미하는데(Sie, 1991) 이러한 생체 영향을 수량화시키기 위한 방법들은 여러 종류가 있다. 그러나 free radical 반응은 생체에서 매우 짧은 시간내에 일어났다가 사라지므로 현재로서는 라디칼 자체를 직접 측정하기 보다는 oxidative stress에 의해 유발된 생물학적 지표들(biological markers)을 분석하고 있다. 특히 이중에서도 지질과산화물의 하나인 MDA를 가장 많이 사용하고 있다(Draper와 Hadley, 1990; Ji 등, 1992; Shara 등, 1992; Alessio, 1993; Kanter 등, 1993). 그러나 분광광도계에 의한 전통적인 MDA 측정법은 비특이적이라는 단점이 있어 요즘은 HPLC법에 의해 특이도를 높이고 있어(Draper, 1990; Chirico, 1994), 본 실험에서도 Chirico의 HPLC법으로 혈장중 MDA를 측정하였다. 측정결과는 MDA가 지질과산화물이므로 혈장중 지질량이 많은 사람에게서 MDA값이 높게 나올 편견을 보정하기 위해서 총 콜레스테롤로 나누어 표시하였다. 그의 thymine glycol(Frenkel 등, 1981), 5-hydroxymethyluracil(Teebor, 1982), 8-hydroxyguanine(Dizdaroğlu 등, 1985)을 측정함으로써 반응성 산소기에 의한 DNA의 손상을 간접적으로 증명하기도 하며, 증가된 carbonyl기를 측정함으로써 혈장 단백질의 손상을 증명하기도 한다(Reznick 등, 1992).

한편 oxidative stress와 관련되어 생체내에서 항산화 작용을 하는 물질들에 대한 측정이 함께 이루어지

기도 하는데, 항산화물질들로는 효소계통으로서 SOD, GSH peroxidase, catalase, NADPH-quinone oxidoreductase, epoxide hydrolase, conjugation enzymes, GSSG reductase 등이 있고, 비효소 물질들로서 α -tocopherol, ascorbate, glutathione, flavonoids, β -carotene, urate, plasma proteins 등이 있다(Sie, 1991). 이들중 SOD는 superoxide anion($O_2^{\cdot -}$) 수소원자(H^+)와 반응시켜 과산화수소(H_2O_2)와 산소분자(O_2)로 만드는 작용을 통해 항산화작용을 하는데, 그 작용의 중요성으로 인해 oxidative stress에 대한 지표로서 현재까지 가장 많이 측정되고 있는 물질중의 하나이다. SOD 활성도의 분석은 기존에 Misra(1972)의 방법을 많이 사용하고 있었으나 시간이 오래 걸리는 단점이 있어, 본 실험에서는 1988년 보고된 Sun 등의 방법을 채택하였다. 이 방법은 빠르고 민감성이 높아 임상에서 검사하기가 용이하다. SOD의 활성도는 적혈구내에서 측정한 것이므로 혈액중 헤모글로빈으로 나누어 결과를 표시하였다. 그리고 α -tocopherol은 비타민 E의 가장 활동적인 형태로서 지질과산화물을 막는 작용을 한다. 즉 형성된 지질과산화물의 라디칼과 반응하여 자신이 산화되면서 라디칼을 무력화시키는 것으로 알려졌다(Combs, 1992). 이처럼 α -tocopherol은 항산화물질로서 중요한 기능을 담당하여 free radical에 대한 제거물질로 잘 알려져 있으며, 어떤 개체의 항산화 능력(antioxidant capacity)를 평가하는 지표로서 SOD와 함께 흔히 사용된다(Singh 등, 1995; Buiatti 등, 1996). 따라서 α -tocopherol 분석은 Bui(1994)의 방법에 준하여 실시하였으며 결과는 혈장중 총 콜레스테롤량으로 나누어서 표시하였다.

조사결과 연 폭로군에서 혈장중 MDA와 적혈구 SOD 활성도가 유의하게 증가되어 있었다(표 2). 혈장중 MDA의 결과는 작업장내 유해요인에 폭로되었을 때 나타나는 여러 연구결과들과 일치하는 소견으로서 Ito 등(1985)은 연 폭로 증가에 따라 혈청중 MDA가 4.1 nmol/ml에서 7.3 nmol/ml로 점차 증가하는 것으로 보고하였으며, Kamal 등(1989)은 석면분진 및 실리카에 폭로된 근로자들의 혈장중 MDA가 12.09 nmol/ml

로서 정상인의 9.60 nmol/ml에 비해 유의하게 높다는 것을 보고하면서 작업장의 분진 폭로가 지질과산화를 촉진한다고 하였다. 또한 Jiun 과 Hsien(1994)도 혈중 연이 40 μ g/dl 이상인 근로자군에서 혈장중 MDA가 2.38 μ mol/l로서, 혈중 연이 35 μ g/dl이하인 근로자군의 1.02 μ mol/l에 비해 유의하게 증가되었음을 보고하면서 고농도 연에 폭로된 경우 혈장중 MDA가 유의한 생체영향 지표가 될 수 있음을 보고한 바 있다. 한편 혈중 MDA는 SOD와 같은 항산화효소들에 의해 조절되는 것으로 알려져 있다(Demopoulos 등, 1982). Nadif 등(1996a)의 결과에 의하면 탄광부들에 있어서 적혈구내 SOD 활성도가 182.21 U/g Hb으로 대조군의 157.00 U/g Hb보다 매우 유의하게 증가되었음을 보고하였다. 수은 폭로자를 대상으로한 또 다른 연구(Nadif 등, 1996b)에서는 소변중 수은량이 50 μ g/g creatinine 이상인 군에서 281.81 U/g Hb으로, 25 μ g/g creatinine 이하인 군의 208.32 U/g Hb보다 유의하게 높았음을 보고하면서 이들 유해물질들이 oxidative stress를 촉진시킨다고 설명하였다. 또한 Kamal 등(1992)의 연구에서는 석면폭로자의 SOD 활성도가 1.06 unit/ml로서 대조군의 0.76 unit/ml보다 유의하게 증가됨을 보고한 바 있다. 본 조사에서도 연 폭로 근로자들의 적혈구 SOD 활성도가 56.80 U/g Hb으로 용접공의 37.63 U/g Hb, 사무직 근로자의 20.47 U/g Hb보다 유의하게 증가되었으며(표 2), 이는 연 폭로가 산화제로 작용해 SOD 활성도를 자극시킨 결과라고 판단된다. 또한 적혈구 SOD 활성도와 혈중 연과의 상관성이 0.405로 매우 유의하게 나타나(표 3), 향후 연 폭로 지표로서의 적혈구 SOD 활성도를 연구할 필요가 있다고 판단되었다. 그리고 본 조사에서 혈장중 MDA와 적혈구내 SOD 활성도가 0.217의 유의한 순 상관관계를 보여주었다. 이러한 결과는 석면 폭로자에서 혈장중 MDA가 혈액중 SOD 활성도와 0.321의 유의한 상관성을 갖는 것으로 보고한 바 있는 Kamal 등(1992)의 연구결과와 용접공을 대상으로 조사한 두 지표간에 0.270의 상관관계를 보고한 이원진(1998)의 결과와 일치하는 것이다.

중금속 폭로와 지질과산화의 관계는 많은 동물실험을 통해서 연구된 바가 있으며 근로자들을 대상으로 한 연구로서는 연(Sugawara 등, 1991), 수은(Nadif 등, 1996b) 등과의 순 상관성이 보고된 바 있다. 본 조사에서는 혈중 연과 혈장중 MDA간에 0.296의 유의한 상관성이 관찰되었다(표 3). 다른 연구들과 비교해서 혈중 연과 혈장중 MDA의 관련성이 적은 이유는 각 연구집단의 폭로정도가 다르기 때문인 것으로 생각된다. 실제로 Sugawara 등(1991)의 경우는 조사대상자들의 평균 혈중 연 농도가 57.1 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이었으며, MDA와 혈중 연의 상관성은 0.656이었다. Jiun(1994)은 혈중 연 농도가 35 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이하인 경우는 MDA와의 관련성이 약하며($r=0.361$), MDA를 연 폭로에 의한 지질과산화의 지표로 사용하기 위해서는 혈중 연 농도가 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이상 일때($r=0.879$) 가능하다고 주장한 바 있다.

반면 혈장중 α -tocopherol($\mu\text{g}/\text{g}$ cholesterol)은 세포막의 미세소체와 미토콘드리아에 많이 분포되어 있는 불포화지방산의 과산화과정을 방지함으로써 생체막을 보호하여 세포의 정상적인 기능을 유지시키는 기능을 하는 것으로 알려져 있어(Panganamala과 Cornwell, 1982), 대조군에서 높을 것으로 기대되었다. 실제로 West 등(1994)은 산모의 혈중 연과 vitamin E가 유의한 역 상관을 나타내었음을 보고한 바 있다. 그러나 본 조사에는 연 폭로 근로자에서 비폭로군보다 유의하게 증가된 결과를 보였으며(표 2), 혈중 연과 혈장중 α -tocopherol($\mu\text{g}/\text{g}$ cholesterol)간에 $r=0.207$ 의 유의한 순 상관성을 나타내었다(표 3). 이러한 결과에 대해서는 추후 식품영양 섭취를 고려한 연구조사가 동반되어야 충분한 설명력을 가질 수 있을 것으로 판단된다. 한편 본 조사에서 얻은 혈장중 α -tocopherol의 평균 농도는 $8.11 \pm 2.89 \mu\text{g}/\text{ml}$ (총 콜레스테롤로 보정하기 전 결과)로서 조성희 등(1995)이 50세 남성을 대상으로 보고한 $9.59 \pm 3.11 \mu\text{g}/\text{ml}$ 보다 다소 낮은 값을 나타내었다.

일반적으로 SOD의 경우에는 연령이 증가함에 따라 생물학적 기능 저하로 활성도가 감소되는 것으로 알려져 있으며(Rothstein, 1982), 혈중 MDA는 남자일수

록, 연령이 증가할수록 증가하는 것으로 보고되고 있다(Knight 등, 1987). 그러나 Kamal 등(1989, 1992)의 결과에서는 연령과 혈장중 MDA의 값에 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으며, Halliwell과 Gutteridge(1989)은 흡연시 기관지 점액이 산화제를 폐포에 도달하기 전에 제거하기 때문에 흡연의 영향이 적다고 설명한바 있다.

본 조사에서는 두 군간 연령이 거의 비슷하였으며(표 1), 연령에 따른 MDA, SOD간에도 유의한 상관관계가 없었다(표 3). 또한 세 군간 음주 및 흡연상태의 차이가 크지 않아 연령을 비롯한 이들 변수가 혼란변수로 작용하지 않았을 것으로 판단된다. 본 조사의 제한점으로 첫째는 각 군내 연 이외에 반응성 산소기를 발생시킬 수 있는 다른 유해요인들을 계량화하지 못하였다. 따라서 혈중 연 농도의 변동으로 설명하지 못하는 oxidative stress 지표 값들에 대한 충분한 설명이 부족하였다. 둘째로는 본 연구에서 oxidative stress의 지표로서 현재 가장 대표적으로 사용되고 있는 혈장중 MDA, α -tocopherol 및 적혈구내 SOD 활성도를 분석하였다. 그러나 전술한 바와 같이 지질과산화와 항산화 상태를 나타내는 지표는 이외에도 많은 물질들이 있으며, 이들 물질 모두를 분석하는 것이 가장 이상적이지만 본 연구에서는 세 가지 물질만을 사용하였다. 따라서 8-hydroxyguanine, catalase, GSH-peroxidase, vitamin C, β -carotene, urate 등 다른 물질들에 대한 분석도 함께 이루어지면 보다 총괄적인 oxidative stress를 평가할 수 있을 것으로 판단된다.

V. 결 론

본 연구는 연 폭로가 oxidative stress를 유발시켜 체내 지질과산화와 항산화 상태를 변화시킴으로서, 혈장중 MDA의 생성과 적혈구내 SOD 활성도가 증가되고 혈장중 α -tocopherol의 농도가 감소되는지를 검정하고자 실시하였다. 조사대상자는 모두 남성으로서 바테리 연 제조 근로자 및 연 도금 근로자 29명을 폭로군으로, 용접작업 근로자 60명과 사무직 근로자 60명

을 비폭로군으로 하였으며, 1997년 10월부터 1998년 2월에 걸쳐 실시하였다. 연구내용은 연 폭로 지표로서 혈중 연 농도를 분석하였으며, 체내 oxidative stress를 평가하기 위해서 혈장중 malondialdehyde, α -tocopherol 및 적혈구내 superoxide dismutase 활성도를 측정하였다.

조사결과 연 폭로 근로자의 혈중 연 농도는 29.37 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 로서 용접공의 6.42 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 사무직 근로자의 5.10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 보다 유의하게 증가되어 있었다. 그리고 연 폭로 근로자의 혈장중 MDA 농도는 1.87 $\mu\text{mol}/\text{g}$ cholesterol로서 용접공의 1.41 $\mu\text{mol}/\text{g}$ cholesterol, 사무직 근로자의 1.41 $\mu\text{mol}/\text{g}$ cholesterol보다 유의하게 증가되어 있었으며, 적혈구 SOD 활성도도 연 폭로 근로자에서 56.80 U/g Hb로서 용접공의 37.63 U/g Hb, 사무직 근로자의 20.47 U/g Hb보다 유의하게 증가되어 있었다. 한편 혈장중 α -tocopherol 농도는 연 폭로 근로자에서 4.93 $\mu\text{g}/\text{g}$ cholesterol로서, 용접공에서의 4.25 $\mu\text{g}/\text{g}$ cholesterol과 사무직 근로자에서의 4.28 $\mu\text{g}/\text{g}$ cholesterol 보다 다소 높았다.

그리고 단계별 회귀분석 결과 혈장중 MDA 농도는 혈중 연 농도로 7.80%, 적혈구내 SOD 활성도는 혈중 연 농도로 15.96%의 설명력을 그리고 혈장중 α -tocopherol 농도는 연령과 혈중 연 농도로 13.78%의 설명력을 나타내었다. 또한 혈중 연은 혈장중 MDA 농도와 0.296($p < 0.01$), 적혈구내 SOD 활성도와는 0.405($p < 0.01$), 그리고 혈장중 MDA와 적혈구 SOD 활성도 간에는 0.217($p < 0.01$)의 유의한 상관관계를 나타내었다. 따라서 연 폭로가 근로자들에서 부분적으로 oxidative stress를 유발시켜 혈장중 MDA 농도와 적혈구 SOD 활성도를 증가시켰다고 판단된다.

참고문헌

김기웅, 문영한. 유기용제 폭로 근로자들의 혈중 과산화지질 농도 및 제거효소 활성도에 관한 연구. 한국산업안전공단 연구자료 95-5-22, 1995
 김성무, 정규철. 시험관내 및 생체내로 투여한 카드뮴이 랫트의 간, 신 및 고환조직내의 Superoxide

Radical, Superoxide Dismutase, Catalase 및 ATPase 활성도에 미치는 영향. 예방의학회지 1990;23(4) : 371-390
 노동부. 노동통계연감. 성진문예사. 서울 1997
 이원진, 장성훈. 톨루엔 폭로 근로자들의 lipid peroxidation에 관한 연구. 한국노화학회지 1997;7(2) : 11-16
 이원진. 아크용접공에서의 Oxidative stress에 관한 연구. 고대대학원 박사학위 논문 1998
 조성희, 이옥주, 임정교, 최영선, 유리나, 박의현. 대구 지역 중년 남성의 혈중 항산화성 영양소와 지질 상태에 관한 연구. 한국영양학회지 1995;28(1) : 33-45
 한상환, 조수현, 김현, 하미나, 주영수, 박수민, 권호장, 김용대, 정명희. 크롬 폭로가 자매염색분체 교환 빈도 및 8-hydroxydeoxyguanosine 농도에 미치는 영향. 예방의학회지 1995;28(2) : 511-525
 Allessio HM. Exercise-induced oxidative stress. Med Sci Sports Exer. 1993;25 : 218-224
 Ali SF, Bondy SC. Triethyllead-induced peroxidation damage in various regions of the rat brain. J Toxicol Environ Health 1989;26 : 235-242
 Bacon BR, Britton RS. The pathology of hepatic iron overload : A free radical-mediated process? Hepatology 1990;11 : 127-137
 Bano Y, Hasan M. Mercury induced time-dependent alterations in lipid profiles and lipid peroxidation in different body organs of cat-fish *Heteropneustes fossilis*. J Environ Sci Health B 1989;24 : 145-166
 Bui MH. Simple determination of retinol, α -tocopherol and carotenoids(lutein, all-trans-lycopene, α -and β -carotenes) in human plasma by isocratic liquid chromatography. J of Chromatography B 1994;654 : 129-133
 Buiatti E, Munoz N, Kato I, Vivas J, Muggli R, Plummer M, Benz M, Franceschi S, Oliver W. Determinants of plasma anti-oxidant vitamin levels in a population at high risk for stomach cancer. Int J Cancer 1996;65 : 317-322
 Chirico S. High-performance liquid chromatography-based thiobarbituric acid tests : Methods in Enzymology 1994;233 : 314-318
 Combs GF. The vitamins-fundamental aspects in nutrition and health. London, Academic press, 1992, pp.179-204

- Demopoulos HB, Flamm E, Seligman M, Pietronigro DD. Oxygen free radicals in central nervous ischemia and trauma. In: Pathology of oxygen. Academic Press. New York, 1982, pp 127-155
- Dizdaroglu M. Formation of an 8-hydroxyguanine moiety in deoxyribonucleic acid on gamma-irradiation in aqueous solution. *Biochemistry* 1985;24: 4476-4481
- Donaldson J, McGreogan D, LaBella FS. Manganese neurotoxicity: A model for free radical-mediated neurodegeneration. *Can J Pharmacol* 1982;60: 1398-1406
- Donaldson WE, Knowles SO. Is lead toxicosis a reflection of altered fatty acid composition of membranes? *Comp Biochem Physiol* 1993;104C: 377-379
- Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* 1990;186: 421-431
- Frenkel K, Goldstein MS, Teebor GW. Identification of the cis-thymine glycol moiety in chemically oxidized and gamma-irradiated deoxyribonucleic acid by high-pressure liquid chromatography analysis. *Biochemistry* 1981;20: 7566-7571
- Gerber GM, Maes J, Gilliavod N, Casale G. Brain biochemistry of infant mice and rats exposed to lead. *Toxicol Lett* 1978;2: 51-63
- Goyer RA, Klaassen CD, Waalkes MP. *Metal toxicology*. London, Academic press, 1995, pp. 222
- Hayes AW. *Principles and Methods of Toxicology* 3rd ed. New York, Raven Press, 1994, pp. 381-383
- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in Biology and Medicine*. England, Clarendon Press, 1989, pp. 299-354
- Huang X, Frenkel K, Klein CB, Costa M. Nickel induces increased oxidants in intact cultured mammalian cells as detected by dichlorofluorescein fluorescence. *Toxicol Appl Pharmacol* 1993;120: 29-36
- Hussain T, Shukla GS, Chandra SV. Effects of cadmium on superoxide dismutase and lipid peroxidation in liver and kidney of growing rats: In vivo and in vitro studies. *Pharmacol Toxicol* 1987;60: 355-358
- Ito Y, Niiya Y, Kurita H, Shima S, Sarai S. Serum lipid peroxide level and blood superoxide dismutase activity in workers with occupational exposure to lead. *Int Arch Occup Environ Health* 1985;56:119-127
- Jamall IS, Smith JC. Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and lipid peroxidation in the rat heart; A possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985;80: 33-42
- Ji LL, Fu RG, Mitchell E. Glutathione and antioxidant enzyme in skeletal muscle: Effect of fiber type and exercise intensity. *J Appl Physiol* 1992;73: 1854-1859
- Jiun YS, Hsien LT. Lipid peroxidation in workers exposed to lead. *Arch Environ Health* 1994;49(4): 256-259
- Kamal A-AM, Gomaa A, Elkhafif M, Mammad S. Plasma lipid peroxides among workers exposed to silica or asbestos dusts. *Environ Res* 1989;49: 173-180
- Kamal A-AM, Elkhafif M, Koraah S, Massoud A, Cailard JF. Blood superoxide dismutase and plasma malondialdehyde among workers exposed to asbestos. *Am J Ind Med* 1992;21: 353-361
- Kanter MM, Nolte LA, Holloszy JO. Effect of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *J Appl Physiol* 1993;74: 965-969
- Knight JA, Smith SE, Kinder VE, Anstall HB. Reference intervals for plasma lipoperoxides: Age-, Sex-, and Specimen-Related Variations. *Clin Chem* 1987;33(12);2289-2291
- Lund BO, Miller DM, Woods JS. Mercury-induced H_2O_2 production and oxidative lipid peroxidation in vitro in rat kidney mitochondria. *Biochem Pharmacol* 1991;42: S181-S187
- Minottie G, Aust SD. The role of iron in the initiation of lipid peroxidation. *Chem Phys Lipids* 1987;44: 191-208
- Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972;247(10): 3170-3175
- Nadif RP, Auburtin G, Dusch M, Porcher JM, Mur JM. Blood antioxidant enzymes as markers of exposure or effect in coal miners. *Occup En-*

- viron Med 1996a;53 : 41-45
- Nadif RP, Koch C, Schmitt P, Mur JM. Catalase and superoxide dismutase activities as biomarkers of oxidative stress in workers exposed to mercury vapors. *J Tox & Environ Health* 1996b;48 : 107-119
- Panganamla RV and Cornwell DG. The effect of vitamin E on arachidonic acid metabolism. *Ann NY Acad Sci* 1982;393:376-393
- Ramstoeck ER, Hoekstra WG, Ganther HE. Trialkyllead metabolism and lipid peroxidation in vivo in vitamin E and selenium-deficient rats as measured by ethane production. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980;54 : 251-257
- Rehman S. Lead-induced regional lipid peroxidation in brain. *Toxicol Lett* 1984;21 : 333-337
- Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YJ, Khwaja S, Safadi A, Motchnik PA, Packer L, Halliwell B. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *Biochem J* 1992;286 : 607-611
- Rothstein M. *Biochemical approaches to aging*. New York, Academic Press, 1982, pp. 41-73
- Shara MA, Dickson PH, Bagchi D, Stohs SJ. Excretion of formaldehyde, malondialdehyde, acetaldehyde and acetone in the urine of rats in response to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, paraquat, endrin and carbon tetrachloride. *J Chrom* 1992;57 : 221-233
- Shi X, Dalal NS. On the hydroxyl radical formation in the reaction between hydrogen peroxide and biologically generated chromium(VI) species. *Arch Biochem Biophys* 1991;286 : 652-655
- Sie H. Oxidative Stress : From basic research to clinical application. *Am J Med* 1991;91(suppl 3C): 3C-31C
- Singh RB, Ghosh S, Niaz MA, Singh R, Beegum R, Chibo H, Shoumin Z, Postiglione A. Dietary Intake, Plasma Levels of Antioxidant Vitamins, and Oxidative Stress in relation to Coronary Artery Disease in Elderly Subjects. *Am J Cardiology* 1995;76 : 1233-1238
- Stinson TJ, Jaw S, Jeffery EH, Plewa MJ. The relationship between nickel chloride-induced peroxidation and DNA strand breakage in rat liver. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992;117 : 98-103
- Stohs SJ, Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic Bio Med* 1995;18 : 321-336
- Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34(2) : 497-500
- Sugawara E, Nakamura K, Miyake T, Fukumura A, Scki Y. Lipid peroxidation and concentration of glutathione in erythrocytes from workers exposed to lead. *Brit J Ind Med* 1991;48 : 239-242
- Sugiyama M. Role of physiological antioxidants in chromium(VI)-induced cellular injury. *Free Radic Biol Med* 1992;12(5) : 397-407
- Teebor GW, Frenkel K, Goldstein MS. Identification of radiation-induced thymine derivatives in DNA. *Adv Enzyme Regul* 1982;20 : 39-54
- Toyokuni S. Iron-induced carcinogenesis : The role of redox regulation. *Free Rad Bio Med* 1996;20 (4) : 553-566
- Varian. *Analytical methods for graphite tube atomizers*, Mulgrave, 1988
- West WL, Knight EM, Edwards CH, Manning M, Spurlock B, James H. Maternal low level lead and pregnancy outcomes. *J Nutr* 1994;124(6) : Suppl,981S-986S