

사료를 통한 Benzo(a)pyrene 노출에 따른 조피볼락, *Sebastes schlegeli*의 생화학 및 조직병리학적 변화

박대국 · 김재원 · 지정훈 · 박수일 · 강주찬*

부경대학교 수산생명의학과

Biochemical and Histopathological Changes of Rockfish, *Sebastes schlegeli* by Dietary Benzo(a)pyrene

Dae Kuk Park, Jae Won Kim, Jung-Hoon Jee, Soo Il Park and Ju Chan Kang*

Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

Abstracts - Experiments were carried out to investigate the lipid peroxidation (LPO), superoxide dismutase (SOD) activity and histopathological change of hepatic tissue for rockfish, *Sebastes schlegeli* after feeding sub-chronic dietary Benzo(a)pyrene (BaP) in the concentration of 0 (control), 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg kg⁻¹ dry food of diet for 30 days.

In 2.0 mg kg⁻¹ dry food group, the significant increase of LPO was observed in all period, and SOD activity was increased at 30 days significantly in the same concentration. In the histological investigation of liver, there was the swelling of hepatic cells at 10 days over the 1.0 mg kg⁻¹ dry food concentration. At 30 days Periodic acid-Schiff (PAS) positive granule was observed in the same group and at 20 days was observed in 2.0 mg kg⁻¹ dry food group. And there was necrosis of hepatic cell in some fish of 2.0 mg kg⁻¹ dry food group at 30 days.

Key word : *Sebastes schlegeli*, benzo(a)pyrene, lipid peroxidation, superoxide dismutase, histopathological change, dietary

서 론

최근 benzo(a)pyrene (BaP)를 비롯한 내분비계장애물질로 인해 해양은 심각하게 오염되고 있다. BaP가 해양 환경 중으로 유입되는 경로는 다른 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)의 경우와 같이 주로 석유나 석탄과 같은 생물유래 물질의 연소에 의하며 (Baumrd *et al.*

1988), 먹이사슬을 통해 해양생물의 체내로 쉽게 유입된다 (Stange and Klungsøyr 1997). BaP는 고분자의 PAHs를 대표하는 물질로서 Internal Agency for Research on Cancer (IARC)에서 1983년에 인체에 암을 발생시킬 수 있는 물질로 분류하였다. BaP의 분자량은 252로서 5개의 벤젠고리로 구성되고, 분자량이 커서 세균에 의해 잘 분해되지 않으며 휘발성이 낮아 해양 환경중에 오랫동안 잔류한다 (Plante-Cuny *et al.* 1993).

따라서 BaP는 인지질이 풍부한 미토콘드리아, 미크로솜, 적혈구막 등의 생체막에서 지질 과산화물을 유도하여 free radical을 생성하고 세포의 기질적 손상을 초래한다.

* Corresponding author: Ju Chan Kang, Tel. 051-620-6146, Fax. 051-628-7430, E-mail. jckang@pknu.ac.kr

세포의 안정성 유지는 free radical 생성제와 free radical 방어제 사이의 균형에 주로 의존하게 되는데 생체는 free radical 방어제로서 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-px) 및 catalase 등을 포함하는 효소 방어계를 함유하고 있다. 그리고 어류 조직에서 SOD 등 효소방어계는 효과적인 환경오염의 indicator로서 이용될 수 있으며(Achuba 2002), 한편으로 조직병리학적 접근을 통해 환경평가를 위한 모니터링 프로그램을 정립화 할 수 있다(Hinton and Laurén 1990).

따라서 본 실험에서는 BaP가 조피볼락의 체내 지질과 산화에 미치는 영향을 조사하기 위해 BaP 식이로 지질과 산화 반응을 유도하여 체내 과산화 지질의 함량, SOD 활성 및 광학 현미경을 통한 간세포의 형태학적 변화에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

조피볼락, *Sebastes schlegeli* (전장 11.10 ± 0.03 cm, 체중 21.6 ± 0.2 g)는 경상남도 고성 소재 양어장에서 분양받아 실험실에서 4주간 순치시켰다. 순치 이후 외견상 건강한 개체를 선별하여 150 L 유수식 수조에 각 실험구마다 10미씩 총 240미를 수용하였고, 수조내 유입수의 수량은 1.2 L min^{-1} 로 조절하였다. 순치와 실험은 자연광하에서 실시하였으며, 이때 온도, 염분, pH 및 용존산소는 각각 $16.6 \pm 0.6^\circ\text{C}$, $32.0 \pm 0.5\%$, 8.00 ± 0.02 , $7.9 \pm 0.1 \text{ mg L}^{-1}$ 이었다.

실험사료는 해산어용 분말사료(천하제일사료, 한국)를 기본사료로 사용하여 (Table 1) BaP (97% >, Aldrich Chemical Co.)를 아세톤으로 녹여 각각 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg kg^{-1} 의 농도가 되도록 첨가하였다. 대조구는 BaP와 아세톤을 첨가하지 않았고, 용매구는 아세톤을 실험구간과 동일한 양만큼 넣어 조제한 사료를 급여하였다. 급여는 1일 1회에 걸쳐 어체중의 2%로 실시하였다.

2. 생화학적 분석

시료는 실험시작시기와 이후 10일 마다 채취하였으며, 간장은 무게 측정 후 일부는 조직검사를 위해 Bouin's solution에 고정하고, 나머지는 0.9% NaCl로 세척하여 분석시까지 액체질소탱크에 보관하였다. 실험실로 가져온 조직은 teflon-glass homogenizer (099C K4424, Glass-Col Ltd., Germany)를 이용하여 균질화하였고, 이때 buffer는 0.25 M sucrose (containing 50 mM Tris-HCl pH 7.4)를 사용하였다. 균질화한 시료의 일부로 LPO를

Table 1. Composition of the experimental diet

Ingredient	Content (%)
Crude Protein	48.0
Crude Lipid	4.0
Carbohydrate	4.0
Crude ash	15.0
Calcium	1.0
Phosphorus	1.0

측정하였으며, 나머지는 13,000 g, 4°C 에서 20분간 원심분리하여 상등액으로 SOD 활성을 측정하였다.

LPO는 John and Steven (1978)에 의해 기술된 thio-barbituric acid reaction system (TBARS) 법에 의해 정량하였다. 즉, 산성의 조건하에서 미분화된 지방산의 파괴에 의해 생성된 말론디알데히드에 고온을 가하면 2-thio-barbituric acid (TBA)가 정량적으로 염을 형성하는 원리를 이용하였다. SOD 활성은 xanthine oxidase에 의해 산화된 xanthine에서 유리된 산소 라디칼에 의해 cytochrome c가 붕괴되는 양을 시간에 따른 흡광도의 변화로써 측정하였다. 그리고, SOD 1 unit (U)는 흡광도 550 nm (pH 7.8, 25°C)에서 cytochrome c의 붕괴율을 50% 억제하는 양을 나타낸다(Flohe and Otting, 1984). 단백질은 시판되고 있는 kit (Bio-Rad system, 500-0002. Bio-Rad Co.)를 사용하여 정량하였다.

3. 조직병리 관찰

간의 조직병리학적 관찰을 위하여 간 조직을 절취하여 Bouin's 용액에 고정한 다음 수세, 탈수 과정을 거친 후 paraffin 포매하였다. Paraffin block은 두께 $4 \sim 6 \mu\text{m}$ 로 제작하였으며, 제작된 조직표본은 Mayer's hematoxylin과 0.5% eosin (H-E)의 비염색과 periodic acid-Schiff (PAS) 반응을 실시하여 검경하였다.

4. 통계 처리

결과의 통계처리는 SPSS 통계 프로그램 (SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA test를 실시한 후에 사후 다중비교로서 turkey test를 통해 평균간의 유의성 ($P < 0.05$)을 비교하였다.

결 과

1. LPO의 함량

사료를 통해 BaP를 투여한 결과, TBARS 방법으로 측

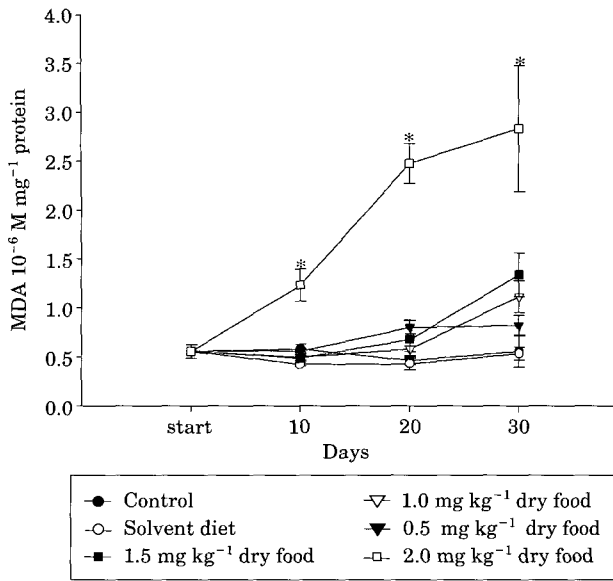


Fig. 1. Lipid peroxidation of rockfish, *Sebastes schlegeli* exposed to dietary benzo(a)pyrene for 30 days. Vertical bar denotes a standard error. *Indicates a significant difference from control ($P < 0.05$).

정된 LPO의 함량은 2.0 mg kg⁻¹ 농도구에서 전 실험 기간동안 유의적으로 증가하였다. 또한, 1.5 mg kg⁻¹ 이하의 농도구에서는 실험기간 동안 대조구에 비해 증가하는 경향을 보였으나, 유의한 차이는 인정되지 않았다(Fig. 1).

2. SOD 활성 변화

SOD 활성변화는 2.0 mg kg⁻¹을 제외한 모든 농도구에서 대조구와 비교하여 특이한 증감이 관찰되지 않았으며, 2.0 mg kg⁻¹ 농도구에서는 전 실험기간 동안 다른 실험구보다 높은 값을 나타내었고, 30일째에는 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났다 (Fig. 2).

3. 조직병리학적 소견

대조구 실험어의 간 조직은 핵이 뚜렷하고 둥근 다각형의 간 세포들로 이루어져있고, 모세혈관이 부분적으로 관찰되었다(Fig. 3, A). BaP에 10일째 노출시켰을 때 1.0 mg kg⁻¹ 이상의 농도에서 간세포의 활성화 때문이라고 여겨지는 팽창이 부분적으로 관찰되었고(Fig. 3, B), 20일째 2.0 mg kg⁻¹ 농도와 30일째 1.0 mg kg⁻¹ 이상의 농도에서는 PAS 염색에 강한 양성반응을 나타내는 과립이 세포질내에서 일부 출현했다(Fig. 3, C). 또한, 1.5 mg kg⁻¹ 이상의 농도에서 30일째에 BaP의 축적과 간의 대사활성에 의한 것으로 예측되는 lipid droplet이 출현했다(Fig.

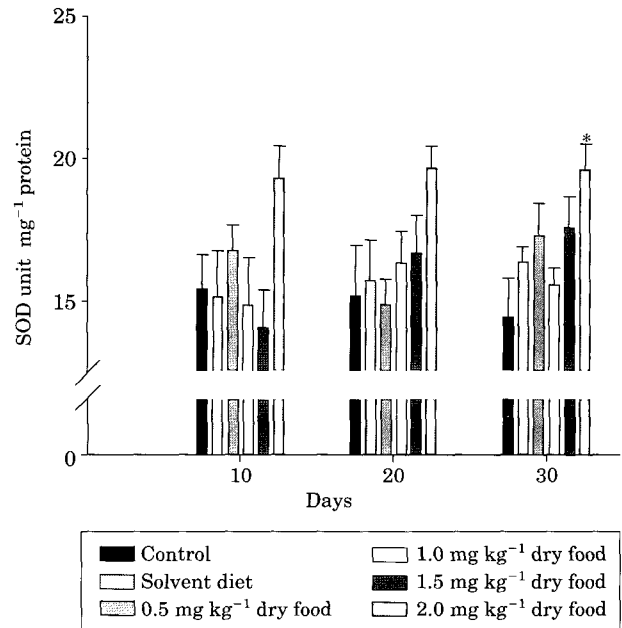


Fig. 2. Superoxide dismutase activity of rockfish, *Sebastes schlegeli* exposed to dietary benzo(a)pyrene for 30 days. Vertical bar denotes a standard error. *Indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

3, D). 그리고, 30일째 2.0 mg kg⁻¹ 농도구간의 일부개체에서는 PAS에 강한 양성을 보이는 과립이 군집상으로 나타났으며, 점차적으로 간 세포의 경계가 불규칙하게 되었고 결국은 조직의 괴사로 나타나는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 3, E-F).

고 찰

어류의 장관을 통해 유입된 독성물질은 일반적으로 hepatic portal vein을 통해 간으로 이동되어 대사된다(Laher et al. 1984). 그리고, 지용성이 더욱 강한 물질은 흉관의 임파체계(lymphatic system)을 경유하여 간으로 이동되어 무독화 내지 대사된다(Laher et al. 1984). 그러나, 일반적으로 먹이를 통해 유입된 BaP는 장관의 MFO에 의해 일차적으로 처리되고(Van Veld et al. 1987), 혈청내 단백질을 매개체로하여 간이나 쓸개 등의 장기로 운송, 흡수되며 저장 및 대사되어 배출된다(Sire et al. 1981). 세포내로 흡수는 혈청내 지질분해효소에 의한 가수분해를 거쳐 BaP-lipoprotein 결합체를 형성하여 세포내의 fat vacuole로 유입을 통해 일어난다. 이 과정에서 BaP-lipoprotein 결합체는 혈청 내 알부민과 유사성이

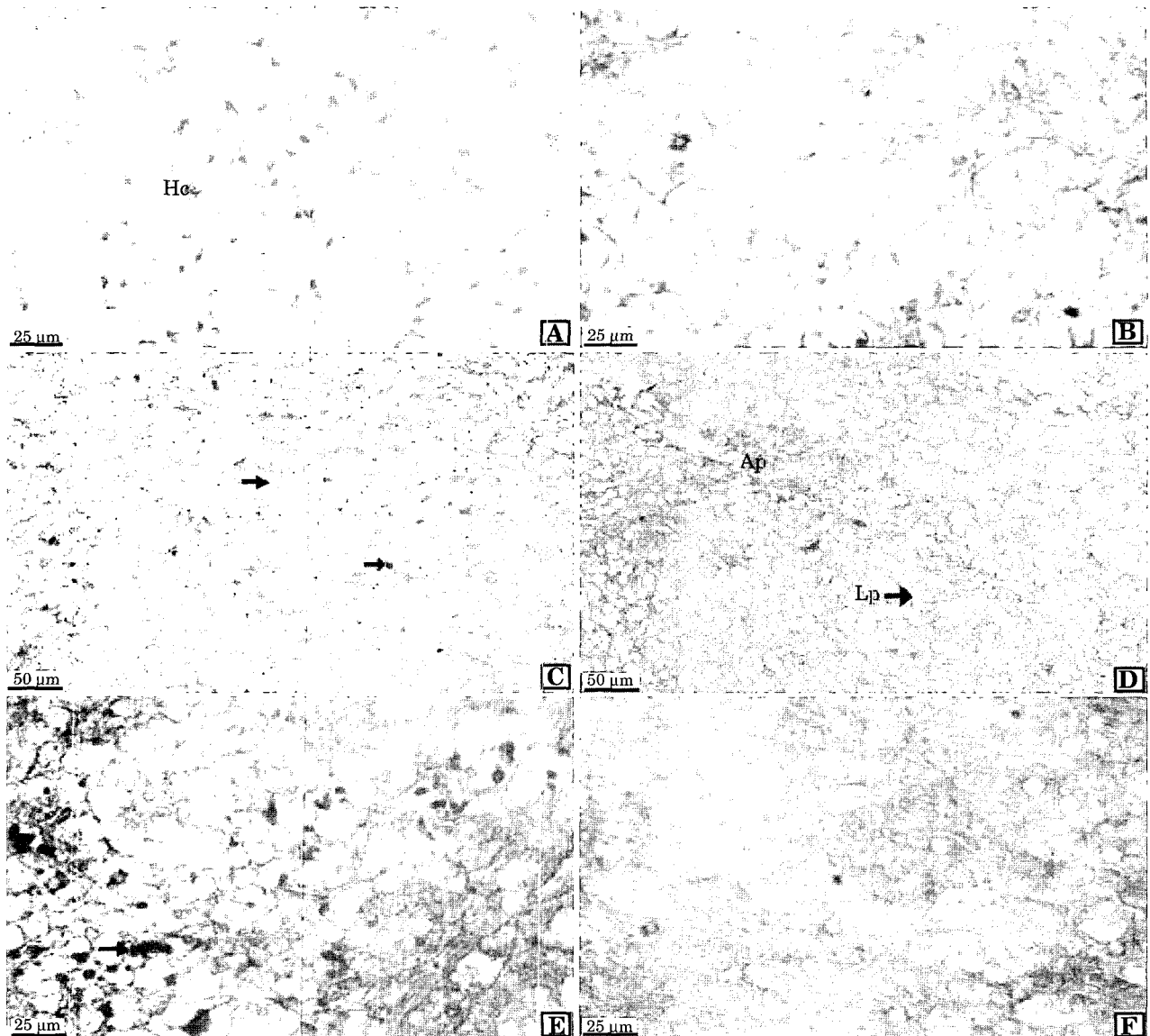


Fig. 3. Light micrographs of liver of rockfish in subchronic exposure for 30 days. A. Control group showing normal hepatocytes (Hc). B. 1.0 mg kg^{-1} dry food group showing hydropic swelling of hepatocytes in which the nucleus retained a nearly normal shape at 10 days. C. 2.0 mg kg^{-1} dry food group showing a small granules with PAS positive reaction at 20 days. D. 1.5 mg kg^{-1} dry food group showing the accumulation site with PAS positive reaction (Ap) and lipid droplets (Lp) at 30 days. E. 2.0 mg kg^{-1} dry food group showing small and large granules (arrow) at 30 days. F. 2.0 mg kg^{-1} dry food group showing necrosis at 30 days.

높으므로 특별한 리셉터를 거치지 않고 유입되며, BaP가 생체내의 여러 장기에 영향을 미치는 경로는 이러한 결합체에 의한 것으로 추측된다 (Van Veld *et al.* 1988).

ROS는 산소 라디칼과 히드록시 라디칼을 포함하며, 생체내에서는 미토콘드리아 막에서 일차적으로 생성된다 (Filho *et al.* 1993). 생체내의 ROS 함량은 항산화제 (antioxidant)에 의해 억제되어 유지되지만 ROS와 항산화제 간의 평행이 깨어지면 핵막내의 DNA를 포함한 생

체내 분자물질은 파괴되고 핵막과 결합하는 효소가 불활성된다 (Ozcan *et al.* 2002). 그리고, 막에 위치하는 여러 단백질과 지질, 비타민 성분의 생체구조물에 악영향이 나타날 수 있다 (Tocher *et al.* 2002). 또한 ROS는 미분화된 지방산을 과산화 시키며 (Ahmad *et al.* 2000), 막성분 교란과정에서 재생성 될 수 있다 (Shaheen *et al.* 1996). John and Steven (1978)에 의하면, 일반적으로 LPO는 지질구조가 히드록시 라디칼의 영향을 받아 지질 라디칼을 형

성하고 재구성되는 과정을 통해 superoxide에 의해 파괴되는 일련의 현상을 가리킨다. 그리고, LPO의 결과물로서는 말론디알데히드와 알콜, 케톤, 알데히드, 에텔과 같은 다양한 물질이 형성된다. 한편, LPO에 의해 생성된 과산화수소는 Haber-Weiss 반응과 같은 반응을 통해 다시 독성이 강한 히드록시 라디칼로 전환될 수 있다(Kim *et al.* 1999). 또한, Canova *et al.* (1998)에 의하면 생체내로 유입된 BaP의 절반 정도는 BaP quinones으로 대사되고 산화 및 환원작용의 영향을 받아 산소 라디칼이나 다른 ROS를 생성할 수 있다. 본 실험에서는 BaP 노출시 2.0 mg kg^{-1} 농도에서 10일째부터 높은 증가가 나타났다. 그러므로, 실험기간동안 먹이를 통해 유입된 BaP의 대사과정에서 중간물질로서 생성된 ROS에 의해 어체의 간 조직에서 심한 손상이 나타난 것으로 사료된다.

한편, SOD는 산소 라디칼을 과산화수소로 변환시켜 과산화를 억제하는 metalloprotein이다(Nebot *et al.* 1993). 일반적으로 SOD는 LPO의 증가에 따라 활성이 증가하며(Achuba, 2002), 본 실험에서는 30일째 2.0 mg kg^{-1} 농도에서 높게 나타났다. 이는 BaP노출에 의한 조직손상을 최소화하려는 어체의 방어행동에 의한 것으로 추정된다.

어류가 외부로부터 스트레스를 받게 되면 대사율이 정상 이하로 떨어지게 되고, 호기성, 혐기성의 모든 대사를 집중하여 대사율을 높이려는 생체반응이 일어난다(Copper *et al.* 2002). 이러한 과정은 생체내로 유입된 오염물질의 무독화 및 대사작용에서도 나타나며(Wright *et al.* 1989), 간에서 저장당류인 glycogen을 glucose로 변환하여 체내로 순환시키고 소화관에서 흡수한 영양분을 몸의 다른 부분에서 이용할 수 있게 전환하여 에너지를 발생한다(Junqueira *et al.* 1992). Schwaiger *et al.* (2001)은 간 세포 비대 현상을 오염물질에 의한 대사능력의 향상에 의한 결과로 추측하였고, PAS 양성의 granule의 출현은 글리코겐 분해 저하에 의한 것으로 보고하였다(Thophon *et al.* 2003). 그러므로, 10일째 $1.02.0 \text{ mg kg}^{-1}$ 이상의 농도에서 나타난 간 세포 비대 현상은 간 대사활동의 증가에 의한 것으로 사료된다. 또한, 20일째 2.0 mg kg^{-1} 농도와 30일째 1.0 mg kg^{-1} 이상의 농도에서 출현한 PAS 양성의 granule은 생체의 과도한 에너지 요구에 의한 글리코겐 분해의 저하의 결과로 추측된다.

만성적인 스트레스 요인은 지방간을 유발시킬 수 있다(Butterworth *et al.* 1986). BaP는 소수성이 강한 물질이므로 세포내에서 지방질과 결합한 형태로 검출되며, 분자량이 커서 배출이 느리게 일어난다(Vetter *et al.* 1985). 그리고, 간에서 lipid droplet의 증가는 스트레스에 대한 반응으로서 대사활성이 증가하여 일어날 수 있다(Zaroo-

gian *et al.* 2001). 본 실험에서 2.0 mg kg^{-1} 이상의 농도로 30일간 노출된 어류에서 lipid droplet이 출현했으며, 이는 BaP의 세포내 흡수 후 지방조직의 결합과 이물질에 의한 생체 반응으로서 대사활성의 증가에 의한 것으로 사료된다.

Ozcan *et al.* (2002)은 세포독성 물질이 세포막의 안정성에 악영향을 끼쳐 세포괴사나 기능의 문제가 발생할 수 있다고 보고하였다. BaP의 대사 중간산물로서 생성되는 ROS는 세포막 성분을 변형시켜 세포파괴를 유발한다고 알려져있으며(Majhi *et al.* 2000), 본 실험에서도 실험 종료시인 30일째에 2.0 mg kg^{-1} 농도구에서는 일부개체에서 간 세포의 괴사가 나타났다.

해양에 잔류하는 내분비계장애물질은 다양한 경로를 통해 수계에 서식하는 생물에게 악영향을 끼칠 수 있으며, 이는 인류의 생존을 위협하는 요인의 하나로 작용할 수 있다. 본 실험에서는 조피볼락에 사료를 통해 BaP를 투여하였을 때 2.0 mg kg^{-1} 농도에서는 생화학적·조직학적으로 치명적인 영향을 끼쳤음을 확인하였다.

적 요

사료를 통한 benzo(a)pyrene이 조피볼락, *Sebastes schlegeli*의 lipid peroxidation (LPO), superoxide dismutase (SOD) 활성과 간 조직의 병변 현상에 미치는 영향을 연구하기 위해 0 (대조구), 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg kg^{-1} 농도의 사료를 조제하여 30일간 급여하였다.

LPO는 2.0 mg kg^{-1} 농도구에서 전 실험기간 동안 유의적으로 증가하였고, SOD 활성도 2.0 mg kg^{-1} 농도구에서 30일째에 유의적으로 증가하였다. 간 조직 검경시 10일째에 1.0 mg kg^{-1} 이상의 농도구에서 세포비대가 나타났고, 같은 농도에서 periodic acid-Schiff (PAS) 염색시 양성으로 나타나는 granule이 30일째에 나타났고, 2.0 mg kg^{-1} 농도구에서는 20일째부터 관찰되었다. 그리고, 30일째 2.0 mg kg^{-1} 농도구의 일부 어체에서는 간 세포의 괴사가 관찰되었다.

사 사

이 논문은 2003년도 해양수산부 수산특정연구개발사업의 지원에 의해 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Achuba F. 2002. Superoxide dismutase and lipid peroxidation levels in fish from the ethiopia river in Southern Nigeria. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 69: 892-899.
- Ahmad I, T Hamid, M Fatima, HS Chand, SK Jain, M Athar and S Raisuddin. 2000. Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochim. Biophys. ACTA* 1523:37-48.
- Baumard P, H Budzinski and P Garrigues. 1988. PAHs in Arcachon Bay, France : origin and biomonitoring with caged organisms. *Mar. Pollut. Bull.* 36:577-586.
- Canova S, P Degan, LD Peters, DR Livingstone, R Voltan and P Venier. 1998. Tissue dose, DNA adducts, oxidative DNA damage and CYP1A-immunopositive protein in mussels exposed to waterborne benzo[a]pyrene. *Mut. Res.* 399:17-30.
- Copper RU, LM Clough, MA Farwell and TL West. 2002. Hypoxia-induced metabolic and antioxidant enzymatic activities in the estuarine fish *Leiostomus xanthurus*. *J. Exper. Mar. Biol. Ecol.* 279:1-20.
- Flohe L and F Otting. 1984. Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol.* 105:93-104.
- Herbert V, R Zalusky and CS Davidson. 1963. Correlation of folate deficiency with alcoholism and associated macrocytosis anemia and liver disease. *Ann. Int. Med.* 58:977-988.
- Hinton DE and DJ Laurén. 1990. Integrative histopathological approaches to detecting effect of environmental stressors on fishes. *Am. Fish. Soc. Symp.* 8:51-66.
- John AB and DA Steven. 1978. Microsome lipid peroxidation. *Methods. Enzymol.* 52:302-310.
- Junqueira LC, J Carneiro and R Kelley. 1992. Basic histology., Korean medical publishing Co. 23-36pp.
- Kim CS, SG Lee, CK Lee, HG Kim and J Jung. 1999. Reactive oxygen species as causative agents in the ichthyotoxicity of the red tide denoflagellate *Cochlodinium polykridoides*. *J. Plank. Res.* 21:2105-2115.
- Laher JM, MW Rigler, RD Vetter, JA Barrowman and JS Patton. 1984. Similar bioavailability and lymphatic transport of benzo[a]pyrene when administered to rats in different amounts of dietary fats. *J. Lipid Res.* 25: 1337-1342.
- Majhi S, BS Jena and BK Patnaik. 2000. Effect of age on lipid peroxides, lipofuscin and ascorbic acid contents of the lungs of male garden lizard. *Comp. Biochem. Physiol.* 126C:293-298.
- Ozcan E, N Uner and L Tamer. 2002. Comparison of Na^+ K^+ -ATPase activities and malondialdehyde contents in liver tissue for three fish species exposed to azinphosmethyl. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 69:271-277.
- Plante-Cuny MR, C Salen-Picard, C Grenz, R Plante, E Alliot and C Barranguet. 1993. Experimental field study of the effects of crude oil, drill cuttings and natural biodeposits on microphyto- and macrozoobenthic communities in a Mediterranean area. *Mar. Biol.* 117: 355-366
- Schwaiger J, OH Spieser, C Bauer, H Ferling, U Mallow, W Kalbfus and RD Negele. 2001. Chronic toxicity of nonylphenol and ethinylestradiol : haematological and histopathological effects in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aqua. Toxicol.* 51:69-78.
- Shaheen AA, Abd El-Fattah and MZ Gad. 1996. Effect of various stressors on the level of lipid peroxide, antioxidants and Na^+ K^+ -ATPase activity in rat brain. *Experientia* 52:336-339.
- Sire MF, C Lutton and JM Vernier. 1981. New views on intestinal absorption of lipids in teleostean fishes : An ultrastructural and biochemical study in the rainbow trout. *J. Lipid. Res.* 22:81-94.
- Stange K and J Klungsoyr. 1997. Organochlorine contaminants in fish and polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Barents Sea. *ICES. J. Mar. Sci.* 54:318-332.
- Thophon S, M Kruatrachue, ES Upatham, P Pokethitiyook, S Sahaphong and S Jaritkhuan. 2003. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environ. Pollut.* 121:307-320.
- Tocher DR, G Mourente, AVD Eecken, JO Evjemo, E Diaz and JG Bell, I Geurden, P Lavens and Y Olsen. 2002. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defence mechanism of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aqua. Nutr.* 8:195-207.
- Van Veld PA, JS Patton and RF Lee. 1988. Effect of preexposure to dietary benzo[a]pyrene(BP) on the firstpass metabolism of BP by the intestine of toadfish (*Opsanus tau*): *In vivo* studies using portal vein catheterized fish. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 92:255-265.
- Van Veld PA, RD Vetter, RF Lee and JS Patton. 1987. Dietary fat inhibits the intestinal metabolism of the carcinogen benzo[a]pyrene in fish. *J. Lipid Res.* 28:810-817.
- Vetter RD, MC Carrey and JS Patton. 1985. Coassimilation of dietary fat and benzo(a)pyrene in the small intestine: an absorption model using the killifish. *J.*

Lipid Res. 26:428-434.

Wright PA, SF Perry and TW Moon. 1989. Regulation of hepatic gluconeogenesis and glycogenolysis by catecholamines in rainbow trout during environmental hypoxia. *J. Exper. Biol.* 146:169-188.

Zarogian G, G Gardner and DB Horowitz, R Gutjahr-Gobell, R Haebler and L Mills. 2001. Effects of 17β -estradiol, *o, p'*-DDT, octylphenol and *p, p'*-DDE on

gonadal development and liver and kidney pathology in juvenile male summer flounder (*Paralichthys dentatus*). *Aquat. Toxicol.* 54:101-112.

Manuscript Received: April 23, 2004

Revision Accepted: August 7, 2004

Responsible Editorial Member: Wonchoel Lee
(Hanyang Univ.)