

# 자동산화 Methyl Linoleate가 Mouse혈청의 효소활성에 미치는 영향(급성 독성)

白 台 鴻 \*鄭 樂 昇

漢陽大學校 自然大 化學科

\*仁濟大學 白病院 臨床病理室

## The Effect of Autoxidized Methyl Linoleate on the Serum Enzyme Activity in the Mouse (Acute Toxicity)

Tai Hong Paik, \*Nak Seung Chung

Department of Chemistry, Hanyang University

\*Department of Clinical Chemistry, Paik Hospital, In Je College

(Received October 5, 1984)

### Abstract

In order to investigate the acute toxicity of autoxidized methyl linoleate (AOML) on the activity of serum enzymes in the mouse, we administered once 0.45ml of AOML to ICR strain mouse by using stomach tube.

The following results were obtained:

The total lactic dehydrogenase (LDH) activities in the serum of AOML group were generally increased than those of normal group. According to electrophoresis, the activities of LDH<sub>1</sub> were increased while those of LDH<sub>2</sub> were decreased.

The activities of glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic-pyruvic transaminase (GPT) and  $\alpha$ -amylase in the serum of AOML group were increased more than those of normal group.

The activities of alkaline phosphatase in the serum of AOML group were increased but those of isozyme were not confirmed in the normal and AOML group.

In the serum protein of AOML group, albumin was increased, on the other hand  $\gamma$ -globulin was decreased.

At the peripheral blood slide smear, lymphocytes were significantly decreased but neutrophils were increased and the morphological change of erythrocytes was observed.

From these results we conclude that the AOML fed to mouse influences on the activity of various serum enzymes and blood cells in the mouse.

### I. 서 론

자동산화유의 독성 물질은 불포화 지방산의 과산화물과 그의 2차산화 생성물이라는 것은 잘 알려져 있으며,<sup>1) 2)</sup> 자동산화유의 독성 발현에 관한 연구도 생화학적인 측면에서 많이 연구되어 있다.

白登<sup>3) 4)</sup>은 자동산화 methyl linoleate를 mouse에 경구 투여 하였을 때 간, 소장, 폐 및 신장에 미치는

영향을 조직화학적인 방법으로 구명한 바 있으며, 또한 Hanson<sup>5)</sup>은 과산화지질이 조직내에서 많은 효소들의 활성에 영향을 미쳐 세포막에 손상을 준다고 보고 하고 있다. Tappel<sup>6) 7)</sup> 등은 동물의 체내에서도 과산화지질이 생성되어 단백질 및 효소등을 파괴하며 특히 glucose-6-phosphatase 및 cytochrome-C reductase등의 활성을 저해시킨다고 하였다.

Wills<sup>8) 9)</sup>는 과산화지질이 in vitro에서 thiol (-SH)

기를 함유한 효소 단백질에 대하여 강한 저해 작용을 나타내며, 간장에서의 과산화지질은 세포 구조에 영향을 주어 glucose-6-phosphatase의 활성을 저해시킨다고 보고 하고 있다.

O'Brien 등<sup>10</sup>은 linoleic acid hydroperoxide는 mitochondria를 swelling시켜 ATPase의 활성을 저하시킴으로서 mitochondria respiration을 저해한다고 하였으며, 吉岡 등<sup>11</sup>은 자동산화유를 흰쥐에 투여하였을 때 간장내 succinic dehydrogenase와 thiokinase 등의 효소 활성을 저해한다고 보고 하고 있다.

그러나, 자동산화유를 동물에 투여했을 때 동물 혈액의 각종 효소 활성에 미치는 영향에 관한 보고는 그리 많지 않다. 따라서, 본 실험에서는 자동산화 methyl linoleate가 혈청에서의 각종 효소 활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 자동산화 methyl linoleate를 mouse에 경구 투여한 후 혈청에서의 lactic dehydrogenase(LDH), alkaline phosphatase(ALP), glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT),  $\alpha$ -amylase 등의 효소 활성을 측정하고, 단백질 조성의 변형과 말초 혈액 도말 표본상 등을 검토하였다.

## II. 실험 방법

### 1 재 료

#### (1) 시료의 조제

자동산화 methyl linoleate (autoxidized methyl linoleate; AOML)는 순수한 methyl linoleate(Tokyo Chemical Ind. Co. 제)를 둥근 바닥 플라스크에 넣고 공기 공급 모터를 사용하여 매초 7.84ml의 공기를 불어 넣어주면서 60±1°C 수조상에서 35시간 자동산화시켜 조제하였다. 이 때 산화 정도를 파악하기 위하여 5시간 간격으로 시료를 채취하여 peroxide value(POV)<sup>12</sup> 및 carbonyl value(COV)<sup>13</sup>를 측정하였다.

#### (2) 동물 실험

체중 20g 정도의 생후 4주된 ICR계 mouse를 성의 구별 없이 정상군(normal)군 10마리, 실험군(AOML군) 10마리를 각각 1군으로하여 실험군에는 자동산화 methyl linoleate를 0.45ml, 정상군에는 증류수 0.45ml를 stomach tube를 사용하여 1회 경구 투여하였다.

실험 동물은 시료의 투여 전 시판 고형 사료를 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 시료 투여 직전과 해부직전에 각각의 체중을 측정하였다.

시료 투여 약 4시간 경과후 AOML군의 일부 mouse는 급성 중독에 의하여 빈사상태로 되었으며, 이때 부터 각 mouse를 AOML군, 정상군의 순서로 ethyl ether로 마취하여 심장 채혈하였다. 한편, 마

취한 mouse의 꼬리 끝 1cm를 절단하여 스며나오는 혈액을 slide glass에 묻혀 혈액 도말 표본용 blood smear를 만들었다.

모든 검체는 채혈 후 3시간 이내에 원심분리기로 3,000rpm에서 혈청을 분리하여 마개를 하고 효소 활성을 측정할 때까지 냉장고에 보존하였다.

## 2 방 법

### (1) 혈청의 효소 활성도 측정

#### ① 총 LDH, GOT, GPT 및 ALP의 활성도

총 LDH 활성<sup>14</sup>은 혈청 5  $\mu$ l와 기질 용액 St-azyme LDH 50(Worthington Diagnostic Co. 제) 1 vial을 증류수 50ml에 녹인 용액 500  $\mu$ l, GOT 및 GPT 활성<sup>15,16</sup>은 혈청 5  $\mu$ l와 기질 용액 AST 14와 ALT 14(Gilford Diagnostic Co. 제) 1 vial을 증류수 14ml에 녹인 용액 500  $\mu$ l를 자동 분석기 Gilford 203-S(Gilford Lab. Co. 제)를 사용하여 37°C, 340nm에서 흡광도를 측정하였다. ALP의 활성<sup>17,18</sup>은 혈청 5  $\mu$ l와 기질 용액 ALP14(Gilford Diagnostic Co. 제) 1 vial을 증류수 14ml에 녹인 용액을 사용하였으며, 405nm에서 위와 같은 방법으로 흡광도를 측정하였다. 이때의 효소의 활성도는 모두 I.U. 단위로 나타내었다.

#### ② $\alpha$ -Amylase의 활성도<sup>19,20</sup>

시험관 2개에  $\alpha$ -amylase 측정용 기질 용액(KR C. Co. 제 kit)을 각각 1.0ml넣고 37°C에서 5분간 가온한 후, 시험용 시험관에는 증류수 0.005ml를, 대조용 시험관에는 증류수 0.005ml를 가하고 정확히 7분30초 후에 0.01N 요오드 용액을 1.0ml씩 가하였다. 시험관을 수조에서 꺼내어 증류수 5.0ml씩을 가하고 spectro photometer Stasar III(Gilford Lab. Co. 제)로 파장 660nm에서 증류수를 blank로 하여 흡광도를 측정하였다. 이때  $\alpha$ -amylase의 활성도는 다음식으로 계산하여 Somogyi unit로 나타내었다.

$$\alpha\text{-Amlase (U)} = \frac{\text{ODC} - \text{ODT}}{\text{ODC}} \times 3,200$$

ODC: 대조용 시험관의 흡광도

ODT: 시험용 시험관의 흡광도

### (2) LDH 및 ALP isozyme의 전기 영동

#### ① LDH isozyme<sup>21,22</sup>의 전기 영동

전기 영동용 buffer용액은 Electra HR buffer(Helena Lab. Co. 제) 1 pkg를 증류수 1,750ml에 용해하여 사용하였다.

cellulose acetate plate ISO-VIS(Helena Lab. Co. 제) 2매를 위의 buffer용액에 담갔다 꺼내어 1매에는 약 5  $\mu$ l의 혈청을 applicator(Helena Lab. Co. 제)로 묻힌 다음 혈청이 묻힌 쪽을 음극이 되도록 영동장치에 올려놓고 300V에서 10분간 영동시켰다.

나머지 1매는 영동이 끝나기 직전에 꺼내어 물기를 제거한후 LDH발색시약 LD-VIS isozyme (Helena Lab. Co. 제)를 고르게 묻힌 다음 영동이 끝난 plate와 밀착시켜 미리 가온한 금속판으로 누른 후 37°C에서 15분간 incubation 시켰다. 발색된 plate는 마르기 전에 자동 densitometer Flur-VIS Autoscaner (Helena Lab. Co. 제)를 사용하여 570nm에서 scanning 하였으며, 각 isozyme의 활성도는 scanning graph로 부터 각 isozyme의 백분율을 구하고 총 LDH 활성도를 기준으로 하여 계산하였다.

② ALP isozyme<sup>23,24</sup>의 전기 영동

전기 영동용 buffer용액은 Electra HR buffer 1 pkg를 증류수 750ml 에 용해하여 사용하였으며, 전기 영동은 LDH isozyme의 경우와 같은 방법으로 180V에서 30분간 실시하였다. ALP의 발색은 ALP Flur-ViS set (Helena Lab. Co. 제)를 사용하여 LDH isozyme의 발색경우와 같은 조작을 하여 37°C에서 30분간 incubation시켰다. 발색이 끝난 plate는 37°C에서 건조시킨후 610nm에서 scanning 하였다.

(3) 혈청 단백질의 전기 영동

cellulose acetate plate TitanIII (Helena Lab. Co. 제) 1매를 사용하여 LDH isozyme의 경우와 동일한 요령으로 혈청을 묻힌 다음, 180V에서 10분간 영동 시켰으며, 이때 buffer용액은 Electra HR buffer 1 pkg를 증류수 750ml 에 용해시킨 것을 사용하였다. 영동이 끝난 plate는 Ponceau S 0.5% 용액 (Helena Lab. Co. 제)에 담가 5분간 염색한후 5% acetic acid를 사용하여 2분간씩 4회 옮겨가며 여분의 염색액을 제거시킨뒤 absolute methanol에서 5분간 탈수 시켰다. pure acetic acid 30 vol. 과 absolute methanol 70 vol. 을 혼합한 용액에 clear aid (Helena Lab. Co. 제)를 약 4% 첨가한 clearing solution에 3~5분간 담근다. 투명해진 plate는 50~60°C의 incubator에서 건조시킨후 525nm filter를 사용하여 scanning하였다.

(4) 말초 혈액의 도말 표본

해부 직전에 mouse의 꼬리 끝 1cm 부위를 절단하여 채취한 혈액으로 만든 blood smear는 상법에 따라 Wright's<sup>25</sup> 염색을 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 시료의 특성

본 실험에 사용한 시료는 Table 1 과 같이 hydroperoxide와 그의 2차 산화 생성물을 함유한 것이었다.

Table 1. The Characteristics of Autoxidized Methyl Linoleate

Sample	POV <sup>a)</sup> (meq/kg)	COV <sup>b)</sup> (meq/kg)
AOML <sup>c)</sup>	3,520.36	2,228.32

a) Peroxide Value  
b) Carbonyl Value  
c) Autoxidized Methyl Linoleate

2. 육안으로 본 독성의 출현

실험군인 AOML군 mouse는 1시간 후부터 호흡이 거칠어지고 약 4시간 후에 심한 설사를 하였으며, 일부는 빈사직전의 상태에 있었다. 시료 투여 전과 시료 투여 4시간 후인 도살 직전에 측정된 정상군과 AOML군의 체중의 변화는 Table 2와 같다.

Table 2. Changes of Body Weight for 4 Hours after Oral Administration of AOML

Group	Body Weight (g)		
	Initial	Final	Change
Normal	20.43±0.78	21.08±0.91	0.65±0.47*
AOML	20.02±1.20	18.40±1.42	1.62±0.88**

Values are expressed as mean±SD (g) for ten mice.

\* Increase of Body Weight

\*\* Decrease of Body Weight

정상군에서 3.1%의 체중 증가를 나타낸 반면, AOML군에서는 독성의 발현에 따른 약 8.9%의 체중 감소를 나타내었다.

해부시의 외관상 소견으로는 정상군에 비하여 AOML군에서 장관이 투명하게 보였으며, 탄력감이 감소되고 있었다.

또한, 심장 채혈시 AOML군은 정상군에 비하여 채취 혈액량이 적었으며, 혈청 분리시 약간의 용혈 현상을 관찰할 수 있었다.

3. 혈청 효소의 활성도

정상군 및 AOML군에서 혈청의 효소 활성도를 측정할 값은 Table 3 과 같다.

Table 3. Effects of AOML on Serum Enzyme Activity of Mice

Enzyme	Normal	AOML
LDH <sup>a)</sup>	3,279.78±833.60	4,814.23±1,031.07
ALP <sup>b)</sup>	118.59±37.71	235.80±56.84
GOT <sup>c)</sup>	763.01±217.33	1,391.13±488.56
GPT <sup>d)</sup>	110.85±34.45	164.79±48.16
Amylase <sup>e)</sup>	1,911.90±200.05	2,264.47±388.69

Values are expressed as mean±SD.

Enzyme activities are expressed with I.U. except amylase.

Amylase activity is expressed with Somogyi unit.

- a) Lactic dehydrogenase
- b) Alkaline phosphatase
- c) Glutamic-oxaloacetic transaminase
- d) Glutamic-pyruvic transaminase

혈청의 총LDH 활성도를 자동 분석기로 측정 한 값은 Table 3 과 같이 정상군에 비하여 AOML군에 서 약 50%의 증가를 나타내었으며, LDH의 전기 영동상은 Fig. 1 및 Fig. 2 와 같이 정상군과 AOML군에서 모두 5 개씩의 LDH isozyme 분획이 나타났으며, 이것을IUB의 CBN 명명법에 따라 명명하였다.

전기 영동 plate를 densitometer에서 scanning하여 구한 LDH isozyme의 백분율은 Table 4 와 같다. AOML군에서는 정상군에 비하여 LDH<sub>1</sub>과 LDH<sub>2</sub>는 증가하였으나 LDH<sub>3</sub>와 LDH<sub>4</sub>는 변동이 없었으며 LDH<sub>5</sub>는 감소하고 있었다.

LDH는 산화-환원 반응을 촉매하는 효소로서 에너지를 많이 필요로 하는 장기 조직에 존재하며, LDH의 H subunit는 호기성 대사를 주로 하는 조직에 많고, M subunit는 혐기성 대사를 주로하는 조직에 많이 함유되어 있다. Table 4에서 LDH<sub>5</sub>(M<sub>4</sub>)에 대한 LDH<sub>1</sub>(H<sub>4</sub>)의 백분율을 구하여 보면 정상군에서는 30.9%인데 반하여, AOML 군에서는 약 60.3%로 약 2 배의 증가를 나타내었다. 따라서, 호기성 조직에서 유출된 LDH의 비율이 크게 증가하고 있음을 알 수 있었다.

개개의 실험 동물에 대한 LDH isozyme의 백분율을 실제의 활성도 단위로 환산하여, 이것을 다시 각 군에서 분획별로 평균한 값은 Fig. 3 과 같다. AOML군에서 LDH isozyme의 활성도는 정상군에 비하여 모든 분획에서 증가함을 알 수 있었다. 그러나 증가된 LDH가 어느 장기에서 유래되는 것인지는 알 수 없었다.

혈청 ALP의 활성도를 자동 분석기로 측정 한 결과는 Table 3 과 같이 AOML군이 정상군에 비하여 약 2 배로 크게 증가하고 있었다.

ALP의 isozyme을 확인하기 위하여 정상군과 AO-ML군의 ALP를 전기 영동한 결과는 Fig. 4, Fig. 5 와 같이 단일한 분획으로 나타나 본 실험만으로는 ALP의 isozyme을 확인 할 수 없었다.

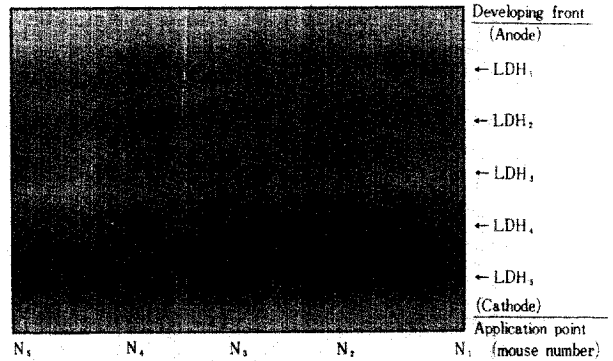


Fig. 1. Electrophoretogram of Serum LDH Isozymes for Each Mouse in Normal Group. N<sub>1</sub>-N<sub>5</sub>: Mouse number

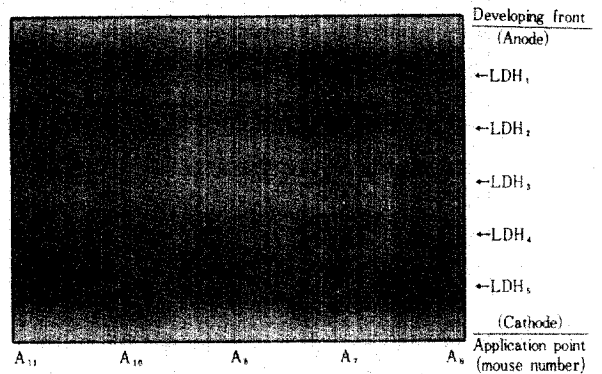


Fig. 2. Electrophoretogram of Serum LDH Isozymes for Each Mouse in AOML Group. A<sub>6</sub>-A<sub>11</sub>: Mouse Number.

Table 4. Effect of AOML on Serum LDH Isozymes of Mice Separated Cellulose Acetate Electrophoresis

Group	LDH <sub>1</sub>	LDH <sub>2</sub>	LDH <sub>3</sub>	LDH <sub>4</sub>	LDH <sub>5</sub>
Normal	13.39±2.50	15.67±3.02	15.41±2.97	12.37±1.42	43.31±3.50
AOML	20.40±2.61	15.32±2.45	14.92±3.29	15.51±2.35	33.84±3.70

Values are expressed as mean±SD (%) for eight mice.  
LDH: Lactic dehydrogenase.

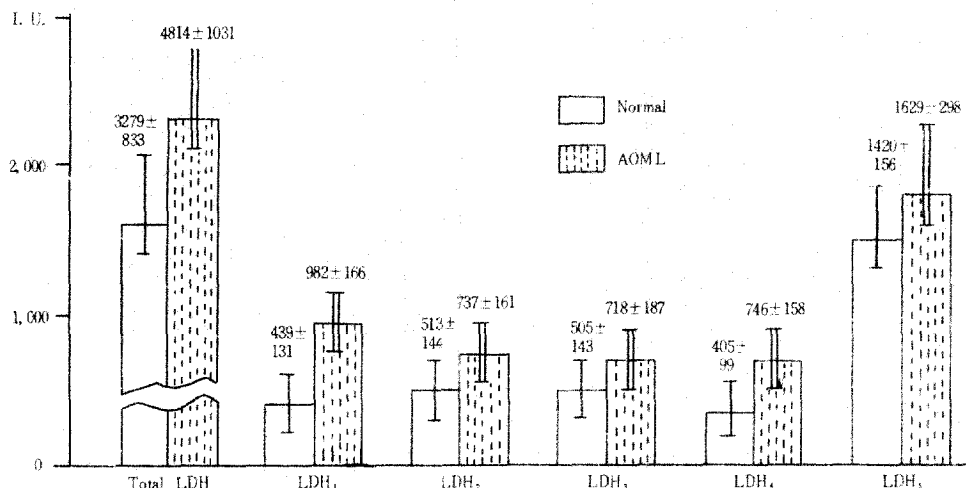


Fig. 3. A Conversion of LDH Isozymes to Total LDH Activity.

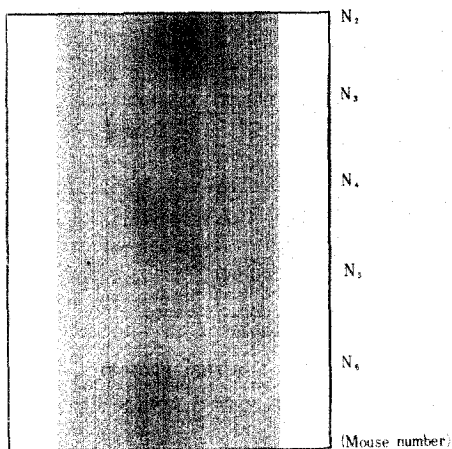


Fig. 4. Electrophoretogram of Serum ALP Activity for Each Mouse in Normal group.

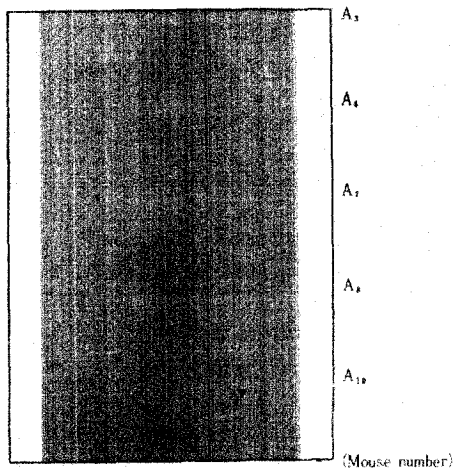


Fig. 5. Electrophoretogram of serum ALP activity for each Mouse in AOML group.

또한, 혈청의 GOT와 GPT를 측정된 결과는 Table 3 과 같이 AOML군에서는 정상군에 비해서 GOT는 약 100%, GPT는 약 50%의 증가를 나타내었다.

$\alpha$ -Amylase의 활성을 측정된 결과도 Table 3 과 같이 AOML군에서 정상군에 비하여 18.5%의 증가를 보였다.

이상의 결과를 종합해 보면 AOML을 투여한 실험군의 mouse혈청에 존재하는 LDH, ALP, GOT,

GPT 및  $\alpha$ -amylase의 활성은 모두 정상군에 비하여 크게 증가 됨을 알 수 있었다.

(4) 혈청 단백질의 전기 영동

한편, AOML에 의한 급성 독성이 mouse의 혈청 단백질 조성에 미치는 변동을 고찰하기 위하여 전기 영동을 실시한 결과 Fig. 7의 영동상을 얻었으며, 이것을 scanning하여 구한 혈청 단백질의 분획별 백분율은 Table 5와 같다.

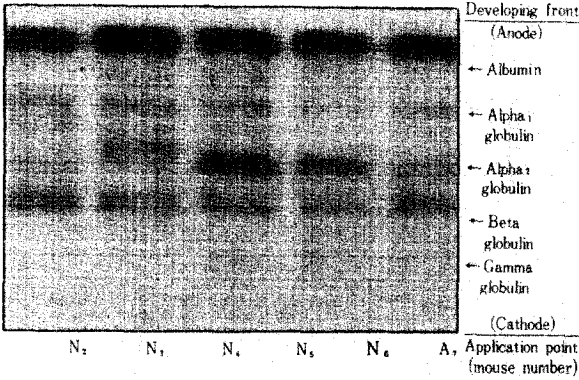


Fig. 6. Electrophoretogram of serum protein for each mouse in normal group. N<sub>2</sub>—N<sub>6</sub>: mouse number.

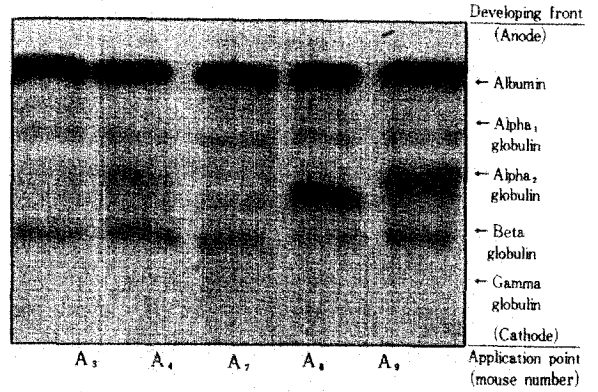


Fig. 7. Electrophoretogram of serum protein for each mouse in AOML group. A<sub>3</sub>—A<sub>9</sub>: mouse number.

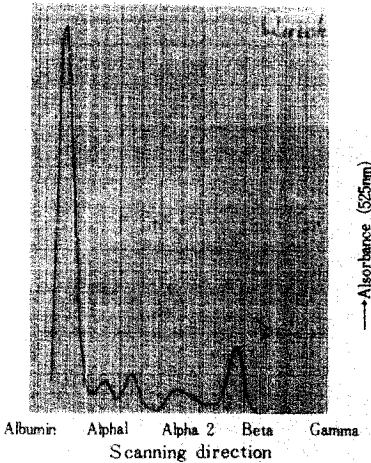


Fig. 8. Scanning graph of serum protein for A<sub>3</sub> mouse in AOML group.

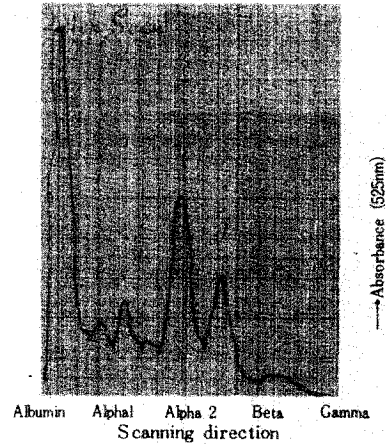


Fig. 9. Scanning group of serum protein for N<sub>4</sub> mouse in normal group.

Table 5. Effect of AOML on Serum Protein Contents of Each Mice by Cellulose Acetate Electrophoresis

Group	Albumin	$\alpha_1$ -Globulin	$\alpha_2$ -Globulin	$\beta$ -Globulin	$\gamma$ -Globulin
Normal	39.89±4.99	17.40±6.21	15.85±6.76	18.91±5.26	7.95±3.21
AMOL	48.91±5.09	12.97±2.61	18.22±7.47	15.61±4.38	4.60±3.35

Values are expressed as Mean±SD(%) for eight mice.

정상군에 비하여 AOML군에서는 albumin의 증가와  $\gamma$ -globulin의 감소가 뚜렷하였고,  $\alpha_2$ -globulin은 약간 증가하였으나,  $\alpha_1$ -globulin과  $\beta$ -globulin은 약간씩 감소하고 있었다 (Fig. 8, Fig. 9).

Albumin의 증가는 mouse에서 AOML의 독성에 의한 실사 및 체중 감소에 따른 혈액의 농축에 기인하는 것으로 생각되며, 한편 투여된 methyl linole-

ate의 체내 운반<sup>24)</sup>을 위한 증가 현상도 생각할 수 있으나 확실치 않다.

$\alpha_1$ -globulin은 proteinase 저해제인  $\alpha_1$ -antitrypsin이 주성분이기 때문에  $\alpha_1$ -globulin의 감소는  $\alpha_1$ -antitrypsin의 감소를 생각할 수 있었다.<sup>27) 28)</sup> 따라서, 각종 단백질 분해 효소의 활성을 증가시켜 AOML에 의한 조직 파괴를 상승시킬 가능성을 생각할 수 있었다.

또한,  $\alpha_2$ -macroglobulin은 혈관과 임파관에 존재하고 있는  $\alpha_2$ -globulin에 속하는 단백질로서 혈장의 proteinase 저해제의 하나이며, <sup>35</sup>S-혈액 응고나 혈선 용해에 관여하는 효소와도 관련이 있는 것으로 알려져 있다.<sup>30,31</sup> 따라서, 본 실험에서  $\alpha_1$ -globulin의 감소에 따른  $\alpha_2$ -globulin의 대상적인 증가를 생각할 수 있었다.李동<sup>32</sup>은 당뇨병 환자에서  $\alpha_2$ -macroglobulin과 과산화지질간의 상관 관계를 보고한 바 있다.

한편,  $\beta$ -globulin의 감소는 AOML의 대사 장애와 관련된  $\beta$ -lipoprotein과의 상관성이 예상된다. 특히, 대부분이 면역 globulin인  $\gamma$ -globulin의 뚜렷한 감소 현상은 AOML의 독성이 생체 면역 기전에도 큰 영향을 미칠것으로 생각되나  $\gamma$ -globulin감소의 확실한 원인은 알 수 없었다. 그러나,白<sup>33</sup>등은 과산화지질을 mouse에 경구 투여하였을 때 급성 독성은 일차적으로 소장 점막 및 응모 선단부에서 피사를 일으킨다고 보고하고 있으며,  $\gamma$ -globulin은 비수용성 glycoprotein으로 lymphocyte에 유래되며, 따라서 림파액에는  $\gamma$ -globulin의 농도가 높을 것이 예상되기 때문에<sup>34</sup> AOML의 독성에 의한 소장 점막 및 임파관의 장애는  $\gamma$ -globulin의 생성 및 혈액으로의 이행을 저지시킬 뿐만 아니라 설사로 인한 급격한 소실

등에 의하여  $\gamma$ -globulin의 감소를 초래하였을 가능성이 생각되었다. 또한, 白<sup>35</sup>등은 AOML을 경구 투여한 mouse간장에서는 총혈과 지방의 축적 현상이 나타난다고 보고 하고 있으며, 본 실험의 AOML군에서 폐, 심장, 소장의 팽배, 용혈 현상 및 혈액 응고 등이 나타난 것으로 보아 점도가 높은  $\gamma$ -globulin이 조직 사이 또는 미세 혈관의 혈전에 기인하여 축적됨으로써 혈류의 흐름을 방해하는 하나의 요인이 될뿐만 아니라 혈류로부터  $\gamma$ -globulin이 제거되는 원인이 될 수 있을 것으로 된다. 한편, 과산화물의 직접적인 작용이 혈청 단백질의 변성을 초래했을 가능성도 동시에 생각할 수 있다.

5. 말초 혈액 도말 표본상의 변화

혈액의 도말 표본상을 관찰한 결과는 Table 6과 같다.

정상군과 AOML군 공통으로 적혈구의 polychromasia 성상을 볼 수 있었고(Fig. 10, Fig. 11), normoblast도 관찰되었으나 이것은 본 실험에 사용한 동물이 미성숙한 까닭으로 생각되었다. 또한, 전반적으로 호중구의 핵이 다분엽화 경향이 두드러짐을 관찰할 수 있었으며, (Fig. 10), 미성숙 백혈구로 인정되는 atypical cell들도 관찰되었다. 한편, 혈소판은 전반적으로 고르게 분포되어 있지 않고 몰려

Table 6. Effect of AOML on the Leukocytes Differential Finding of Peripheral Blood in Mice

Group	Stab Neu.	N. seg.	Lymph.	Mono.	Eosino.	Baso.	Normoblast	Atypical cell
Normal	0.10±0.05	20.40±8.46	72.00±9.50	6.20±4.24	0.9±0.97	0.01±0.01	0.20±0.42	0.20±0.42
AMOL	0.01±0.05	61.50±6.29	34.92±6.88	3.00±2.26	0.25±0.45	0.01±0.01	0.09±0.03	0.33±0.65

Values are expressed as mean±SD (%) for ten mice.

- a) Stab Neutrophils
- b) Neutrophil Segment
- c) Lymphocytes
- d) Monocytes
- e) Eosinophils
- f) Basophils



Fig. 10. Neutrophil segments observed in the mouse of AOML group (Wright's stain, ×1,000).

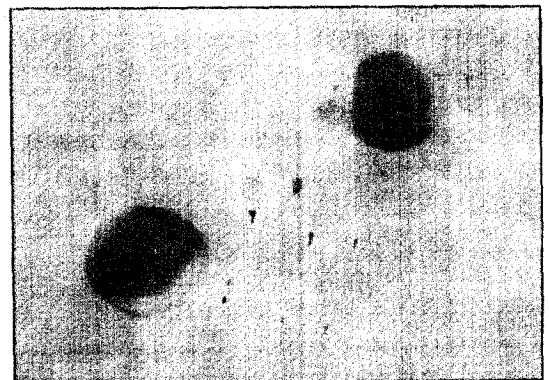


Fig. 11. Lymphocytes observed in the mouse of AOML group (Wright's stain, ×1,000).

있는 경향을 나타내었다. Table 6에서와 같이 특히, AOML군에서는 정상군에 비하여 lymphocyte의 현저한 감소와 neutrophil segment의 증가를 나타내고 있었다. Louis<sup>36)</sup> 등도 과산화지질은 lymphocyte의 파괴를 가져 온다고 보고 하고 있다. Lymphocyte 감소의 원인으로는 lymphocyte생성의 감소와 파괴, 제거 및 소실의 증가 등을 생각할 수 있으나<sup>37)</sup> 앞으로 더 구명되어야 할 것으로 생각된다.

한편, lymphocyte는 면역 항체의 생성에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있어,<sup>38)</sup> 본 실험에서 임파구의 현저한 감소를 나타낸 것으로 보아 자동산화유는 생체 면역 기전에 중대한 영향을 미칠 것으로 생각되며,  $\gamma$ -globulin의 감소와도 밀접한 관계가 있을 것으로 생각된다.

N. segment의 증가는 lymphocyte의 감소에 따른 백분율상의 상대적 증가로 생각되지만 도말 표본 관찰로는 N. segment의 절대수의 증가를 배제할 수는 없었다.

또한, AOML군에서는 적혈구의 모양이 변형되어 crenated된 것을 많이 볼 수 있어, AOML독성에 의한 용혈 현상과 관련이 있는 것으로 판단 되었다.

## 요 지

자동산화 methyl linoleate의 급성 독성이 mouse 혈청의 효소 활성에 미치는 영향을 구명하기 위하여, POV 3.520.36meq/kg, COV 2.228.32meq/kg인 자동산화 methyl linoleate 0.45ml를 ICR계 mouse에 1회 경구 투여하여 검토한 결과는 다음과 같다.

실험군에서는 정상군에 비하여 총 LDH의 활성이 증가하였으며, 전기 영동 결과 isozyme의 백분율은 LDH<sub>1</sub>이 증가한 반면, LDH<sub>2</sub>의 활성은 감소하였다. 그러나, LDH isozyme의 절대 활성단위는 5개 분획 모두에서 증가되었다.

또한 GOT, GPT,  $\alpha$ -amylase의 활성은 실험군에서 정상군에 비하여 모두 증가하였다.

Alkaline phosphatase의 활성도는 실험군에서 증가하였으나, isozyme은 확인되지 않았다.

혈청 단백질의 전기 영동상은 실험군에서 정상군에 비하여 albumin이 증가하였고,  $\gamma$ -globulin은 감소하였다.

말초 혈액의 도말 표본상에서는 임파구의 심한 감소를 볼 수 있었고, 상대적으로 호중구의 증가와 적혈구의 변형을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과로부터 자동산화 methyl linoleate는 mouse의 혈청 효소 및 혈구에 크게 영향을 미치고 있음을 알 수 있었다.

## 참 고 문 헌

1. 金田尚志, 石井清之助, 酒井壽惠, 荒井壽惠, 荒井君枝: 東海水研報, 12:1-75(1955), 日本誌, 20, 658(1954)
2. 吉岡倭子, 金田尚志: 油化學, 21:216(1972)
3. 白台鴻, 星野忠彦, 金田尚志, 營養と食糧, 29:(2), 85 (1976)
4. 白台鴻, 金田尚志: 油化學, 27(12):851(1978)
5. Hanson, N. W.: Chemistry and Industry Sep., 1541(1964)
6. Tappel, A. L.: Federation Proc., 32:1870(1973)
7. Tappel, A. L., Bidlack, W.R. Lipid, 8(4):177(1973)
8. Wills, E.D.: Biochem., 7:7-16(1961)
9. Wills, E.D.: Biochem. J., 123:983(1971)
10. O'Brien, P.J., Frazer, C.: 脂質 生化學 研究, 9:49-52(1967)
11. 吉岡倭子, 立化邦子, 金田尚志: 油化學, 23(5):327(1974)
12. International Union of Pure and Applied Chemistry, Standard Method for the Analysis of Fat and Oils(1954)
13. 熊澤恒, 大山保: 油化學: 14, 167(1965)
14. Wacker, W.E.C., Ulmer, D.D., and Vallee, B. L.: New Eng. J. Med., 225:449(1956)
15. International Federation of Clinical Chemistry., Clin. Chem. Acta., 61:F19-F42(1975)
16. Henry, R. J., Clinical Chemistry Principles and Technics., Harper Row., New York(1968)
17. Bowers, G. N. Jr., R. B: Clin. Chem., 12:70(1966)
18. The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology., Scand. J. Clin. Lab. Invest., 32:291(1974)
19. Caraway, W.T., Am. J. Clin. Pathol., 32:97(1959)
20. Martinek, R.G.: Clin. Chem. Acta., 9:590(1964)
21. Griffiths, J.C.: Clinical Engymology, Masson Publishing, U.S.A., Inc. (1979)
22. Markert, L.L. and Moller, F.: Proc. Nath. Acad. Sci. U.S., 45:753(1959)
23. Rhone, D.P., and Mizuno, F.M: Clin. Chem., 18:622-666(1972)
24. Rhone, D.P. and Mizuno, F. M.: Am. J. Clin.



- Path., 59:531-541 (1973)
25. Arthur Simmons.: Technical Hematology. 3rd. edit., J.B. Lippincott Co., 113 (1983)
  26. Robert, Scheig.: Duncan's Disease of Metabolism, 7th. Edit., W.B. Saunders Co., 373 (1974)
  27. Laurell, C.B. and Eriksson, S.: Scand. J. Chin. Lab. Invest., 15:132 (1963)
  28. Kahn, M. J.P., Schandevijl, W. and Philipi, G.: Clin. Chem. Acta., 80:513 (1977)
  29. Becker, C.G., Harpel, P.C., J. Exp. Med., 144, 1-9 (1976)
  30. Barrett, A. J., Starkey, P.M., Biochem. J., 133, 709 (1973)
  31. Harpel, P. C., Mesesson, M.W.: J. Clin. Invest., 52:2175 (1975)
  32. 李弘揆, 黃勝德, 柳亨俊, 朴性雨, 金聖權, 閔獻基, 崔秀峯: 대한 내과 학회 잡지, 23권 (6): 509 (1980)
  33. 白台鴻: Bulletin of Environmental Sciences., 1: 6, (1980)
  34. William, F. Ganong, Review of Medical Physiology, 7th Edit., Maruzen Asian Edition, 394 (1975)
  35. 白台鴻, 韓海旭, 李圭植, 鄭鎬三: Korea. J. Food & Nutrition. 12-2: 91 (1983)
  36. Louis, N.K., Jeremiah, S. and Ruth. P.: Nutrition and Atherosclerosis, Lea & Febiger (1976)
  37. William, J. Williams, Ernest Beutler, Allan J. Erslev, R. Wayne Rundles: Hematology, McGraw-Hill Book Co., 854 (1972)
  38. 秋浜哲雄, 臨床病理: 29 (1), :15 (1981)