

잉어(*Cyprinus carpio*)에서 어류 구충제에 대한 N-acetylcysteine(NAC)의 독성 저감 효과

박관하

군산대학교 수산생명의학과

Attenuating Effects of N-acetylcysteine (NAC) against Fish Parasiticide-induced Toxicity in Carp *Cyprinus carpio*

Kwan Ha Park

Department of Aquatic Life Medicine, College of Ocean Science & Technology,
Kunsan National University, Gunsan 573-701, Korea

This study examined whether N-acetylcysteine (NAC), a glutathione precursor, could attenuate toxic effects of three fish anti-parasitic agents, trichlorfon, hydrogen peroxide (H_2O_2) and formalin, all of which are known to exert side effects through free radical production. Common carp *Cyprinus carpio* were fed with NAC (approx. 50 mg/kg/day) for 3 consecutive days prior to anti-parasite bathing for a 24 hr period. Mortality rates were examined during this 24 hr bathing period, and selected hematological and biochemical parameters were also assessed at the termination of anti-parasite exposure. The mortality rates and plasma glucose elevations caused by all three anti-parasitics were significantly reduced by NAC pretreatment. Trichlorfon, but not H_2O_2 or formalin, elevated plasma levels of aspartate-transaminase (AST) and alanine-transaminase (ALT), and these elevations were attenuated by NAC. There was no change in hematocrit values in any treatment. The results provide evidence for the attenuating effects of NAC against toxicity caused by anti-parasite agents that act through free radical-producing properties. The results found in this study also suggest that NAC may be administered to fish to minimize toxicity in fish parasiticide use.

Key words: Carp, N-acetylcysteine (NAC), Parasiticides, Mortality, Hematological and biochemical parameters

서 론

양식어류에서 기생충에 의한 피해는 상당한 수준일 뿐 아니라 매년 꾸준히 발생이 증가하고 있다고 평가되고 있으며, 이에 대한 대책으로서 현재 국내에서는 10 종 정도의 구충제가 허가되어 사용되고 있다. Trichlorfon(2,2,2-trichloro-1-hydroxyethyl phosphonic acid dimethyl ester), 과산화수소(H_2O_2) 및 formalin은 원충류나 연충류에 의해 발생하는 어류의 기생성 질병의 치료에 가장 빈번하게 사용되고 있는 구충제 또는 소독제라고 칭하는 약제들이다.

Trichlorfon은 choline-esterase의 활성을 저하시키는 유기인계 물질로서 흡충, 조충, 선충, 구두충 등 acetylcholine을 신경전달물질로 이용하는 기생 생물에서 약효를 발휘할 수 있다(Schäperclaus, 1992). 이 유기인계는 수중에서 서서히 가수분해 되어 dichlorvos(DDVP)로 전환되며 DDVP는 원래 물질보다 더 강력한 약효를 발휘한다(Treves-Brown, 2000). 또한 대사활성체 DDVP는 약효기전과는 별도로 어체내에서 대사되는 과정에서 유리기(free radical)를 생성(Bagchi et al., 1995)함으

로써 분해 후 산화적 스트레스 독성으로 작용하는 것이 잉어와 메기에서 보고된 바 있다(Hai et al., 1997). 과산화수소(H_2O_2)는 백혈구를 포함한 정상 동물세포내에서 미량 생성되지만, 원충류와 같은 기생충을 살상할 목적으로 수중에 투입하면 빠르게 물과 산소로 분해되기 때문에 환경친화적 수산용약품으로 인식되고 있다(Kiemer, 1997). 과산화수소가 기생생물을 살상하기 위해서는 산화성 산소종(hydroxy free radical, OH)을 생성하며, 생성된 free radical의 부작용으로서 생물의 단백질, RNA, DNA나 지질 등의 biomolecule들을 손상시키게 된다(Sanabria et al., 2009; Roque et al., 2010). 한편 어류의 기생충 구제나 소독의 목적으로 세계적으로 가장 다양하게 활용되고 있는 formalin(formaldehyde 용액, 대략 35%, w/v)도 반응성이 강한 물질로 생물체에 존재하는 amino기, carboxyl기 또는 hydroxyl기와 결합체를 형성함으로써 단백질과 DNA 등을 손상시켜 살상효과와 동시에 숙주생물에 독성을 발휘한다(Denyer, 1995; Denyer and Stewart, 1998). 따라서 여러 가능한 구충제의 약효 기전 중, 본 연구에서 검토하고자 하는 3 종의 수산용 구충제는 모두 직·간접적으로 free radical의 생성이나 산화적 스트레스를 유발하여 중요한 biomolecule들의 손상을 유발한다는 공통점을 가지고 있다.

*Corresponding author: khpark@kunsan.ac.kr

N-acetylcysteine(NAC)은 유황을 함유하는 항산화물질로서 세포의 손상억제와 회복에 기여한다(Atkuri et al., 2007). NAC는 세포내에서 cysteine으로 변화되어 glutathione(GSH) 생합성의 전구물질로 작용함으로써 GSH의 생성을 도울 뿐 아니라, 간접적으로는 GSH의 재생(산화형 GSSG에서 환원형 GSH로의 변환)에 필요한 효소인 glutathione reductase의 활성화도 촉진한다(Banaclocha, 2001). 따라서 이 두 가지 기전은 공히 NAC의 투여 후 포유동물세포내의 환원형 GSH농도를 증가시키게 된다(Issels et al., 1988; Phelps et al., 1992).

NAC가 어류에서 trichlorfon의 활성대사체 DDVP(Peña-Llopis et al., 2003)와 또 다른 유기인계 농약인 fenthion (Sevgiler et al., 2007; Sevgiler and Uner, 2010)의 독성을 경감시키는 작용이 보고된 바가 있다. 또한 담수조류 독소인 microcystin의 어류에서의 간장독성도 NAC투여로 경감(Puerto et al., 2010)되며 이 모든 방어작용이 NAC의 free radical 소거 능력에 직접적으로 기인한다고 추정되고 있다.

본 연구에서는 NAC가 보유한 free radical의 소거기능을 이용하여, free radical 생성 또는 유사한 작용을 통해 biomolecule의 손상을 유도하는 수산용 기생충 구제제의 부작용을 효율적으로 경감시킬 수 있는지를 잉어에서 평가하였다

재료 및 방법

시험어류 및 시험물질의 투여

체중 40-80 g의 잉어(*Cyprinus carpio*)를 군산대학교 양어장에서 분양 받아 실험실에서 2주간 순치시킨 후 시험에 사용하였다. 30(W) x 80(L) x 60(H) cm의 유리수조에 100 L의 물을 채우고 22 ± 2°C로 유지하면서, air pump를 이용하여 폭기하여 산소를 충분히 공급하면서 동물을 시험군 당 10 마리씩 수용하고 3 반복으로 시험하였다. N-acetylcysteine(NAC, Sigma, St. Louis, MO, USA)는 잉어용 상용사료(하스프, 전북 고창)에 0.05%로 흡착하여 구충제 노출 3일전부터 체중의 2%를 아침(9:00 AM)과 저녁(6:00 PM) 2 회로 나누어 공급하였다. 구충제 약육을 시작한 시점부터는 사료나 NAC는 공급하지 않았다. 이 시험에서 NAC의 목표 투여량은 50 mg/kg/일에 해당하는 용량이었다. 예비시험에서 이 보다 높은 용량인 150 mg/kg/일에 대하여 급이를 시도하였으나 NAC가 가진 매운 맛때문으로 추정되는 자발 섭취량의 감소현상이 나타났다.

시험용 구충제의 노출

Formalin(37.0% 수용액을 100%로 가정하여 사용) 및 hydrogen peroxide(35% 수용액을 100%로 가정하여 사용)을 Sigma(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Trichlorfon은 바이엘코리아(80% 수산용 제품, 경기도 수원시)에서 구입하였다. 이 약제들을 모두 필요한 농도도 희석하여 24 시간 동안 약육을 행하였다. 치사시험에서 구충제를 저, 중, 고의 임의로 설정한 3 가지 농도에 대한 경감효과를 평가한 후, 저

농도(평균 50% 미만의 치사유발 농도)의 구충제에 대해서는 hematocrit치와 혈청생화학적 성분의 변화에 미치는 영향을 평가하였다.

어류 시료의 처리 및 분석

구충제 처리 24 시간 경과 후 어류를 마취(MS-222, 50 mg/L, Sigma)하여 미부혈관으로부터 일회용주사기를 이용하여 1 mL의 혈액을 채취하고 일부를 hematocrit치의 분석에 사용하였다. Hematocrit치는 microhematocrit용 capillary tube에 혈액을 넣고 hematocrit용 원심분리기(Hanil)에서 12,000 rpm으로 5분간 원심분리한 후 혈구부분의 비율을 측정하였다. 나머지 혈액은 상온에서 응고시킨 후 3,800 x g에서 30분간 원심분리(3°C) 후 혈청을 분리하여 분석에 사용하였다. Aspartate-transaminase(AST), alanine-transferase(ALT)의 분석을 위한 kit(Reitman/Frankel 법)와 glucose 분석용(hexokinase 법) kit는 모두 아산제약(서울)에서 구입하여 제조사의 사용법에 따라 사용하였다. 이 시험은 제일 낮은 구충제 약육 농도에 대해서만 수행하였다.

통계처리

결과를 평균 ± 표준편차(mean ± S.D.)로 표현하였으며 유의성의 검정은 두 군의 비교에서는 unpaired t-test로, 3군 이상인 경우는 one-way analysis of variance를 분석한 후 유의성이 있는 시험군이 있다고 판정되는 경우 Newman-Keul's t-test를 통해 어떤 군에 통계학적 차이가 있는 지 판정하였다. 모든 유의성의 유·무 판단기준의 p-value는 0.05를 기준으로 하였다.

결 과

Fig. 1은 세 가지 구충제가 임의로 설정한 저, 중 및 고의 3 개 농도(Fig. 1의 농도 참조)로 잉어를 24시간동안 노출시켰을 때 나타난 치사효과와 이에 대한 NAC의 방어작용을 보여주고 있다. Trichlorfon, 과산화수소 및 formalin은 시험한 농도 중에서 고농도 과산화수소의 경우를 제외하고는 저, 중, 고 모든 농도에서 NAC가 치사효과를 감소시켰다. 즉 과산화수소의 300 mg/L인 경우에만 NAC의 치사 경감효과가 확실하지 않았다.

Table 1에서는 치사효과 시험에 사용한 어류 중 저농도로 노출한 군(NAC 비투여 군에서 평균 15-45% 치사 치사유발 농도)에서 생존한 어류의 혈액을 채취하고 hematocrit치 및 3 가지 혈청생화학적 변수를 측정하여 결과를 보여주고 있다. AST 및 ALT의 혈청 중 농도가 trichlorfon의 노출로 인해 유의성 있게 증가하였으며 NAC가 이 증가를 감소시키는 효과를 발휘하였다. 또한 혈청 중 glucose 농도가 시험한 모든 구충제 노출로 인해 유의성 있는 증가를 보이고 있으며 NAC가 투여된 군에서는 trichlorfon이나 과산화수소 노출에 유래한 이 증가 현상을 현저히 감소시켰다. 그러나 formalin에 기인한 증가에 대해서는 NAC가 유의성 있는 저감작용을 발휘하지 못하였다.

Table 1. Effects of *N*-acetylcysteine (NAC) on hematological and serum biochemistry in carp *C. carpio* exposed to fish parasiticidal agents

Parameters	Parasitocides	Groups		
		Un-exposed	Parasiticide-exposed	NAC-pretreated
Hematocrit (%)	Trichlorfon		35.0±6.0 ^a	33.8±5.2 ^a
	H ₂ O ₂	36.8±6.2 ^a	39.8±6.6 ^a	34.6±6.0 ^a
	Formalin		41.2±7.0 ^a	36.0±4.3 ^a
AST (IU/L)	Trichlorfon		122.9±25.9 ^b	76.7±13.9 ^a
	H ₂ O ₂	69.3±8.5 ^a	78.3±9.2 ^a	66.3±16.3 ^a
	Formalin		65.2±8.6 ^a	56.6±12.2 ^a
ALT (IU/L)	Trichlorfon		87.8±28.2 ^b	48.0±11.1 ^c
	H ₂ O ₂	22.4±4.7 ^a	19.3±5.3 ^a	21.4±8.2 ^a
	Formalin		27.3±12.3 ^a	27.3±10.2 ^a
Glucose (mg/dL)	Trichlorfon		224.3±25.8 ^b	152.0±20.5 ^a
	H ₂ O ₂	139.5±22.4 ^a	186.3±20.8 ^b	156.2±11.4 ^a
	Formalin		173.2±16.4 ^b	164.2±8.6 ^b

Exposures were performed to trichlorfon, hydrogen peroxide and formalin respectively at 40, 100 and 150 mg/L for 24 hrs. Seven fish in each determination. Statistical comparisons were made only for groups of linked treatments (e.g., of the same drug). Data with different superscripts denote statistically different values at $p < 0.05$ with Newman-Keul's t-test.

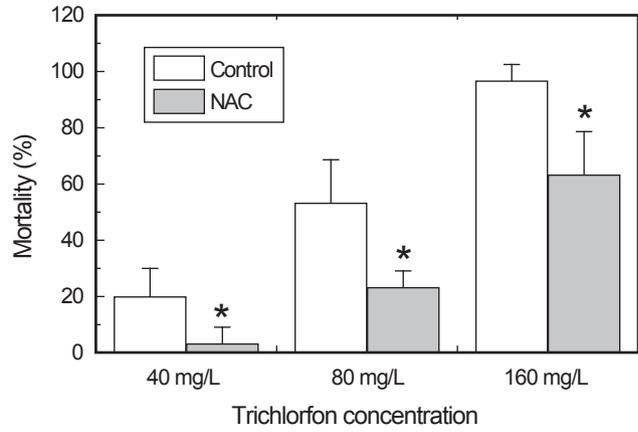
Hematocrit치는 3 종류의 구충제 모두에서 NAC 처리구와 비처리구 사이에 값의 변화를 보이지 않았다. 한편 중간 및 고농도의 구충제에 노출한 일부의 군에서는 24시간 후 생동 동물수가 충분하지 않아 hematocrit 및 혈청생화학적 평가는 최저농도 구충제에 대해서만 수행하였다.

고찰

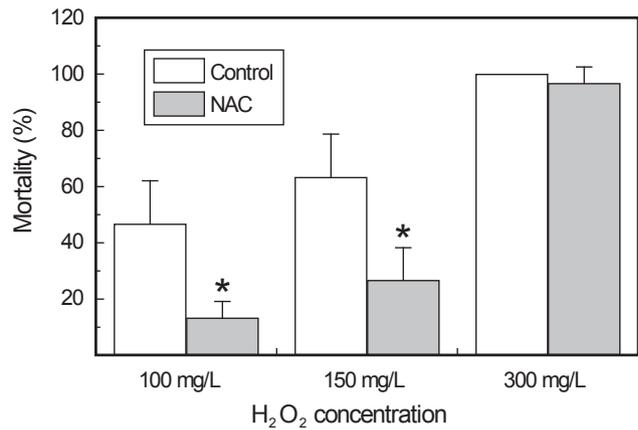
이 연구는 NAC를 미리 투여한 후 구충제에 노출시키면, 구충제의 작용기전이 완전히 동일하지 않아 독성발현의 양상이 다소 다르기는 해도 시험한 3 종류의 구충제로 인한 부작용을 모두 저감하는 능력이 있음을 확인하였다. 이 때 NAC가 발휘하는 효과인 free radical의 소거능력을 고려할 때, 3 종에 대한 독성 저감효과는 모두 free radical의 생성을 차단하는 작용 또는 항산화작용과 관련이 있을 가능성이 매우 높다. 특히 본 연구의 결과는 NAC가 현재 수산업 분야에서 중요한 구충제로서 활용되는 3 종의 모든 화학물질이 유발하는 숙주어류에서의 독성을 감소시키는 능력이 있음을 어류에서는 처음으로 증명한 결과로서 의미가 크다고 생각된다.

일반적으로 치사를 유발하지 않고 안전하게 사용되는 이들 3종의 구충제 농도는 trichlorfon이 0.2-0.4 mg/L, 과산화수소 1-10 mg/L, formalin 50-400 mg/L 범위(Schäperclaus, 1992; Treves-Brown, 2000; Guide Book for Aquacultural Drug Use,

A. Trichlorfon



B. Hydrogen peroxide



C. Formalin

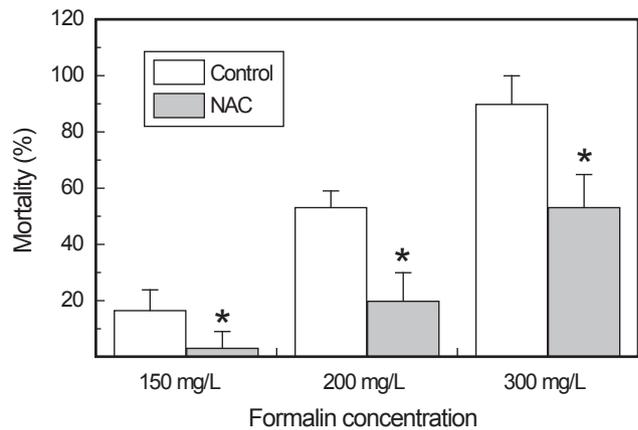


Fig. 1. Effects of *N*-acetylcysteine (NAC) on fish parasiticide-induced mortality in carp *C. carpio*. Mean ± S.D of triplicate tests. Thirty fish in each test group (10 fish/tank, triplicate) were bathed to parasiticides for 24 hrs. * Statistically significant at $p < 0.05$ with unpaired t-test

2010)이며 이 연구에서 평가한 농도는 어느 정도의 치사를 유발하는 수준 이상으로 구성하였다. 먼저 치사시험의 결과(Fig. 1)를 보면, 고농도 과산화수소의 경우를 제외하고는 시험한 모든 농도에서 NAC가 치사효과를 감소시켰다. 과산화수소의 300 mg/L인 경우에는 치사경감효과가 확실하지 않았는데 이는 아마도 지나치게 독성이 강력하여 NAC의 억제효과를 능가하는 수준이었기에 때문에 얻어진 결과일 것으로 추정된다.

시험한 구충제들이 유발하는 혈액학적 및 생화학적 독성 반응에 대해 NAC가 어느 정도의 보호작용을 가지고 있는지 평가하기 위해 치사효과를 평가했던 농도 중 가장 낮은 수준의 농도 (평균 15-45%의 치사 유발)로 노출된 잉어에 대해 NAC의 효과를 평가하였다(Table 1). 이 노출 농도에서 시험한 3 가지의 약제 모두 유의성 있는 hematocrit치의 변화를 유발하지 않았고 NAC투여 또한 아무런 영향을 미치지 않았다. 보통 Hematocrit치의 증가 또는 감소는 조혈기능의 장애, 혈구의 손상이나 삼투압 조절능의 장애를 시사한다(Adhikari et al., 2004; Carvalho and Fernandes, 2006; Nussey et al., 1995; van Vuren, 1986). 따라서 여기에서 사용한 구충제에 장기간 노출되면 삼투압 조절능 상실로 인한 hematocrit치의 증가가 예상된다. 예를 들면 formalin을 고농도로 노출하면 연어나 무지개송어에서 hematocrit의 증가나 나타나는 것이 보고되어 있다(Nieminen, 1983). 그러나 현재의 시험에서의 유의성 있는 변화가 나타나지 않은 것을 보면, 이 노출조건(농도 및 시간)에서는 hematocrit의 증가를 유발할 수 있는 정도의 심한 독성 수준은 아님을 의미한다.

간장에 대한 대표적 독성지표인 혈청 transaminase, 즉 AST 및 ALT의 증가가 trichlorfon 투여 후 관찰되었고 그 증가가 NAC를 투여한 잉어에서 저해되었다. Trichlorfon의 대사체 DDVP가 어류에서 혈장 중 transaminase의 농도를 높이는 사실은 다른 연구자도 보고한 바(Verma et al., 1981; Demael, 1990)가 있으며 현재의 결과는 동일한 맥락에서 해석이 가능할 것이다. 간장세포 손상은 transaminase효소를 유출시키기 때문에 순환 혈액내에 이 효소들의 농도가 증가하게 된다(Wroblewski and Ladue, 1955). 따라서 어류에서 이 효소의 증가현상은 화학물질 오염이나 간장에 손상을 가하는 세균성 및 기생충의 감염 지표로 활용되어 왔다(Bucher and Hofer, 1990). 그러나 과산화수소나 formalin은 이 두 효소의 변화를 초래하지 않았으므로 과산화수소와 formalin은 현재의 저농도에서 간장 독성을 유발하지 않음을 의미한다. Jung et al. (2003)은 31 ppm 이상의 formalin이 넙치에서 AST의 농도를 증가시킨다고 보고하였다. 잉어에서는 시험농도인 150 ppm에서도 변화가 나타나지 않은 것을 보면 잉어가 넙치에서 formalin에 의한 간손상에 저항성이 강한 것으로 추정된다.

다양한 stress는 어류의 뇌하수체-신장 내분비계축을 자극하여 부신피질자극호르몬 및 catecholamine의 유리를 촉진함으로써 혈장내 glucose 농도를 증가시킨다. 부신피질자극호르몬이나 catecholamine에 비해 측정방법에 용이하고 자극에 대해서 예민하게 반응하기 때문에, 혈장내 glucose의 농도

증가를 화학물질에 의한 손상의 지표로 널리 사용하고 있다(Wedemeyer and Tyasutake, 1977). Glucose의 혈장 중 농도가 이 연구에서 시험한 모든 구충제에 의해 증가하였다. 이 결과는 trichlorfon(Verma et al., 1983), 과산화수소(Roque et al., 2010) 및 formalin(Niemen et al., 1983)이 혈액 중 glucose의 농도를 증가시킨다는 보고와 일치한다. 이 증가현상이 NAC의 투여에 의해 부분적으로 감소함이 본 연구에서 관찰되었다. 그러나 formalin에 의한 glucose 증가현상은 NAC가 감소시키지 못하였는데, 이 때 다른 두 종의 약제에 비해 증가폭이 낮았던 것이 억제의 실패 이유가 아닌가 한다.

NAC는 동물에 흡수 후 acetyl기가 쉽게 제거되어 L-cysteine이 생성되며, 세포내 L-cysteine 농도는 free radical 소거기능이 있는 저분자 항산화물질인 glutathione의 생합성에서 제한 인자(limiting factor)로 작용하므로 NAC의 공급은 궁극적으로 glutathione 농도의 증가를 촉진한다(Phelps et al., 1992). 이런 이유로 NAC가 free radical을 생성하는 물질인 acetoaminophen(Prescott et al., 1977; Bakker et al., 1994), paraquat(Hoffer et al., 1996), endotoxin(Victor et al., 2003)의 독성 저감작용을 발휘함이 증명되었다. 또한 중금속 독성(Kelly, 1998), 노화현상(Banaclocha, 2001), 발암(Chatterjee and Deb, 1999) 등 free radical의 생성이 관여하는 병리현상도 억제함이 알려져 있다. 어류에서 NAC가 유기인계 농약인 fenthion이나 trichlorfon의 활성대사체 DDVP이 유발한 독성에 대해 저감효과가 있음이 보고된 바 있다(Peña-Llopis et al., 2003; Sevgiler et al., 2007). 그러나 NAC가 과산화수소나 formalin의 독성과 관련하여 어류를 포함하여 어떤 in vivo system에서도 평가된 적은 없다. 이 연구에서의 결과를 보면 NAC는 trichlorfon, formalin 및 과산화수소가 생성하는 반응성 산소종(ROS)에 의해 유발되는 손상을 방어할 수 있음을 시사한다. 이는 in vitro 시험계에서 확인된 NAC의 free radical 소거작용(Aruoma et al., 1989)이 현재의 in vivo 시험계인 잉어에서도 작동되고 있는 증거이다.

본 연구에서 검토한 수산용 구충제 중 과산화수소와 formalin은 비특이적으로 기생생물을 살상하는 효과가 있는 물질이기 때문에 바이러스, 세균 및 원충류를 포함하여 광범위한 생물을 구제하기 위한 목적으로 사용되고 있다. 그러나 반면 이 의약품들은 항생제와 같은 병원생물-숙주생물 사이의 차별화 된 독성작용이 없어서 낮은 농도에서는 살상효과가 미약하고 유효농도에서는 숙주어류에도 상당한 부작용을 유발하게 되는 단점이 있다. 더구나 일부의 생물들(예, 진균류)에 대해서는 효과가 극히 불량하지만, 다른 대안 의약품이 없어서 극히 높은 농도로 약육을 행해야 하는 경우도 있다. 이 때 만약 안전한 것으로 알려진 NAC를 미리 투여한 후 구충제로 약육을 행한다면 어류에의 부작용은 최소화하면서도 구제효과를 기대할 수 있을 것으로 추정된다. 또한 본 연구에서 검토한 구충제 이외에도 차아염소산나트륨(NaOCl), chloramine-T, 이산화염소(ClO₂), povidone-iodine 등 비특이적으로 biomolecule의 손상 작용을

통해 기생생물을 구제하는 기전을 가진 약제가 주로 쓰이고 있어서 이들 약제에 대한 부작용 저감효과도 검토해 볼 가치가 있을 것이다.

종합적으로 본 연구에서 독성을 유발한 구충제의 종류에 따라 생화학적 변화에는 차이가 있고, 또한 혈액학적 및 생화학적 변화를 측정할 시험농도는 단일 수준이어서 넓은 범위의 변화를 파악하는 것은 불가능하였지만 치사율의 결과와 종합하면 NAC의 구제제에 대한 독성억제 효과는 분명히 있는 것으로 판단된다. 일반적으로 안전하게 사용할 수 있는 수산용 구충제의 용량이 제시되어 있다. 그러나 기생충의 내성이 발생하기도 하였고 엄밀한 표준농도를 계량하지 않고 적당한 희석 후 사용하는 예가 많아 어류에 분명한 독성이 나타나는 수준으로 구충제를 투여하는 경우가 빈번하기 때문에(Burridge et al., 2010; Thompson, 2001) 현재의 결과는 최소한 학문적으로 의미가 있다. 현실적으로는 NAC가 수산용으로 허용된 의약품이 아니므로 임의로 사용할 수는 없으므로, 적절한 허가과정을 거쳐 활용 방법을 모색한다면 현재의 연구결과를 구충제 사용시 실용적으로 활용할 수도 있을 것이다.

참고문헌

- Adhikari S, Sarkar B, Chatterjee A, Mahapatra CT, Ayyappan S. 2004. Effects of cypermethrin and carbofuran on haematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicol Environ Saf* 58, 220-226.
- Atkuri KR, Mantovani JJ, Hernzberg LA and Hernzberg LA. 2007. *N*-acetylcysteine - a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Curr Opin Pharmacol* 7, 355-359.
- Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM and Butler J. 1989. The antioxidant action of *N*-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxy radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Rad Biol Med* 6, 593-597.
- Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA and Stohs SJ. 1995. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology* 104, 129-140.
- Bakker J, Zhang H, Depierreux M, Van Asbeck S and Vincent JL. 1994. Effects of *N*-acetylcysteine in endotoxic shock. *J Crit Care* 9, 236-243.
- Banachlocha MM. 2001. Therapeutic potential of *N*-acetylcysteine in age-related mitochondrial neurodegenerative diseases. *Med Hypoth* 56, 472-477.
- Bucher F and Hofer R. 1990. Effects of domestic wastewater on serum enzyme activities of brown trout (*Salmo trutta*). *Comp Biochem Physiol* C97, 381-385.
- Burridge L, Weis JS, Cabello F, Pizarro J and Bostick K. 2010. Chemical use in salmon aquaculture: a review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture* 306, 7-23.
- Carvalho CS and Fernandes MN. 2006. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish, *Prochilodus scrofa* at low and high pH. *Aquaculture* 251, 109-117.
- Chatterjee A and Deb S. 1999. Genotoxic effect of arecoline given either by the peritoneal or oral route in murine bone marrow cells and the influence of *N*-acetylcysteine. *Cancer Lett* 139, 23-31.
- Demaël A, Dunier M and Siwicki AR. 1990. Some effects of dichlorfon on carp metabolism. *Comp Biochem Physiol* C95, 237-240.
- Denyer SP. 1995. Mechanisms of action of antibacterial biocides. *Int Biodet Biodeg* 35, 227-245.
- Denyer SP and Stewart GSAB. 1998. Mechanisms of action of disinfectants. *Int Biodet Biodeg* 4, 261-268.
- Guide Book for Aquacultural Drug Use. 2010. Department of Pathology, National Fisheries Research and Development Institute, Korean Ministry of Agriculture, Fisheries and Forestry, Busan, Korea, 1-61.
- Hai DQ, Varga SI and Markovics B. 1997. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*). *Comp Biochem Physiol* 117C, 83-88.
- Hoffer E, Baum Y, Tabak A and Taitelman U. 1996. *N*-acetylcysteine increases the glutathione content and protects rat alveolar type II cells against paraquat-induced cytotoxicity. *Toxicol Lett* 84, 7-12.
- Issels RD, Nagele A, Eckert KG and Wilmanns W. 1988. Promotion of cysteine uptake and its utilization for glutathione biosynthesis induced by cysteamine and *N*-acetylcysteine. *Biochem Pharmacol* 37, 881-888.
- Jung SH, Sim DS, Park MS, Jo QT and Kim Y. 2003. Effects of formalin on hematological and blood chemistry in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Aquaculture Res* 34, 1269-1725.
- Kelly GS. 1998. Clinical applications of *N*-acetylcysteine. *Alter Med Rev* 3, 114-127.
- Kiemer MCB, Black KD. 1997. The effects of hydrogen peroxide on gill tissues of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture* 153, 181-189.
- Nieminen M, Pasanen P and Laitinen M. 1983. Effects of formalin treatment on the blood composition of salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp Biochem Physiol* 76C, 265-269.
- Nussey G, van Vuren JH and Du Freez HH. 1995. Effect of copper on blood coagulation of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). *Comp Biochem Physiol.*, C111, 359-367.

- Peña-Llopis S, Ferrando MD and Pena JB. 2003. Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquat Toxicol* 65, 337-360.
- Phelps DT, Deneke SM, Daley DL and Fanburg BL. 1992. Elevation of glutathione levels in bovine pulmonary artery endothelial cells by NAC. *Am J Respir Cell Mol Biol* 7, 293-299.
- Prescott LF, Ballantyne A, Proudfoot, AT, Park J and Adriaenssens P. 1977. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet* 310, 432-434.
- Puerto M, Prieto AI, Jos A, Moreno I, Moyano R, Blanco A, and Camean AM. 2010. Dietary N-acetylcysteine (NAC) prevents histopathological changes in tilapias (*Oreochromis niloticus*) exposed to a microcystin-producing cyanobacterial water bloom. *Aquaculture* 306, 35-48.
- Roque A, Yildiz HY, Carazo I and Duncan N. 2010. Physiological stress responses of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to hydrogen peroxide (H₂O₂) exposure. *Aquaculture* 304, 104-107.
- Sanabria C, Diamant A and Zilberg D. 2009. Effects of commonly used disinfectants and temperature on swim bladder non-inflation in freshwater angelfish, *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein). *Aquaculture* 292, 158-165.
- Schäperclaus W. 1992. Therapy of fish disease. In: *Fish Diseases*. AA Balkema/Rotterdam, Netherlands, 210-296.
- Sevgiler Y, Piner P, Durmaz H and Uner N. 2007. Effects of N-acetylcysteine on oxidative responses in the liver of fenitron exposed *Cyprinus carpio*. *Pest Biochem Physiol* 87, 248-254.
- Sevgiler Y and Uner N. 2010. Tissue-specific effects of fenitron on glutathione metabolism modulated by NAC and BSO in *Oreochromis niloticus*. *Drug Chem Toxicol* 33, 348-356.
- Thompson RCA. 2001. The future of veterinary parasitology: a time for change? *Vet Parasitol* 98, 41-50.
- Treves-Brown KM. 2000. *Applied Fish Pharmacology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 161-19.
- Van Vuren JH. 1986. The effect of toxicants on the hematology of *Labeo umbratus* (Teleostei: Cyprinidae). *Comp Biochem Physiol C83*, 155-159.
- Verma SR, Rani S and Dalela RC. 1981. Isolated and combined effects of pesticides on serum transaminases in *Mystus vittatus* (African catfish). *Toxicol Lett* 8, 67-71.
- Verma RS, Rani S, Tonk IP and Dalela RC. 1983. Pesticide-induced dysfunction in carbohydrate metabolism in three freshwater fishes. *Environ Res* 32, 127-133.
- Victor VM, Rocha M and De la Fuente M. 2003. Regulation of macrophage function by the antioxidant N-acetylcysteine in mouse-oxidative stress by endotoxin. *Int Immunopharmacol* 3, 97-106.
- Wedemeyer G and Yasutake WT. 1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. U.S. Technical Papers, U.S. Fish Wildlife Service, 89, Washington, D.C., USA., 1018-1033.
- Wroblewski F and LaDue JS 1995. Serum glutamic-oxaloacetic-transaminase activity as an index of liver cell injury from cancer: a preliminary report. *Cancer* 8, 1155-1163.

2011년 8월 8일 접수
 2011년 8월 31일 수정
 2011년 9월 30일 수리