

Diethylhexyl Phthalate에 노출된 동자개, *Pseudobagrus fulvidraco*의 항산화 효소활성의 변동

금유화 · 지정훈¹ · 구자근² · 강주찬*

부경대학교 수산생명의학과, ¹부경대학교 수산과학연구소, ²인천수산종묘배양연구소

Changes of Antioxidant Enzyme Activity in Bagrid Catfish, *Pseudobagrus fulvidraco* Exposed to Diethylhexyl Phthalate

Yoo-Hwa KEUM, Jung-Hoon JEE¹, Ja-Geun KOO², Ju-Chan KANG*

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

¹Institute of Fisheries Sciences, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

²Incheon Fisheries Hatchery Research Institute, Incheon 409-871, Korea

The effects of diethylhexyl phthalate (DEHP) on various oxidative stress responses in liver, kidney and gill tissues of freshwater bagrid catfish *Pseudobagrus fulvidraco* were investigated under laboratory conditions. Bagrid catfish were intraperitoneally injected with sunflower seed oil containing nominal concentrations of 0, 300 or 900 mg DEHP per kilogram of body weight for 3 days and the effects after last injection were assessed in liver, kidney and gill tissues of the exposed organisms. The oxidative stress responses of fish were evaluated by analyzing the level of glutathione (GSH), as well as the activities of antioxidant enzymes such as glutathione S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR). After exposure to the DEHP, there were significant decrease in GR, GPx activity and GSH content in liver of fish exposed to 900 mg DEHP per kilogram of body weight compared to the control group. Compared with the control group, significant decreases in renal GPx and GR activity were observed in the DEHP treatment groups (900 mg kg⁻¹ bw). However, no significant difference was observed in any oxidative stress responses in gills between the DEHP-treated and the untreated group of fish. The findings of the present investigation show that DEHP induce oxidative stress and the liver was the most affected organ followed by the kidney and gills. Furthermore, the changes of GPx and GR activities may be important indicators of oxidative stress responses but additional study is required to confirm the oxidative stress of DEHP.

Key words: Antioxidant enzyme, Di-ethylhexyl phthalate (DEHP), *Pseudobagrus fulvidraco*, Oxidative stress

서 론

지구상의 생물들은 서식 환경에 존재하는 많은 화학물질에 노출되어 있고, 건강에 영향을 주는 여러 화학물질들은 자연적으로 생긴 것도 있지만 주로 내분비교란물질, 농약, poly-aromatic hydrocarbons (PAHs), 중금속 및 phthalic acid esters (PAEs)와 같은 인위적인 오염물질이다(Watanuki et al., 2003). 이중, 최근 몇 년동안 PAEs의 노출과 관련된 위험에 대하여 관심이 증가되고 있다(Casajuana and Lacorte, 2004).

PAEs는 1930년대 이후로 주로 고분자 물질의 유연성을 제공하기 위한 플라스틱 가소제로 사용되고 있다. 이 중, diethyl hexyl phthalate (DEHP)는 전체 가소제의 25%를 차지할 정도로 가장 광범위하게 사용되었고(Karle et al., 1997), 화장품, 액체 비누, 및 헤어스프레이 등과 같이 생활용품에도 사용되었다. DEHP는 플라스틱 제품의 제조 과정과 공정 후에 고분자 물질에서 쉽게 떨어지는 성질때문에 환경에 광범위하게 존재하게 되었고 플라스틱 제품을 만드는 공장의 폐수는 DEHP가 수계

로 직접적으로 유입되는 원인이 되었다(Jobling et al., 1995). 또한 DEHP는 log Koc 값이 4-5로 저질에 강하게 부착하는 경향이 있고, 수계에서 DEHP의 증발작용이나 가수분해는 뚜렷하게 나타나지 않는다(USEPA, 1999). 따라서 수중에 다양한 종류의 PAEs가 존재하고 이들의 분포도와 종류에 대한 연구가 다각적으로 진행되고 있다.

DEHP는 포유동물의 체내에 과산화물질을 증식시키고 이로 인하여 산화적 스트레스를 받아 발암을 일으키는 것으로 알려져 있다(James et al., 1998). 외인성 물질로 인한 산화스트레스를 방어하는 체내의 방어계에는 -SH기를 가진 비단백질성 항산화물질인 글루타치온과 glutathione S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPx) 및 glutathione reductase (GR)와 같은 글루타치온 의존성 효소가 있다. GST는 극성분자를 포함하여 쉽게 배설할 수 있는 형태로 전환시키고, GPx와 GR의 활성을 통하여 글루타치온의 산화와 환원을 반복하여 과산화물질의 생성을 막고 체내의 환원형 글루타치온(GSH)과 산화형 글루타치온(GSSG)의 균형을 유지하는데 중요한 역할을 한다.

*Corresponding author: jckang@pknu.ac.kr

동자개는 북한, 중국, 일본, 대만 및 시베리아 등에 분포하고 국내에서는 남해와 서해로 유입되는 하천의 바닥에 서식한다 (Han et al., 2001). 따라서 본 연구는 한국 특산 어종인 동자개를 대상으로 저질에 쉽게 부착하는 DEHP를 대상으로 복강주사 후 간, 신장 및 아가미의 글루타치온 함량 및 항산화 효소의 활성 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험어 및 실험 조건

평균체장: 170.92±2.14 mm, 평균 체중: 54.25±1.69 g의 동자개(*Pseudobagrus fulvidraco*)를 시험 수조 340×240×300 mm (50 L)에 5마리씩 수용하여 22-25℃의 온도에 일주일간 순치시켰다. 실험구는 체중 1 kg 당 DEHP (C₂₄H₃₈O₄, CAS registry number; 117-81-3)를 300 mg과 900 mg을 sunflower seed oil에 녹인 후 24 h 간격으로 3번 복강 주사하였고, 대조구는 oil만을 주사하였다.

시료 채취

간, 아가미 및 신장은 washing buffer (0.1 M KCl, pH, 7.4)로 세척 후, 각 조직은 homogenizing buffer (0.1 M K₂HPO₄, 0.15 M KCl, 1 mM Na₂EDTA, 1 mM DTT, 20% glycerol)를 이용하여 teflon-glass homogenizer (099C K4424, Glas-Col)로 균질화하였다. 이것을 4℃에서 10,000 g로 30분간 원심분리하여 상등액을 얻은 후 실험전까지 -70℃ (SW-UF-120, 삼원엔지니어링)에 보관하였다.

효소활성

GPx 효소활성은 H₂O₂를 기질로 사용하는 Bell et al. (1985)의 방법을 수정한 것으로 NADPH가 산화되는 비율을 340 nm에서 3분 동안 20초 단위로 분광광도계(Zenyn 200, Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria)로 측정하였고, 단위는 nmol/min/mg protein으로 표시하였다. GR 효소는 Beutler (1984)의 방법을 통하여 측정하였다. 시료에 1 mM EDTA가 포함된 potassium phosphate (pH 7.5), 산화형 글루타티온 및 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB)를 첨가한 후, 당일 조제한 NADPH의 첨가로 반응이 시작한다. NADPH가 GSSG을 GSH로 환원시킨 후, DTNB에 의하여 발색된 용액을 분광흡광도 412 nm에서 30초 단위로 3분동안 측정하였다. GST 효소 활성은 Habig et al. (1974)의 방법을 응용하여 측정하였다. 일정량의 시료에 0.2 M potassium phosphate (pH 6.5)와 증류수를 넣어 혼합시킨 뒤 GSH와 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)를 첨가하였다. 실온에서 1분 정도 반응시킨 뒤에 파장 340 nm에서 4분 동안 30초 단위로 증가하는 값을 측정하여 활성을 nmol/min/mg protein (u)으로 표시하였다. Total GSH (GSSG+GSH)는 Baker et al. (1990)의 방법에 의하여 측정되었다. 측정을 위한 시료는 GSH의 측정시 방해되는 protein을 제거하기 위하여 5% 5-sulfosalicylic acid (SSA)로 희석하여 사용하였다. 일정 시료에 혼합시액(100 mM NaH₂PO₄, 1 mM

EDTA (pH 7.5), 0.15 mM DTNB, 0.2 mM NADPH 및 1 U/mL GR)을 첨가하여 파장 405 nm에서 2분 이상 측정하였다. GSH 함량 계산은 GSSG를 사용한 검량선을 바탕으로 계산하여 단위는 μM/g-tissue로 나타내었다. 조직의 단백질 양은 Bradford (1976) 방법으로 측정하였다.

통계

모든 자료에 대하여 p<0.05를 유의차가 있는 것으로 간주하고 통계 프로그램 패키지(SPSS Inc, ver 10.01)를 이용하였다. 처리구 간의 비교는 ANOVA test를 실시하였고 사후검정은 Duncan test로 각 처리구 사이에 유의적인 차이를 조사하였다. 결과는 평균값±표준오차로 나타내었다.

결과

DEHP를 주사한 동자개의 간, 아가미, 신장의 GSH의 농도를 조사한 결과, 간에서는 주사한 농도에 따라 감소하는 경향이 조사되었고, 900 mg/kg bw 주사구는 대조구에 비해 유의하게 감소하였다(P<0.05). 대조구와 DEHP 주사구 사이에 아가미와 신장의 GSH 함량은 유의적인 차이가 인정되지 않았다 (Fig. 1).

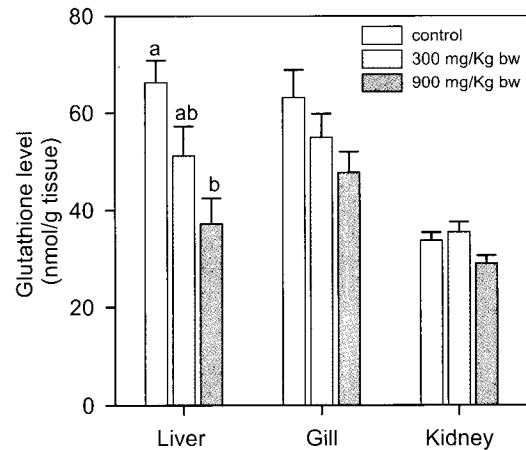


Fig. 1. Glutathione (GSH) level (nmol/g tissue) in liver, gill and kidney of control and DEHP-dosed bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. Values with different superscript are significantly different (P<0.05) as determined by Duncan's multiple range test.

각각의 장기 조직의 GST 활성은 간 조직이 아가미와 신장에 비하여 높은 수치가 조사되었다(Fig. 2). 간에서 GST의 활성 변화는 유의성을 나타내지 않았으나 대조구, 300 mg/kg bw 주사구 및 900 mg/kg bw 주사구에서 각각 244.6±14.4, 225.7±12.8 및 208±6.9 μmol/min/mg protein로 점점 감소하는 경향을 나타내었다. 신장의 GST의 활성은 대조구와 300 mg/kg bw 주사구는 유사한 값이 조사되었으나 900 mg/kg bw 주사구가 대조구 비하여 유의적인 감소가 조사되었다(P<0.05). 하지만 아가미에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다.

GPx의 활성은 간에서 대조구와 900 mg/kg bw의 농도구에

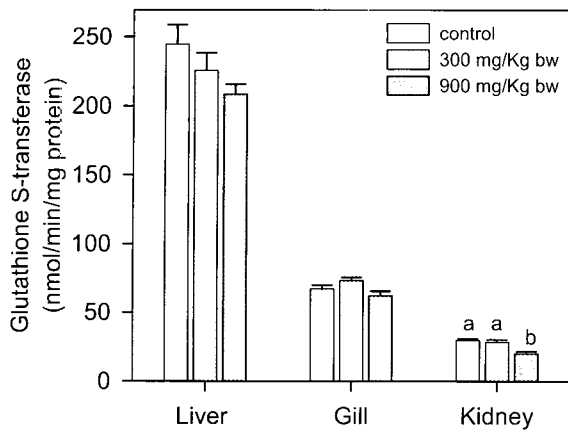


Fig. 2. The specific activity of glutathione S-transferase (GST) activity (nmol/min/mg protein) in liver, gill and kidney of control and DEHP-dosed bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

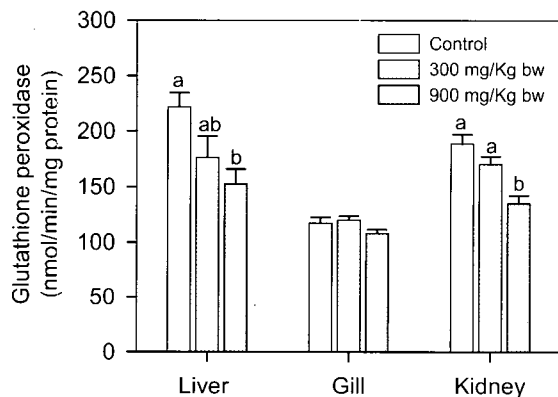


Fig. 3. The specific activity of glutathione peroxidase (GPx) activity (nmol/min/mg protein) in liver, gill and kidney of control and DEHP-dosed bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

서 각각 $221.9 \pm 12.7 \mu\text{mol/min/mg protein}$ 과 $152.5 \pm 13.4 \mu\text{mol/min/mg protein}$ 으로 유의한 차이가 나타났고($P < 0.05$), 신장에서도 900 mg/kg bw 주사구가 대조구에 비하여 72%의 유의적인 감소가 나타났으나($P < 0.05$), 아가미에서는 농도에 따른 유의적인 변화가 나타나지 않았다(Fig. 3).

GR의 활성에서도 GPx와 유사한 결과가 조사되었다(Fig. 4). 300 mg/kg bw 주사구의 간조직 GR 활성은 감소하는 경향이 조사되었으나 유의성이 나타나지 않았다. 하지만 900 mg/kg bw 주사구는 대조구에 비하여 유의적인 감소가 조사되었다($P < 0.05$). 신장의 GR의 활성은 대조구와 각 주사구 사이에 각각 유의적인 차이가 나타났고, 300 mg/kg bw 주사구와 900 mg/kg bw 주사구 사이에도 유의성이 조사되었다($P < 0.05$). 하지만 아가미에서는 뚜렷한 변화가 나타나지 않아 GPx 활성

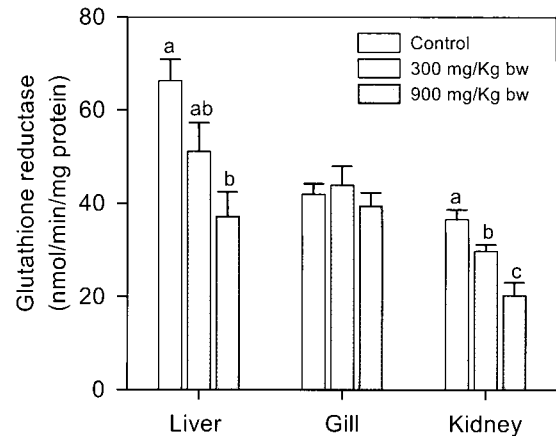


Fig. 4. The specific activity of glutathione reductase (GR) activity (nmol/min/mg protein) in liver, gill and kidney of control and DEHP-dosed bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

과 유사한 결과가 나타났다.

고찰

항산화제는 glutathione (GSH)과 같이 수용성의 환원제, α -tocopherol과 같은 지용성 환원제 및 GPx와 같은 효소가 있다. 이들은 산화 스트레스하에 유도되고 이런 조건에 적응하는데 중요한 역할을 한다(Kappus, 1985; Di Giulio et al., 1989). 특히, GSH는 해양생물의 외인성 물질 해독과 배설과 같은 중요한 기능을 담당하고, 이런 물질로 인해 유발되는 산화스트레스 독성반응에 대하여 세포를 보호하는 방어기작을 한다(Hasspielar et al., 1994; Otto and Moon, 1995). 본 연구에서는 간에서 900 mg/kg bw을 주사한 구가 대조구에 비하여 유의적인 감소가 조사되었고, 아가미와 신장에서는 유의적이진 않지만 감소하는 경향이 조사되었다. Zhang et al. (2004)에 따르면, 약한 산화스트레스에는 GSH가 증가되기도 하지만 강한 산화스트레스 반응에 의해서는 적절한 대사를 잃고 GSH가 산화형인 GSSG로의 산화되기 때문에 GSH의 함량이 감소되어질 수 있다고 보고하였다. 이와 관련하여 오염물질에 대한 GSH 함량의 변동에 대한 연구에서 paraquat와 meandione을 rainbow trout에 복강주사 하거나(Stephenses et al., 2002), deltamethrin의 노출에 의해 GSH 함량이 증가한다고 보고하였다(Sayeed et al., 2003). 또한 오염된 저질에 노출된 catfish에서도 유사한 결과가 조사되었다(DiGiulio et al, 1993). 이와는 반대로, 표백제 폐수에 노출된 catfish (Mather-Mihaich and DiGiulio, 1986)와 3,4-dichloroaniline에 노출된 crucian carp (Li et al., 2003)에서는 GSH의 함량이 감소한다고 보고하였다.

GST는 많은 외인성물질을 해독화시키는 효소 중 하나로 산화스트레스에 대하여 방어 작용을 담당한다(Fournier et al., 1992). 어류 세포가 오염물질과 만나게 되면, 오염물질은 GSH와 직접적으로 포함하거나 GST에 의해서 포함하여 제거하게

된다(Zhang et al., 2004). 사료를 통하여 phthalate를 투여한 랫드나 햄스터에서 GST의 활성이 감소하는 결과가 있고(O'Brien et al., 2001; Seo et al., 2004), 농약인 dimethoate에 노출된 어류의 GST 활성이 강하게 억제되었다는 보고가 있다(Hamed et al., 1999). 본 연구에서도 간과 신장에 존재하는 GST 효소 활성이 감소하는 경향을 나타내었는데 Reddy (1990)의 연구에 의하면(peroxisome proliferatos) PPs는 미토콘드리아의 산화적 인산화를 막음으로써 H₂O₂가 만들어진다. 세포의 지질 화합물은 프리 라디칼과 민감하게 반응하는데, H₂O₂의 제거는 GPx를 사용하여 환원형 GSH를 산화형 GSSG로 산화시키는 동시에 과산화수소를 안정된 알콜과 물로 환원시키기 때문에 프리 라디칼의 생성을 막는다(Mannervik, 1985). 따라서 GPx는 살아있는 세포에서 과산화물을 해독하는 메카니즘을 가지고 있다. GPx는 환경오염물질에 노출시간에서 유도되고(Radi, et al., 1985), 산화손상에 민감한 어류는 일반적으로 높은 GPx 활성을 가지고 있으며, GPx가 고갈된 무지개송어의 간에서는 GSSG의 형태가 나타나지 않은 보고도 있다(Bell, et al., 1986). 본 연구에서 900 mg/kg bw DEHP를 복강주사한 동자개의 간과 신장에서 대조구에 비하여 유의적인 감소가 조사되었다. 이것은 GPx의 감소가 PPs로 인하여 생성된 H₂O₂가 약간 감소되거나 혹은 변화가 나타나지 않아 계속적으로 축적되는 것으로 생각되어진다.

GPx에 의하여 산화형태의 GSSG는 GR 효소가 NADPH를 NADP+로 산화시킴과 동시에 환원형 글루타치온(GSH)으로 환원시킨다(Worthington and Rosemeyer, 1974). 펜토스 인산 경로를 통하여 반복되는 GPx와 GR의 활성은 체내의 GSH와 GSSG의 균형을 유지하는데 중요하다(Winston and Di Giulio, 1991). 만약 GSSG의 생성이 GR에 의해서 GSH로 환원되는 것 보다 많으면, GSSG는 축적되고 NADPH의 고갈을 막기 위해서 특이 수송에 의해서 세포 밖으로 이동하게 된다(Kaplowitz et al., 1996; Keppler et al., 1997). 결과적으로, GSH의 고갈을 일으키고, 항산화반응에 문제를 야기시킨다. GR의 활성은 PCBs, PAHs, DDE 및 HCB를 포함한 사료를 경구투여한 어류에서 관찰되었고 현장실험에서도 Atlantic salmon과 shorthorn sculpin 등에서 조사되었다. GR 활성의 명확한 감소는 PCBs를 노출시킨 red mullet (Rudneva-Titova and Zherko, 1994)과 오염된 지역에 서식하는 Nile tilapia (Bainy et al., 1996)의 연구에서 보고되었다. 반면, Otto and Moon (1995)의 보고에서는 PCB를 Rainbow trout에 노출시킨 후, 대조구에 비하여 500% 이상 GR 활성이 증가하였다고 보고하였다. 본 연구에서 GPx와 비슷한 경향이 조사되었다. 이것은 GPx의 감소로 인하여 GSH가 GSSG로 산화되는 양이 감소하였기 때문이라 생각되어진다.

참 고 문 헌

- Bainy, A.C.D., E. Saito, P.S.M. Carvalho and B.V.C. Junqueira. 1996. Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aquat. Toxicol.*, 34, 151-162.
- Baker, M.A., G.J. Cerniglia and A. Zaman. 1990. Microtiter plate assay for the measurement of glutathione and glutathione disulfide in large numbers of biological samples. *Anal. Biochem.*, 190, 360-365.
- Bell, J.G., C.B. Cowey, J.W. Adron and A.M. Shanks. 1985. Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Br. J. Nutr.*, 53, 149-157.
- Beutler, E. 1984. Red cell metabolism. In: *Manual of Biochemical Methods*. 3rd ed., Grune and Starton, Inc. Orlando, USA, pp. 78-83.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- Casajuana, N. and S. Lacorte. 2004. New methodology for the determination of phthalate esters, bisphenol A, bisphenol A diglycidyl ether, and nonylphenol in commercial whole milk samples. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 3702-3707.
- Di Giulio, R.T., P.C. Washburn and R.J. Wenning. 1989. Biochemical responses in aquatic animals; a review of determinants of oxidative stress. *Environ. Toxicol. Chem.*, 8, 1103-1123.
- Di Giulio, R.T., C. Habig and E.P. Gallagher. 1993. Effects of black river harbour sediments on indices of biotransformation, oxidative stress, and DNA integrity in channel catfish. *Aquat. Toxicol.*, 26, 1-22.
- Fournier, D., J.M. Bride, M. Poirie, J.B. Berge and F.W. Plapp. 1992. Insect glutathione S-transferases: Biochemical characteristics of the major forms of houseflies susceptible and resistant to insecticides. *J. Biol. Chem.*, 267, 1840-1845.
- Habig, W.H., M.J. Pabst and W.B. Jakoby. 1974. Glutathione S-Transferase. *J. Bio. Chem.*, 249, 7130-7139.
- Hamed, R.R., S.E. Elawa and N.M. Farid. 1999. Evaluation of detoxification enzyme levels in Egyptian catfish, *Clarias lazera*, exposed to dimethoate. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 63, 789-796.
- Han, K.N., K.B. Nam and C.H. Jeong. 2001. Development of eggs, larvae and juvenile of the Korean bullhead, *Pseudobagrus fulvidraco* (Richardson) reared in the laboratory. *Korean. J. Ichthyol.*, 13, 74-84.
- Hasspieler, B.M., J.V. Behar and R.T. Di Giulio. 1994. Glutathione dependent defense in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and brown bullhead (*Ameiurus*

- nebulosus*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 28, 82-90.
- James, N.H., A.R. Soames and R.A. Roberts. 1998. Suppression of hepatocyte apoptosis and induction of DNA synthesis by the rat and mouse hepatocarcinogen diethylhexylphthalate (DEHP) and the mouse hepatocarcinogen 1,4-dichlorobenzene (DCB). *Arch. Toxicol.*, 72, 784-790.
- Jobling, S., T. Reynolds, R. White, M.G. Parker and J.P. Sumpster. 1995. A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ. Health Perspect.*, 103, 582-587.
- Kaplowitz, N., J.C., Fernandez-Checa, R. Kannan, C. Garcia-Ruiz, M. Ookhtens and J.R. Yi. 1996. GSH transporters: molecular characterization and role in GSH homeostasis. *Biol. Chem. Hoppe. Seyler*, 377, 267-273.
- Kappus, H. 1985. Lipid peroxidation; mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance. In: *Oxidative Stress*. Sies, H., ed. Academic Press, London, pp. 273-310.
- Karle, V.A., B.L. Short, G.R. Martin, D.I. Bulas, P.R. Getson, N.L.C. Luban, A.N. O'Brien and R.J. Rubin. 1997. Extracorporeal membrane oxygenation exposes infants to the plasticizer, di (2-ethylhexyl)phthalate. *Crit. Care. Med.*, 25, 696-703.
- Kepler, D., I. Leier and G. Jedlitschky. 1997. Transport of glutathione conjugates and glucuronides by the multidrug resistance proteins MRP1 and MRP2. *Biol. Chem.*, 378, 787-791.
- Li, W.M., D.Q. Yin, Y. Zhou, S.Q. Hu and L.S. Wang. 2003. 3,4-Dichloroaniline-induced oxidative stress in liver of crucian carp (*Carassius auratus*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 56, 251-255.
- Mannervik, B. 1985. Glutathione peroxidase. *Meth. Enzymol.*, 113, 490-495.
- Mather-Mihaich, E. and R.T. Di Giulio. 1991. Oxidant, mixed-function oxidase and peroxisomal responses in channel catfish exposed to a bleached kraft mill effluent. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 20, 391-397.
- O'Brien, M.L., M.L. Cunningham, B.T. Spear and H.P. Glauert. 2001. Effects of peroxisome proliferators on glutathione and glutathione-related enzymes in rats and hamsters. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 171, 27-37.
- Otto, D.M.E. and T.W. Moon. 1995. 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl effects on antioxidant enzymes and glutathione status in different tissues of rainbow trout. *Pararmacol. Toxicol.*, 77, 281-287.
- Radi, A.A.R., D.Q. Hai, B. Matkovic and T. Gabrielak. 1985. Comparative antioxidant enzyme study in fresh water fish with different types of feeding behavior. *Comp. Biochem. Physiol.*, 81, 395-399.
- Reddy, J.K. 1990. Carcinogenicity of peroxisomal proliferators: Evaluation and mechanisms. *Biochem. Soc. Trans.*, 18, 92-94.
- Rudneva-Titova, I.I. and N.V. Zherko. 1994. Effects of polychlorinated biphenyls on the activity of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in muscle and liver of two Black Sea fish species. *Biochemistry-Moscow*, 59, 25-31.
- Sayeed, I., S. Parvez, S. Pandey, B. Bin-Hafeez, R. Haque and S. Raisuddin. 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 56, 295-301.
- Seo, K.W., K.B. Kim, Y.J. Kim, J.Y. Choi, K.T. Lee and K.S. Cho. 2004. Comparison of oxidative stress and changes of xenobiotic metabolizing enzymes induced by phthalates in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 42, 107-114.
- Stephensen, E., J. Sturve and L. Forlin. 2002. Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver. *Comp. Biochem. Physiol.*, 133, 435-442.
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). 1999. Integrated Risk Information System (IRIS) on Di (2-ethylhexyl) phthalate, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington, DC.
- Watanuki, H., Y. Gushiken and M. Sakai. 2003. In vitro modulation of common carp (*Cyprinus carpio* L.) phagocytic cell by di-n-butyl phthalate and di-2-ethylhexyl phthalate. *Aquat. Toxicol.*, 63, 119-126.
- Winston, G.W. and R.T. Di Giulio. 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.*, 19, 137-161.
- Worthington, D.J. and M.A. Rosemeyer. 1974. Human glutathione reductase: Purification of the crystalline enzyme from erythrocytes. *Eur. J. Biochem.*, 48, 167-177.
- Zhang, J.F., X.R. Wang, H.Y. Guo, J.C. Wu and Y.Q. Xue. 2004. Effects of water-soluble fractions of diesel oil on the antioxidant defenses of the goldfish, *Carassius auratus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 58, 110-116.

2005년 9월 10일 접수

2005년 10월 25일 수리