

ORIGINAL ARTICLE

Sodium Fluoride 함량이 흰쥐의 간 기능 효소활성에 미치는 영향

김한수*

부산대학교 식품공학과

Influences of Sodium Fluoride Contents on Hepatic Functional Enzyme Activities in Rats

Han-Soo Kim*

Department of Food Science and Technology, Pusan National University, Miryang 50463, Korea

Abstract

The purpose of this study was to probe the influences of NaF oral administration on a dose-effect relationship between fluoride levels of serum enzyme activity such as alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and lactate dehydrogenase (LDH) in rats fed experimental diets for 5 weeks. All groups increased the activity of serum ALP, AST, ALT, and LDH levels with increasing NaF. In addition the fluoride levels of serum and organ tissues (liver, brain, heart, lung, kidney) in oral NaF groups (NF3~NF50) were significantly increased by adding sodium fluoride in comparison with normal diet group (ND) ($p < 0.05$). These results, a high concentration of sodium fluoride was determined that the toxicity to various organ tissues.

Key words : Sodium fluoride (NaF), Aminotransferase (AST, ALT), Alkaline phosphatase (ALP), Lactate dehydrogenase (LDH)

1. 서론

불소는 전기음성도가 크게 반응하는 물질로 자연에서는 원소 상태로 발견하기가 어렵다(Gillespie et al., 1989). 때문에 무기물이나 유기물의 화합물 상태로 존재하며, 무기물로 존재하는 불소화합물은 주로 플루오린화 나트륨(NaF), 모노플루오르인산나트륨($\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$), 플루오르화주석(II)(SnF_2)의 형태로 식품 가공, 치약의 형태로 일상에 많이 사용되고 있다(Whitford, 1994). NaF는 식수에 불소 이온을 공급하기 위해 사용되었으나 신경 계

통을 자극하는 독성이 있어 hexafluorosilicic acid (H_2SiF_6)나 sodium hexafluorosilicate (Na_2SiF_6)으로 대체되었으며(Urbansky, 2002; Pollick, 2013), 치약에는 충치를 예방하기 위해 NaF를 첨가하기도 한다. 그러나 적절한 양(0.8~1.2 ppm)일 때는 충치예방과 변색방지 등의 장점이 있지만 매일 일정량 이상 장기간 섭취한다면 신경조직에 독성을 나타내어 뇌 발달에 영향을 준다(Mittal and Flora, 2006). 또한, 간 및 신장, 척수 등 동물과 인간의 기관, 주로 골격 시스템에 많은 손상을 야기한다고 보고되어 있다(Dote et al., 2000; Wang et al.,

Received 1 September, 2019; Revised 1 October, 2019;
Accepted 4 October, 2019

*Corresponding author: Han-Soo Kim, Department of Food Science and Technology, Pusan National University, Miryang 50463, Korea
Phone: +82-55-350-5351
E-mail : kimhs777@pusan.ac.kr

The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.
© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

2004). 또한 식수의 소독에 사용하는 불소의 농도는 0.7~1.2 mg/L를 유지하는 것이 효과적이고 안전하다고 알려져 있다(US Public Health Service, 1991). 불소와 골경화증, 호흡기 질환 사이의 관계가 아직 명확히 규명되지 않았다는 것으로 보고되어 있다(Mullenix et al., 1995). 또한 일정 이상 농도의 불소에 장기간 노출되었을 때 체내의 여러 산화적 스트레스를 유발하여 혈중 포화지방산/불포화지방산 비율 증가 및 테스토스테론(testosterone)의 농도를 감소시키고 간장과 신장, 남성 생식 기관에 악영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Wang et al., 2000; Ghosh et al., 2002; Xiong et al., 2007). Gessner et al.(1994)는 불소농도 150 mg/L 가량의 물을 식수로 사용하여 급성 중독을 일으킨 296명의 환자에게서 메스꺼움, 구토, 설사, 복통과 감각 이상의 증상이 나타났으며, 1명은 사망하였다고 보고하였다. 또한, NaF의 인체내 독성은 1 g 미만 섭취에 의해서도 심각한 증상을 보이며, 흰쥐에 있어서 경구투여로 인한 LD50이 0.18 g/kg으로 보고되어 있다(Merck index, 1983). 이에 본 연구는 krill에 함유된 고농도 불소 양에 대한 식품으로서의 안전한 활용 가능성을 모색하기 위한 임상적 특성과 불소 기준치 및 기준 규격 설정을 위한 과제로, NaF 농도에 따라 흰쥐의 장기에서 축적된 NaF 함량 및 혈청 효소활성에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 실험을 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

본 실험에 사용된 sodium fluoride (NaF) 시약은 Sigma Adrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, 그 외에 실험에 사용된 분석용 kit 시약은 Eiken (Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

2.2. 실험 동물

평균 체중 200±10 g인 7주령된 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐(DAEHAN BIOLINK Co., LTD, Eumseong, Korea)를 7% 콩기름(Ottogi, soybean oil, Anyang, Korea)을 함유하는 기초식으로 1주일간 예비사육하여 적응시킨 후 난괴법(randomized complete block design)에 의해 6마리씩 9군으로 metabolic cage (JD-C-71, Jeongdo, Korea)에 나누어 5주간 실험사육

하였다. 실험 사육실의 온도 20±1℃ 및 습도 50±10%는 일정하게 유지시켰고, 명암은 12시간(7:00~19:00) 주기로 조명하였다(Kim et al., 2014). 예비사육 및 실험사육 등 동물실험은 부산대학교 동물실험윤리위원회 승인(PNU-2012-0004)과 관리 감독 하에 실시되었다.

2.3. 식이조성 및 실험군

식이조성 및 실험군은 Table 1과 같다. 기본식이를 섭취시킨 대조군(ND)과 기본식이에 NaF를 용량별로 경구 투여한 NF3, NF5, NF10, NF15, NF20, NF25, NF30, NF50군으로 나누었다.

2.4. 실험 동물의 처리

실험사육 최종일에 7시간 동안 절식시킨 후, 가스마취기(animal inhalation narcosis control, SK-INC-100A, Daejeong, Seoul, Korea)를 사용하여 CO₂ gas 마취하에 심장채혈법으로 혈액을 취하여 4℃에서 1시간 방치한 다음, 분당 3,000 cycle로 20분간 원심분리하여 혈청을 얻어 실험에 사용하였다(Kim et al., 2014).

2.5. 효소 활성의 측정

2.5.1. Alkaline phosphatase (ALP) 활성

혈청 중 alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) 활성은 혈청 ALP측정용 kit 시약(NEW-K-PHOS, Eiken, Tokyo, Japan)을 이용하여 생화학분석기(Hitachi 7150, Tokyo, Japan)로 측정하였으며, 혈청 1.0 mL당 unit으로 표시하였다.

2.5.2. Aminotransferase (AST, ALT) 활성

Aspartate aminotransferase (AST, EC 2.6.1.1)와 alanine aminotransferase (ALT, EC 2.6.1.2)는 효소법에 의해 조제된 시약(혈청 transaminase 측정시약, Eiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 혈청 중 AST 및 ALT활성을 측정하였으며 혈청 1.0 mL당 unit으로 표시하였다.

2.5.3. Lactate dehydrogenase (LDH) 활성

Lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27)는 효소법에 의해 조제된 kit시약(Eiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 생화학분석기(Hitachi 7150, Tokyo, Japan)로 측정하였다(Kim, 2006).

2.6. 불소(F) 함량의 측정

총 불소 함량은 Singer and Ophaug(1979)의 방법에

Table 1. Compositions of experimental diet and groups

(%)

Ingredient	Group ¹⁾								
	ND	NF3	NF5	NF10	NF15	NF20	NF25	NF30	NF50
Casein	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00
Corn starch	50.95	50.95	50.95	50.95	50.95	50.95	50.95	50.95	50.95
Sucrose	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Cellulose	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Mineral mix ²⁾	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50
Vitamin mix ³⁾	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Soybean oil	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
L-systine	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
NaF ⁴⁾	-	3 mg	5 mg	10 mg	15 mg	20 mg	25 mg	30 mg	50 mg
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

¹⁾ND: normal diet group, NF3: normal diet + 3 mg NaF, NF5: normal diet + 5 mg NaF, NF10: normal diet + 10 mg NaF, NF15: normal diet + 15 mg NaF, NF20: normal diet + 20 mg NaF, NF25: normal diet + 25 mg NaF, NF30: normal diet + 30 mg NaF, NF50: normal diet + 50 mg NaF.

²⁾According to AIN-93G diet composition.

³⁾AIN-93G-VX vitamin mixture (MP Biomedicals, LLC, Illkirch, France).

⁴⁾p.o. injection.

준하여 측정하였다. 시료를 nickel 도가니에 칭량한 다음, 0.5 M의 NaOH 용액을 2.0 mL 주입하여 혼합한 후 도가니를 hot plate 위에 놓고 증발, 건조시킨 뒤 550°C에서 5시간 동안 연소시켰다. 도가니를 냉각한 다음, 증류수 7.0 mL 가하여 시료 용액을 15.0 mL conical tube에 옮기고 pH를 1.2 mol HCl 용액으로 pH 7.5까지 조절한 후 10.0 mL에 정용하였다. 이 중 2.0 mL를 취하여 TISAB III (total ionic strength adjust buffer III) 용액 0.2 mL 가한 후 완전히 혼합하여 불소이온전극(9609 BNWP and 960900 fluoride combination electrode, Thermo Scientific, U.S.A.)을 pH/mv 메타(Orion dual star, pH/ISE benchtop, Thermo Scientific, U.S.A.)와 연결하여 측정하였다. 시료의 불소 함량은 불소 이온의 sodium fluoride 표준검량곡선에 의하여 정량(Jin et al., 2018)하였다.

2.7. 통계 처리

분석 결과의 통계처리는 실험군 당 평균치의 표준편차를 계산하였고, 군간의 유의적인 차이는 one-way ANOVA로 분석 한 뒤 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 간의 유의성을

검정하였다. 통계처리에 대한 프로그램은 IBM SPSS statistic ver. 22를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Alkaline phosphatase (ALP) 활성

실험에 사용된 흰쥐 혈청에서의 alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) 활성은 Fig. 1과 같다. NaF 경구 투여군인 NF3~NF50군에서의 ALP활성은 28.5~37.9 unit/mL으로 나타났으며, 기본식을 급여한 대조군인 ND군의 ALP 활성 27.8 ± 1.1 unit/mL 보다 NF3군과 NF5군을 제외하고 유의적인 차이를 보이며 높게 나타났다($p < 0.05$). 또한 투여한 NaF 농도가 증가함에 따라 ALP 활성이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. ALP는 간세포의 담관에 존재하는 효소로서 이상지질혈증이나 담즙산 배설 장애 등에 의한 간 세포 손상 시 그 수치가 증가하여 만성 감염, 간 경변 등의 간 기능 검사의 지표로 사용 된다고 알려져 있다(Kaplan and Righetti, 1970; Ooi et al., 2007). 또한 골 형성을 자극하여 골절, 성장 등의 이유로 조골세포(osteoblast)를 합성할 때 ALP 활성이 증가한다고 알려져 있다(Wergedal and Baylink,

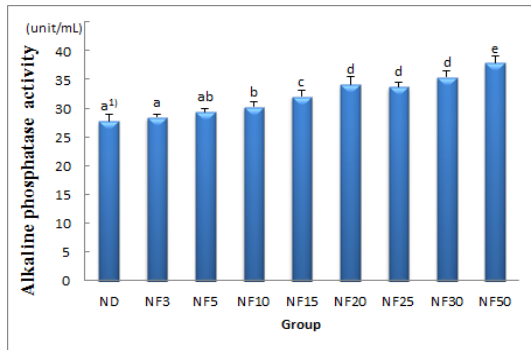


Fig. 1. Effects of sodium fluoride on alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) activities in serum of experimental rats.

¹⁾The values are means±standard deviation ($n=6$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

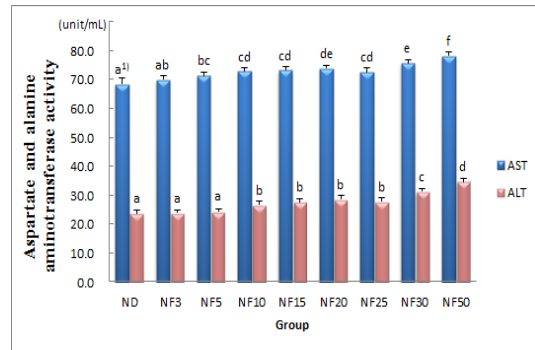


Fig. 2. Effects of sodium fluoride on aspartate and alanine aminotransferase (AST, EC 2.6.1.1 ; ALT, EC 2.6.1.2) activities in serum of experimental rats.

¹⁾The values are means±standard deviation ($n=6$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

1983; Anderson et al., 2004; Eune et al., 2005). Krook and Minor(1998)의 연구에서는 불소를 이용한 골다공증 치료에서 불소는 강력한 효소 독으로 작용하여 불소에 의한 세포 손상으로 인해 ALP 활성이 증가하였다고 보고하였다. 이에 본 실험 결과 또한 흰쥐에게 경구 투여한 불소에 의한 독성으로 ALP 활성이 증가하였다고 판단되며 NaF 농도에 따른 ALP 활성 증기를 관찰할 수 있었다.

3.2. Aminotransferase (AST, ALT) 활성

흰쥐 혈청 중의 aspartate aminotransferase (AST, EC 2.6.1.1) 및 alanine aminotransferase (ALT, EC 2.6.1.2) 활성은 Fig. 2에 나타내었다. ND군과 NaF 경구 투여군(NF3~NF50)에서의 AST 및 ALT 활성은 NaF 투여한 농도가 증가할수록 활성이 증가하는 경향으로 나타났으며, 대조군인 ND군의 AST 및 ALT 활성은 각각 68.5 ± 1.9 unit/mL, 23.8 ± 1.2 unit/mL로 가장 낮은 활성이 관찰되었다. 대조군인 ND군과의 유의적인 차이는 AST 활성에서 NF5군 이상에서 나타났으며, ALT 활성에서는 NF10군부터 나타났다($p<0.05$). NF50군에서 AST 활성이 78.2 ± 1.2 unit/mL, ALT 활성 34.7 ± 1.2 unit/mL로 가장 높은 활성이 관찰되었다. AST 및 ALT는 간, 심장, 신장, 뇌 등에 존재하는 효소로 주로 알코올성 간염, 지방간, 간 세포 손상 등 세포독성에

의해 활성이 증가하며(Clark et al., 2003; Kim et al., 2004), Vozarova et al.(2002)의 연구에서 높은 ALT 활성은 제 2형 당뇨병 위험의 바이오마커가 될 수 있으며 간 기능 저하는 당뇨병 발병 기전의 잠재적인 역할을 한다고 보고하였다. Zabulyte et al.(2007)은 흰쥐에게 90 일 간 NaF 10 mg/kg을 노출한 뒤 혈액 및 조직학적 검사를 통해 AST 및 ALT 활성 상승 및 신장 기능 장애가 발생한 것을 발견하였다고 한다. 이에 본 실험 결과 NaF 경구 투여 시 AST, ALT 활성이 증가하는 것으로 보아 불소는 간세포에 대한 독성이 있으며, 나아가 당뇨병 등 생활습관병의 잠재적 위험이 될 수 있는 것으로 판단된다.

3.3. Lactate dehydrogenase (LDH) 활성

흰쥐 혈청 중 lactate dehydrogenase (LDH, EC 1.1.1.27) 활성은 Fig. 3에 나타내었다. 대조군인 ND군에서의 LDH 활성은 934.2 ± 18.2 unit/mL로 NF3군(955.6 ± 18.1 unit/mL)과 NF5(959.8 ± 17.8 unit/mL)군을 제외한 다른 군에 비해 유의적으로 낮게 관찰되었으며($p<0.05$), NF10군(977.3 ± 18.9 unit/mL)부터 LDH 활성은 경구 투여한 NaF 농도가 증가함에 따라 LDH 활성 또한 증가하여 NF50군(1057.3 ± 22.4 unit/mL)에서 유의적으로 가장 높은 활성이 관찰되었다($p<0.05$). LDH 활성은 이상지질혈증의 발생과 지방간으로 인한 담즙 분

비 장애에 의한 것으로 알려져 있다(Kim, 1980; Kim, 2006). 또한 중앙세포, 간세포와 같이 LDH를 내포한 조직이 파괴될 때 LDH를 혈액 증으로 방출하여 세포독성 및 Tumor Necrosis Factor (TNF)의 활성화에 LDH 수치가 이용되는 것으로 보고되어 있다(Decker and Lohmann-Matthes, 1988). 간 손상의 정도는 ALP, AST, ALT 및 LDH 등 여러 효소를 간 손상 지표로 사용되며(Wu et al., 2004), 그 중 LDH는 혈액에서의 질소 산화물 저항, 지속발기증, 다리 꺾양, 폐 고혈압, 겸상 적혈구 빈혈과 같은 바이오 마커로 사용될 수 있다고 보고되고 있다(Kato et al., 2006). Chan et al.(2013)의 연구에서는 세포 내 효소 LDH의 방출을 측정함으로써 단계적인 세포괴사 검출의 유용한 방법을 제시하였다. 이에 본 연구에서 NaF를 투여함에 따라 LDH 활성이 증가하는 것으로 보아 NaF가 세포 독성을 나타내는 것으로 사료된다.

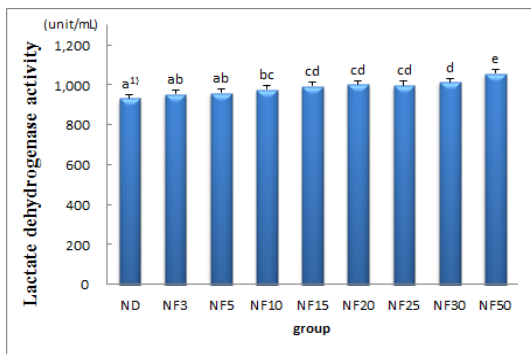


Fig. 3. Effects of sodium fluoride on lactate dehydrogenase activity in serum of rats fed the experimental diets for 5 weeks.

¹⁾The values are means±standard deviation ($n=6$). Bars with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range tests.

3.4. 혈청 및 장기조직의 불소 함량

불소 함량 계산에 사용된 검량선은 Fig. 4에 표시하였으며(Jin et al., 2018), 흰쥐의 혈청 및 장기조직의 불소 함량은 Table 2에 나타내었다. 혈청 중 불소함량은 대조군인 ND군과 비교하였을 때 NF3군과 NF5군에서 유의적인 차이는 관찰되지 않았으나, NF10군부터 유의적 차이를 보이며 NaF 농도에 따라 불소 함량이 증가하였다($p<0.05$). 간장, 뇌, 심장, 폐, 신장에서의 불소함량은 모

든 NaF 경구 투여군에서 ND군에 비해 NaF 투여 농도에 따라 유의적으로 증가하였으며($p<0.05$), 혈청을 포함한 모든 장기에서의 불소 함량은 NF50군에서 가장 높게 관찰되었다. 대조군인 ND군과 50 mg의 NaF를 경구 투여한 NF50군의 불소함량을 비교하였을 때 혈청 2.4배, 간 3.1배, 뇌 1.8배, 심장 4.5배, 폐 3.5배, 신장 2.7배 증가하였으며, 이에 혈청 및 장기 조직에 불소가 축적되는 정도 차이가 있는 것으로 판단된다. NaF는 항산화 효소인 glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase 등의 활동뿐만 아니라, 여러 장기의 항산화 활성 저해와 지질 과산화 수준의 상승을 일으키는 원인이며 독성으로 인한 조직학적 변화를 일으키는 것으로 보고되고 있다(Manivannan et al., 2013; Hamza et al., 2015). 또한 불소 노출이 장기적으로 지속되면 골격 불소증(skeletal fluorosis)이 진행과 함께 골세포 미네랄 대사의 항상성에 영향을 주어 뼈의 기형, 척추 압박, 관절 움직임의 제한이 발생한다고 알려져 있다(Krishnamachari, 1985; Reddy et al., 2003). 이에 장기간의 불소 노출은 여러 장기에 축적되는 것으로 관찰되었으며, 이는 골격과 장기 기능의 손상을 초래하는 것으로 판단된다.

4. 결론

7주령된 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐에게 5주간의 농도별 NaF 경구 투여가 혈청 효소활성과 혈청 및 장기 조직의 불소 함량에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 본 실험을 실시하였다. 대조군인 ND군과 NaF 경구 투여처리군(NF3~NF50) 9가지 군으로 나누어 사육하였으며, 혈청 중 alkaline phosphatase (ALP), aminotransferase (AST, ALT), lactate dehydrogenase (LDH)의 효소 활성은 NaF 경구 투여 군에서 NaF 투여 농도 증가에 따라 활성이 증가하였으며, 고농도의 NaF 경구 처리 군에서 대조군인 ND군보다 유의적인 차이를 나타내며 증가하였다($p<0.05$). 흰쥐의 혈청 및 장기조직의 불소 함량 또한 NaF 투여 농도에 따라 불소 함량도 함께 증가하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과들을 미루어 볼 때, NaF 경구 투여는 농도의 증가에 따라 혈청 및 장기조직에 불소 축적 및 ALP, AST, ALT, LDH 효소활성을 증가시키는 것으로 관찰되어 여러 장기 조직에 독성을 유발하여 악영향을 미치는 것으로 나타났으며, 경구 섭취에 의

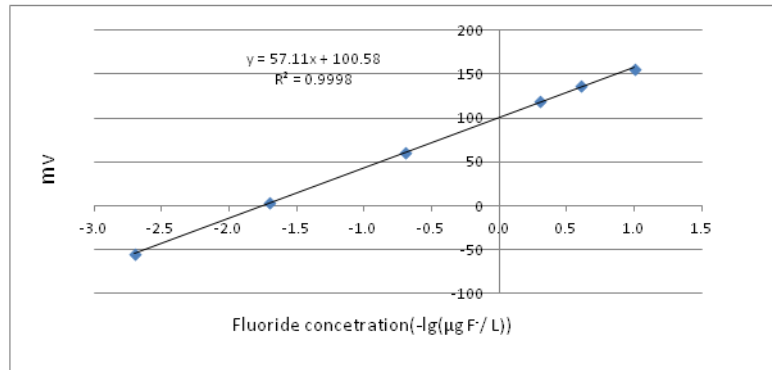


Fig. 4. Standard curve of fluoride standard solution.

Table 2. Determination of fluoride (F) contents in serum and tissue of the rats fed experimental diet for 5 weeks

Group	Serum	Liver	Brain	Heart	Lung	Kidney
	μg F/mL	μg F/g				
ND	0.31 ± 0.02 ^{a1)}	0.41 ± 0.02 ^a	2.74 ± 0.04 ^a	0.27 ± 0.04 ^a	0.95 ± 0.02 ^a	0.86 ± 0.03 ^a
NF3	0.30 ± 0.01 ^a	0.49 ± 0.03 ^b	3.22 ± 0.09 ^b	0.34 ± 0.01 ^b	2.10 ± 0.06 ^b	1.41 ± 0.01 ^b
NF5	0.33 ± 0.03 ^a	0.48 ± 0.04 ^b	3.34 ± 0.04 ^b	0.36 ± 0.01 ^b	2.17 ± 0.06 ^b	1.45 ± 0.04 ^b
NF10	0.47 ± 0.01 ^b	0.54 ± 0.02 ^b	3.58 ± 0.03 ^c	0.47 ± 0.06 ^c	2.33 ± 0.05 ^c	1.52 ± 0.01 ^c
NF15	0.50 ± 0.01 ^c	0.65 ± 0.04 ^c	4.00 ± 0.11 ^d	0.54 ± 0.01 ^c	2.41 ± 0.06 ^c	1.67 ± 0.08 ^d
NF20	0.53 ± 0.02 ^c	0.83 ± 0.03 ^d	4.35 ± 0.11 ^e	0.68 ± 0.03 ^d	2.89 ± 0.09 ^d	1.83 ± 0.02 ^c
NF25	0.60 ± 0.01 ^d	1.10 ± 0.03 ^e	4.44 ± 0.03 ^e	0.75 ± 0.02 ^e	2.89 ± 0.08 ^d	1.83 ± 0.04 ^c
NF30	0.67 ± 0.01 ^e	1.23 ± 0.01 ^f	4.63 ± 0.18 ^e	0.88 ± 0.11 ^e	3.14 ± 0.01 ^e	2.06 ± 0.11 ^f
NF50	0.74 ± 0.01 ^f	1.27 ± 0.02 ^e	5.01 ± 0.02 ^f	1.21 ± 0.01 ^f	3.28 ± 0.06 ^f	2.31 ± 0.02 ^e

¹⁾The values are means±standard deviation (n=6). Values with the different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range tests.

한 실험동물의 LD50 및 치사량 등의 검토가 시급한 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 부산대학교 기본연구지원사업(2년) 지원에 의하여 수행되었습니다.

REFERENCES

Anderson, H. C., Sipe, J. B., Hessle, L., Dharmyramaju, R., Atti, E., Camacho, N. P., Millan, J. L., 2004, Impaired calcification around matrix vesicles of

growth plate and bone in alkaline phosphatase-deficient mice, *Am. J. Pathol.*, 164(3), 841-847.
 Chan, F. K. M., Moriwaki, K., De Rosa, M. J., 2013, Detection of necrosis by release of lactate dehydrogenase activity, *Methods. Mol. Biol.*, 979, 65-70.
 Clark, J. M., Brancati, F. L., Diehl, A. M., 2003, The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States, *Am. J. Gastroenterol.*, 98(5), 960-967.
 Decker, T., Lohmann-Matthes, M. L., 1988, A Quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and Tumor Necrosis Factor (TNF) activity,

- J. Immunol. Meth., 115(1), 61-69.
- Dote, T., Kono, K., Usuda, K., Nishiura, H., Tagawa, T., Miyata, K., Shimahara, M., Hashiguchi, N., Senda, J., Tanaka, Y., 2000, Toxicokinetics of intravenous fluoride in rats with renal damage caused by high-dose fluoride exposure, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 73(1), S90-S92.
- Eune, J. J., Lee, E. S., Rim, J. S., Jang, H. S., Woo, H. I., 2005, Changes of serum alkaline phosphatase after enucleation of cysts in the jaws, *J. Kor. Assoc. Oral Maxillofac. Surg.*, 31(5), 417-421.
- Gessner, B. D., Beller, M., Middaugh, J. P., Whitford, G. M., 1994, Acute fluoride poisoning from a public water system, *N. Engl. J. Med.*, 330(2), 95-99.
- Ghosh, D., Das, S., Maiti, R., Jana, D., Das, U. B., 2002, Testicular toxicity in sodium fluoride treated rats: association with oxidative stress, *Reprod. Toxicol.*, 16(4), 385-390.
- Gillespie, R. J., Humphries, D. A., Baird, N. C., Robinson, E. A., 1989, *Chemistry*, second ed. Allyn and Bacon, Boston.
- Hamza, R. Z., El-Shenawy, N. S., Ismail, H. A., 2015, Protective effects of blackberry and quercetin on sodium fluoride-induced oxidative stress and histological changes in the hepatic, renal, testis and brain tissue of male rat, *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.*, 26(3), 237-251.
- Jin, D. H., Oh, D. Y., Lee, Y. G., Kang, D. S., Kim, H. S., 2018, Effects of antarctic ocean krill (*Euphausia superba*) supplementation on hepatic functional enzyme activities and fluoride levels in rats, *J. Oil Applied Sci.*, 35(2), 485-491.
- Kato, G. J., McGowan, V., Machado, R. F., Little, J. A., Taylor, J., Morris, C. R., Nichols, J. S., Wang, X., Poljakovic, M., Morris Jr, S. M., Gladwin, M. T., 2006, Lactate dehydrogenase as a biomarker of hemolysis-associated nitric oxide resistance, priapism, leg ulceration, pulmonary hypertension, and death in patients with sickle cell disease, *Blood*, 107(6), 2279-2285.
- Kaplan, M. M., Righetti, A., 1970, Induction of rat liver alkaline phosphatase: the mechanism of the serum elevation in bile duct obstruction, *J. Clin. Invest.*, 49(3), 508-516.
- Kim, H. C., Nam, C. M., Jee, S. H., Han, K. H., Oh, D. K., Suh, I., 2004, Normal serum aminotransferase concentration and risk of mortality from liver diseases: prospective cohort study, *BMJ*, 328(7446), 983-988.
- Kim, H. S., 2006, Effects of the *Saururus chinensis* Baill hot-water extract intake on the lipid components and metabolic enzyme activities in hyperlipidemic rats, *Kor. J. Exer. Nutr.*, 10(2), 99-106.
- Kim, H. S., Kim, M. A., Jang, S. H., 2014, Influences of Korean haw (*Crataegus pinnatifida* Bunge) on lipid concentration in hypercholesterolemia, *J. Environ. Sci. Int.*, 23(5), 793-800.
- Kim, K. H., 1980, *The clinical application of the result of the test*, Ko Moon sa, Seoul, Korea, 164-176.
- Krishnamachari, K. A., 1985, Skeletal fluorosis in humans: a review of recent progress in the understanding of the disease, *Prog. Food Nutr. Sci.*, 10(3-4), 279-314.
- Krook, L., Minor, R. R., 1998, Fluoride and alkaline phosphatase, *Fluoride*, 31(4), 177-182.
- Manivannan, J., Sinha, S., Ghosh, M., Mukherjee, A., 2013, Evaluation of multi-endpoint assay to detect genotoxicity and oxidative stress in mice exposed to sodium fluoride, *Mutat. Res.*, 751(1), 59-65.
- Merck index (tenth edition), 1983, Merck Co. Inc., NJ, USA, 8459.
- Mittal, M., Flora, S. J. S., 2006, Effects of individual and combined exposure to sodium arsenite and sodium fluoride on tissue oxidative stress, arsenic and fluoride levels in male mice, *Chem. Biol. Interact.*, 162(2), 128-139.
- Mullenix, P. J., Denbesten, P. K., Schunior, A., Kernan, W. J., 1995, Neurotoxicity of sodium fluoride in rats, *Neurotoxicol. Teratol.*, 17(2), 169-177.
- Ooi, K., Shiraki, K., Morishita, Y., Nobori, T., 2007, High-molecular intestinal alkaline phosphatase in chronic liver diseases, *J. Clin. Lab. Anal.*, 21(3), 133-139.
- Pollick, H. F., 2013, Water fluoridation and the environment: current perspective in the United States, *Int. J. Occup. Environ. Health*, 10(3), 343-350.
- Reddy, G. B., Khandare, A. L., Reddy, P. Y., Rao, G. S., Balakrishna, N., Srivalli, I., 2003, Antioxidant defense system and lipid peroxidation in patients with skeletal fluorosis and in fluoride-intoxicated rabbits, *Toxicol. Sci.*, 72(2), 363-368.
- Singer, L., Ophaug, R., 1979, Total fluoride intake of

- infants, *Pediatrics*, 63(3), 460-466.
- Urbansky, E. T., 2002, Fate of fluorosilicate drinking water additives, *Chem. Rev.*, 102(8), 2837-2854.
- US Public Health Service, 1991, Review of fluoride benefits and risks: executive summary: report of the Ad Hoc subcommittee on fluoride of the committee to coordinate environmental health and related programs, Washington, DC, Dep. Health Human Service, 1-134.
- Vozarova, B., Stefan, N., Lindsay, R. S., Saremi, A., Pratley, R. E., Bogardus, C., Tataranni, P. A., 2002, High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes, *Diabetes*, 51(6), 1889-1895.
- Wang, A. G., Xia, T., Ru, R., Yuan, J., Chen, X., Yang, K., Yang, K., 2004, Antagonistic effect of selenium on oxidative stress, DNA damage, and apoptosis induced by fluoride in human hepatocytes, *Fluoride*, 37(2), 107-116.
- Wang, Y. N., Xiao, K. Q., Liu, J. L., Dallner, G., Guan, Z. Z., 2000, Effect of long term fluoride exposure on lipid composition in rat liver, *Toxicol.*, 146(2), 161-169.
- Wergedal, J. E., Baylink, D. J., 1983, Fluoride directly stimulates proliferation and alkaline phosphatase activity of bone-forming cells, *Science*, 222(4621), 330-332.
- Whitford, G. M., 1994, Intake and metabolism of fluoride, *Advances Dental Res.*, 8(1), 5-14.
- Wu, H. J., Chen, K. Y., Shee, B. W., Chang, H. C., Huang, Y. J., Yang, R. S., 2004, Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters, *World J. Gastroenterol.*, 10(18), 2711-2714.
- Xiong, X., Liu, J., He, W., Xia, T., He, P., Chen, X., Yang, K., Wang, A., 2007, Dose-effect relationship between drinking water fluoride levels and damage to liver and kidney functions in children, *Environ. Res.*, 103(1), 112-116.
- Zabulyte, D., Uleckiene, S., Kalibatas, J., Paltanaviciene, A., Jascaniniene, N., Stosik, M., 2007, Experimental studies on effect of sodium fluoride and nitrate on biochemical parameters in rats, *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 51(1), 79-82.

• 김한수, 부산대학교 식품공학과 교수
kimhs777@pusan.ac.kr