

급성 간손상 실험동물에 Cyclohexanone 투여가 Oxygen Free Radical 대사효소 활성에 미치는 영향

김현희 · 조현성 · 윤종국[†]
계명대학교 자연과학대학 공중보건학과

Effect of Cyclohexanone Treatment on the Activities of Oxygen Free Radical Metabolizing Enzyme in the Liver Damaged Rats

Hyun-Hee Kim · Hyun-Sung Joh · Chong-Guk Yoon[†]
Dept. of Public Health, College of Natural Science, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

ABSTRACT

Effect of cyclohexanone treatment on the activities oxygen free radical and cyclohexanone metabolizing enzyme in acute liver damaged rats, was investigated. Acute liver damage was induced in rats with pretreatment of 50% CCl₄ in olive oil(0.1ml/100g body wt) intraperitoneally 3 times every other day. Cyclohexanone(1.56g/kg body wt, i.p.) was administered to the animals 24 hours after the last pretreatment of CCl₄. Rats were sacrificed at 4 hours after injection of cyclohexanone.

On the basis of liver weight/body weight(%), serum levels of alanine aminotransferase activity and hepatic protein content, cyclohexanone treatment to acute liver damaged animals led to the more enhanced liver damage.

On the other hand, injection of cyclohexanone to the rats led to the increased activities of hepatic cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase and xanthine oxidase. Furthermore, by treatment of cyclohexanone to the acute liver damaged rats hepatic xanthine oxidase activity was more increased than the CCl₄ treated rats. In case of oxygen free radical scavenging system, the hepatic glutathione content and the activities of hepatic glutathione S-transferase, catalase, superoxide dismutase were generally increased by injection of cyclohexanone to rats, and the hepatic glutathione content, catalase and alcohol dehydrogenase activities were more decreased in liver damaged rats by the treatment of cyclohexanone.

In conclusion, the cyclohexanone treatment to acute liver damaged rats led to enhancement of liver damage that may be due to oxygen free radical together with cyclohexanone.

Keywords: Liver Damaged Rats, Cyclohexanone, Cyclohexanone and Oxygen Free Radical Metabolizing Enzyme

I. 서 론

최근 산업발전에 따른 유해공해물질의 인체에 대한 폭로로 인하여 인간의 건강에 문제가 제기되고 있다. 특히 급·만성 간상해 환자들이 다양한 유해공해물질에 폭로시 간손상이 악화될 가능성이 있다고 생각되며, xylene¹⁾과 toluene²⁾ 같은

유해공해물질인 산업화학물질을 간손상이 유도된 실험동물에 투여 시 간손상이 심화된다는 사실이 이를 뒷받침해주고 있다. 산업화학물질로서 xenobiotics의 일종인 cyclohexanone은 나일론 합성의 부산물로서 유기용매 및 접착제로 많이 사용되고 있으며³⁾, 이 물질이 인체에 폭로 시 중추신경, 폐 및 피부독성을 야기시키는 것으로 보고⁴⁾되고 있으나 간중독에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

한편 사염화탄소(이하 CCl₄라 함)를 실험동물

[†] Corresponding author : Keimyung University
Tel : 053)580-5230, Fax : 053) 580-5164
Email : jky446@kmu.ac.kr

에 투여 시 간세포의 간손상이 야기되며 이는 간세포의 활면소포체에 존재하는 지용성 약물대사에 관여하는 복합산화기구에 의하여 CCl_4 가 trichloromethyl radical(이하 $\text{CCl}_3\cdot$)로 변화되며 이 free radical이 세포상해를 야기시킬 뿐만 아니라^{5,6)} 이의 triggering 작용(연쇄반응)에 의하여 생성된 oxygen free radical 역시 $\text{CCl}_3\cdot$ 과 더불어 세포상해를 유발시킨다고 한다^{7,8)}. 이러한 유해산소는 세포 내에 존재하는 해독계(scavenging system)에 의하여 무독화되는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 최근 채 등¹⁰⁾은 CCl_4 에 의한 간손상 실험동물의 피부에 toluene 도포로 인해 간손상이 심화되었으며 이는 toluene 대사역제로 인한 toluene 대사 중간생성물의 축적에 기인된다고 하였다. 그러나 xenobiotics에 의한 조직의 손상이 xenobiotics의 대사 중간생성물뿐만 아니라 대사과정에서 생성되는 free radical 중 유해산소에 의해서도 상당한 영향을 받는다는 보고⁷⁻⁹⁾가 있다. 특히 실험동물에 있어 cyclohexane 투여 시에 조직손상은 cyclohexane의 중간대사 생성물인 cyclohexanone(이하 CHO라 함)에 기인된다고 하며^{5,11)}, 전은 cyclohexane을 실험동물에 투여 시 상해조직세포에 있어서 oxygen free radical 대사계의 불균형이 초래된다고 하였다¹²⁾. 따라서 CCl_4 에 의한 간손상모델 실험동물에 CHO 투여시 간손상이 더욱 심화될 것이며 이는 oxygen free radical의 생성계와 해독계의 불균형에 기인될 것이라는 가설을 제시할 수 있다. 본 연구는 흰쥐에 CCl_4 를 투여하여 급성 간손상을 유도한 후 CHO를 1회 투여한 다음 4시간 후에 처치하여 간손상 정도를 확인함과 동시에 oxygen free radical 대사기구를 검토코자 하였다.

II. 연구방법

1. 실험동물의 사육 및 처치

실험동물은 체중 200g 내외의 외견상 건강한

Sprague-Dawley 종의 수컷 흰쥐를 시중에서 구입한 동물사료(삼양사 제품)로 사육하여 실험에 사용하였다. 실험동물 28마리를 각각 7마리씩 대조군, CHO 투여군, CCl_4 투여군 및 CCl_4 전처치 후 CHO 투여군(이하 CCl_4 전처치군)으로 분리하여 수용하였다. 이때 사육조건은 온도 $25\pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $50\pm 5\%$ 로 하여 실험기간동안 물과 사료를 제한없이 공급하였다.

CCl_4 는 CCl_4 를 olive oil과 1:1혼합액을 만들어 체중 100g당 0.1ml씩 1일 1회 2일 간격으로 3회 복강 내로 주사하였다. CHO 투여군의 경우 체중 kg당 CHO 1.56g을 1회 복강으로 투여하였고, CCl_4 전처치군은 CCl_4 마지막 24시간 후 CHO를 위와 같이 주사하였다. CHO 투여군과 CCl_4 전처치군에서 CHO 투여는 주사한 다음 4시간 후에 처치하였다.

동물의 처치는 ether 마취 하에 복부 정중선을 따라 개복한 다음 복부 대동맥으로부터 채혈하고 처치한 후, 4°C 생리식염수로 간을 관류시켜 간조직 내에 남아 있는 혈액을 제거한 다음 적출하였다. 적출한 간은 생리식염수를 문정액으로 주입하여 여지로 압박하고 간조직 내에 남아 있는 생리식염수를 가능한 모두 제거한 다음 무게를 칭량하였다. 채취한 혈액은 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻고 alanine aminotransferase 활성도 측정에 사용하였다.

2. 효소원의 조제

적출한 간조직 일정량에 4배량의 0.25M sucrose용액을 가하여 빙냉 하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄균질액(20% W/V)을 만들었다. 이 균질액을 $600\times\text{g}$ 에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 후 초원심분리기를 사용하여 $10,000\times\text{g}$ 에서 20분간 원심분리하여 얻은 mitochondria 분획을 얻고, 그 상층액은 $10,500\times\text{g}$ 에서 1시간 동안 원심분리하여 cytosol 분획과 microsome 분획을 얻었다. 마쇄균질액은 reduced glutathione 및 단백질함량

측정에 사용하였으며, mitochondria 분획은 catalase, cytosol 분획은 xanthine oxidase, glutathione S-transferase, superoxide dismutase 및 alcohol dehydrogenase 활성도 측정에 사용하였다.

3. 효소활성도 측정

1) Alanine aminotransferase(ALT) 활성도 측정
간조직 및 혈청 중 ALT 활성은 L-alanine과 α -ketoglutaric acid를 기질로 하여 효소시료와 함께 37°C에서 30분간 반응시킨 후 생성된 pyruvic acid를 alkali 조건에서 2,4-dinitrophenyl hydrazine과 반응시켜 발색되는 색조를 비색 정량하는 Reitman과 Frankel의 방법¹³⁾에 따라 측정하였다. 활성도 단위는 ml당 Karmen unit¹⁴⁾로 표시하였다.

2) Cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase(CYPdAH) 활성도 측정

간조직 중의 CYPdAH 활성은 aniline을 기질로 하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후, 유리되는 *p*-aminophenol을 phenol 시약으로 발색시켜 640nm에서 흡광도를 측정하는 Bidlack과 Lowery 등의 방법¹⁵⁾에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 간조직 효소액 중에 함유된 단백질 1mg이 1시간 반응하여 기질로부터 생성한 *p*-aminophenol의 양을 nmole로 표시하였다.

3) Xanthine oxidase(XO) 활성도 측정

간조직 중 XO 활성은 xanthine을 기질로 하여 30°C에서 20분간 반응시켜 생성되는 uric acid를 파장 292nm에서 흡광도를 측정하는 Stirpe와 Della Corte 등의 방법¹⁶⁾과 phosphotungstic acid를 가하여 비색 정량하는 Yoon의 방법¹⁷⁾에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 효소 반응액 중에 함유된 단백질 1mg이 1분간 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성시킨 uric acid의 양을 혈청 1당 μ mole로 표시하였다.

4) Glutathione S-transferase(GST) 활성도 측정
간조직 중 GST의 활성은 Habig 등의 방법¹⁹⁾에 준하였다. 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB)과 glutathione을 기질로 하여 25°C에서 10분간 반응시키는 동안 생성된 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugation량을 340nm에서 측정하였다. 활성도 단위는 효소 반응액 중에 함유된 단백질 1mg이 1분 동안 반응하여 생성시킨 conjugation의 양을 nmole로 나타내었다.

5) Catalase(CAT) 및 superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정

간조직 중 CAT 활성은 H₂O₂ 분해정도를 측정하는 Aebi의 방법²⁰⁾에 준하여 측정하였으며 활성도 단위는 간조직의 효소액 중에 함유된 단백질 1mg이 1분 동안에 반응하여 감소시킨 H₂O₂ 양을 nmole로 표시하였다. 그리고 SOD 활성은 hematoxylin 자동산화의 억제정도를 측정하는 Martin 등의 방법²¹⁾에 준하여 측정하였으며 활성도 단위는 hematoxylin의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1unit로 나타내었다.

6) Alcohol dehydrogenase(ADH) 활성도 측정

간조직 중 ADH 활성은 Bergmeyer 등의 방법²²⁾에 준하였다. 즉 기질인 alcohol과 조효소인 NAD⁺로부터 생성된 NADH의 흡광도를 340nm에서 측정하였다. 활성도 단위는 단백질 1mg이 1분동안 반응하여 생성되는 NADH의 양을 nmole로 나타내었다.

4. Reduced glutathione(GSH) 함량측정

간조직 중 GSH 함량은 Ellman의 방법¹⁸⁾에 따라 비단백성 sulfhydryl group을 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)로 발색시켜 412nm에서 비색 정량하였다. GSH 함량 단위는 간조직 g당 μ mole로 나타내었다.

5. 단백질 정량

간조직 중 단백질 정량은 Lowry 등의 방법²³⁾에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

6. 성적검정

실험성적의 통계처리는 Student's t-test²⁴⁾로 하였으며 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중당 간무게, 혈청 ALT 활성 및 간조직 중 단백질 함량

급성 간손상을 유도한 흰쥐에 CHO 투여가 간손상에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 급성 간손상 시 증가된다는 체중당 간무게 및 혈청 ALT 활성²⁵⁾과 간손상 시 그 함량이 감소된다는 조직 중 단백질 함량²⁵⁾을 측정한 결과는 Table 1과 같다.

CCl₄ 투여로 인하여 체중당 간무게는 약 27%의 유의한(p<0.01) 증가를 보였으며, CCl₄ 전처치군은 CCl₄ 투여군보다 약 12% 증가되는 경향을 보였다. 혈청 ALT 활성은 CCl₄ 투여군이 대조군에 비해서 약 13.4배의 현저한(p<0.001) 증가를 보였으며, 더욱이 CCl₄로 전처치한 다음 CHO를 투여함으로써 본 효소의 활성이 약 21%

증가를 보였다. 이때 CHO만 투여한 경우에는 대조군과 별다른 차이가 없었다.

한편, 간조직 마쇄균질액의 단백질 함량은 CCl₄ 투여군이 대조군에 비해서 약 17% 감소되는 경향을 보였고 CCl₄ 전처치군은 CCl₄ 투여군에 비해서 약 12% 감소되는 경향을 보였으며, CHO만 투여된 군과 대조군 간에는 별다른 차이를 볼 수 없었다.

이상 실험결과를 보아 실험동물에 CCl₄를 투여한 다음 급성 간손상을 유도한 후 CHO를 1회만 투여하더라도 간손상이 더욱 심화됨을 알 수 있었다.

CCl₄를 실험동물에 투여하였을 때 간세포의 활면소포체에 존재하는 복합산화기구(mixed function oxidase system)인 cytochrome P-450에 의해서 변화 생성되는 trichloromethyl radical(CCl₃·)과 세포막 과산화의 연쇄반응에서 생성되는 oxygen free radical이 세포상해를 야기하는 것으로 알려져 있어⁵⁻⁸⁾, CCl₄ 전처치한 후 CHO 투여 시 CCl₄ 대사과정과 CHO로 인한 세포의 병태·생리적 변화과정에서 free radical의 생성율이 크게 나타날 것으로 생각된다. 따라서 본 실험조건에서 CCl₄에 의한 간손상 실험동물에 CHO를 투여함으로써 간손상이 심화된 것은 CCl₄ 대사에 의한 oxygen free radical 뿐만 아니라 CHO에 의한 oxygen free radical의 생성이 증가되기 때문일 것으로 생각된다.

Table 1. Effect of cyclohexanone-treatment on the liver weight/body weight(%), serum level of alanine aminotransferase(ALT) and hepatic protein content in CCl₄-pretreated rats

parameters	Group			
	Control	CHO	CCl ₄	CCl ₄ +CHO
LW/BW(%)	2.74±0.19	2.57±0.15	3.48±0.10 ^{**} (a)	3.89±0.32 ^{***} (a)
Serum ALT ¹⁾	24.50±2.90	37.27±5.10	329.50±40.51 ^{***} (a)	398.78±51.28 ^{***} (a)
Homogenate protein ²⁾	158.25±14.20	161.35±18.25	131.25±11.28	115.35±10.25 ^{*(a)}

Each value represents the mean±S.E. of 7 rats.

Unit: ¹⁾ Karmen unit/ml of serum, ²⁾ mg/g. wet. liver.

(a): Significantly different from the control(*; p<0.05, **; p<0.01, ***; p<0.001).

(b): Significantly different from the CCl₄-pretreated(**; p<0.01).

2, 간조직 중 oxygen free radical 대사효소 활성 및 GSH 함량

CCl₄에 의한 급성 간손상 유도 실험동물에 CHO를 투여한 다음 4시간 후에 간조직 중 oxygen free radical 대사효소 및 GSH 함량을 측정된 결과는 Table 2 및 Fig. 1과 같다. Superoxide 생성에 관여하며²⁵⁾ CCl₄를 투여할 때 그 활성이 감소된다는 CYPdAH 활성¹⁾은 대조군에 비해서 CCl₄ 투여군이 약 77% 유의하게 (p<0.001) 감소되는 반면 CHO 단독투여군은 대조군에 비해서 약 56% 유의하게 (p<0.01) 증가되는 경향을 나타내었으며, CCl₄ 전처치군은 CCl₄ 투여군에 비해서 약 19% 감소되었다. 그리고 세포상해에 영향을 미치는 superoxide 생성에 관련된 XO 활성²⁵⁾은 대조군에 비해서 CCl₄ 투여군이 약 20% 증가되었으며, CCl₄ 전처치군은 CCl₄ 투여군에 비해서 약 32% 증가되었다. 실험동물에 CCl₄ 투여로 인해 생성되는 CCl₃·는 cytochrome P-450 활성을 억제하는 것으로 알려져 있으며 cytochrome P-450 활성 억제정도가 CCl₃· 생성률과 관련되는 것으로 알려져 있어²⁶⁾, CYPdAH 활성 억제는 CCl₃· 생성지표로 생각될 수 있을 것이다. 따라서 본 실험에서 실험동물에 CCl₄ 전처치한 후 CHO를 투여함으로써 야기되는 CYPdAH 활성감소는 CCl₃·생성증가로 인해 oxygen free radical 생성이 증가로 인해 나타난 것으로 생각되며, CHO 단독투여군 및 CCl₄ 전처치군 모두 XO활성이 대조군보다 높게 나타남은 역시 oxygen free radical 생성이 증가하기 때문일 것으로 생각된다.

이러한 실험결과는 CCl₄에 의한 급성 간손상 실험동물에 CHO를 투여한 경우 oxygen free radical 생성이 증가·유도로 인해 간손상이 심화됨을 암시해 주고 있다.

일반적으로 oxygen free radical에 의한 조직 세포의 손상은 oxygen free radical의 생성계와 해독계의 불균형에 의하여 초래되는 것으로 알려져 있다^{27,28)}. 따라서 CCl₄를 전처치한 다음 CHO를 투여 시 생성된 oxygen free radical은 해독계

에도 상당한 영향을 미칠 것으로 생각되어 oxygen free radical의 scavenging system에 관여하는 몇 가지 효소 활성을 관찰코자 하였다. 본 실험에서 oxygen free radical 중 H₂O₂ 해독에 관여하는 GSH 함량^{27,28)}은 CCl₄의 투여로 인하여 약 52%의 유의한(p<0.05) 증가를 보였으며, CCl₄를 전처치한 다음 CHO를 투여함으로써 약 51%의 유의한(p<0.01) 감소를 보였다. CHO의 단독투여군에서는 대조군에 비해서 약 30% 감소되었으나 유의성은 없었다. 상해조직에 있어서 free radical에 의한 GSH 함량의 소모율이 증가된다는 보고²⁷⁾와 본 실험결과를 고려해 볼 때 CCl₄ 전처치한 다음 CHO를 투여할 때 GSH 함량 감소는 바로 oxygen free radical 생성에 기인함을 시사해 주고 있다. 또한 CCl₄ 투여군이 대조군에 비해서 GSH를 포함시킴으로써 oxygen free radical을 해독시키는데 관여하는 GST 활성¹⁹⁾은 CCl₄ 투여군이 대조군에 비해서 약 27% 유의하게(p<0.05) 감소되었으며, CCl₄ 전처치군 역시 CCl₄ 투여군보다 다소 높은치를 나타내었으나 대조군에 비해서는 약 23% 감소되었다. 따라서 CCl₄ 전처치한 다음 CHO를 투여 시 oxygen free radical에 대한 해독력이 저하됨을 알 수 있다. 한편 oxygen free radical 중 superoxide 해독에 관여하는 SOD 활성³⁰⁾은 CCl₄, CHO 투여군, CCl₄ 전처치군과 대조군 간에 별다른 차이를 볼 수 없었으나 oxygen free radical 중 H₂O₂ 해독에 관여하는 catalase 활성³¹⁾은 CCl₄ 투여군이 대조군에 비해서 다소 감소되었으며, CCl₄ 전처치군은 CCl₄ 투여군에 비해서 약 18% 감소되는 경향을 보였다. 이 결과는 역시 CCl₄에 의한 급성 간손상 실험동물에 CHO를 투여 시 H₂O₂ 해독에 지장이 초래됨을 시사해 주고 있다.

CCl₄ 전처치 후 CHO 투여 시 간손상 심화현상을 free radical 외에 CHO 자체의 생체 내 대사에 의한 영향을 배제할 수 없기 때문에 본 연구에서 CHO 대사에 관여하는 alcohol dehydrogenase (ADH) 활성을 관찰하였다(Fig. 2).

CHO를 실험동물에 투여 시 ADH에 의하여 cyclohexanol로 변화되어 glucuronide와 포함되어 체외로 배설된다고 한다^{32,33}. 본 실험에서 CHO 투여로 ADH 활성이 대조군(1.410±0.133)에 비해서 약 17% 감소되었으며 CCl₄ 전처치군(0.803±0.119)은 CCl₄ 투여군(1.165±0.084)보다 약 31% 감소되었다. 따라서 CCl₄를 전처치한 다음 CHO투여한 경우 CHO의 배설이 CCl₄ 단독투여군보다 오히려 억제되어 간조직에 CHO

의 유지율이 증가되어, 간손상이 심화에 free radical과 더불어 CHO가 영향을 미칠 것으로 생각된다.

이상 실험결과를 종합해 볼 때 CCl₄에 의한 급성 간손상 유도 실험동물에 CHO 1회 투여한 경우에 간손상이 심화되었으며, 이는 CHO에 의한 oxygen free radical의 생성증가 및 해독작용의 저해, ADH 활성저하에 의한 배설감소에 기인되어 나타난 것으로 생각된다.

Table 2. Effect of cyclohexanone-treatment on the activities of oxygen free radical metabolizing enzymes and glutathione content in CCl₄-pretreated rats

Group parameters	Control	CHO	CCl ₄	CCl ₄ +CHO
Generating system				
AH ¹⁾	5.25±0.41	8.21±0.75 ^{**a)}	1.19±0.12 ^{***a)}	0.96±0.10 ^{***a)}
XO ²⁾	2.90±0.28	3.40±0.29	3.48±0.37	4.58±0.47 ^{**a)}
Scavenging system				
GSH ³⁾	1.85±0.25	1.29±0.09	2.81±0.23 ^{a)}	1.39±0.38 ^{**b)}
GST ⁴⁾	523.52±41.25	532.02±52.25	381.15±34.29 ^{a)}	402.61±38.25
Catalase ⁵⁾	150.20±3.14	128.05±8.09 ^{a)}	146.36±10.33	119.92±10.89 ^{a)}
SOD ⁶⁾	10.55±0.75	11.52±1.23	11.16±1.13	13.57±1.68

Each value represents the mean±S.E. of 7 rats.

Unit: ¹⁾ p-aminophenol nmoles/mg protein/min, ²⁾ nmoles uric acid/mg protein/min, ³⁾ μ moles/g of tissue, ⁴⁾ 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate nmoles/mg protein/min, ⁵⁾ reduced H₂O₂ nmoles/mg protein/min, ⁶⁾ unit[#]/mg protein[#]; 50% inhibition of autooxidation of hematoxylin).

^{a)}: Significantly different from the control(*; p<0.05).

^{b)}: Significantly different from the CCl₄-pretreated(*; p<0.05).

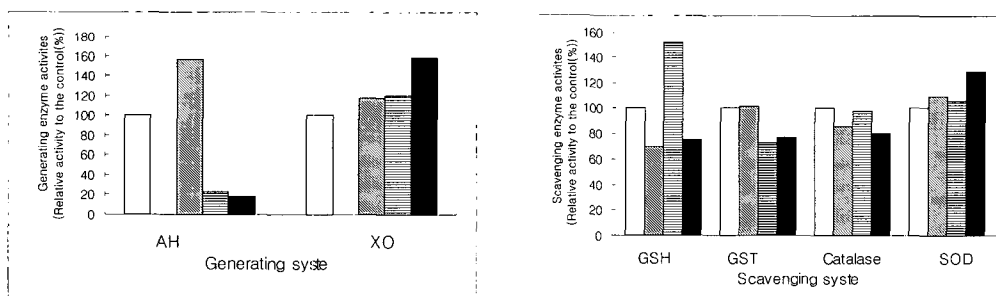


Fig. 1. Effect of cyclohexanone-treatment in the activities of oxygen free radical metabolizing enzymes in CCl₄-pretreated rats.

□ : Control

▨ : Cyclohexanone treated group

▤ : CCl₄-treated group

■ : Cyclohexanone-treated rats pretreated with CCl₄

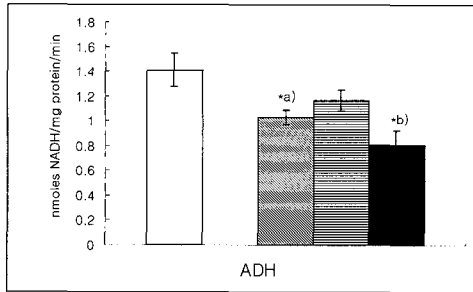


Fig. 2. Effect of cyclohexanone treatment on the activities of alcohol dehydrogenase (ADH) in CCl₄-pretreated rats. Each value represents the mean ± S.E. of 7 rats. a): Significantly different from the control b): Significantly different from the CCl₄-pretreated(*; p<0.05)

□ : Control
 ▨ : Cyclohexanone treated group
 ▩ : CCl₄-treated group
 ■ : Cyclohexanone-treated rats pretreated with CCl₄

IV. 결 론

급성 간손상 실험동물에 cyclohexanone 투여가 oxygen free radical 및 cyclohexanone 대사효소 활성에 미치는 영향을 검토코저 흰쥐에 사염화탄소를 체중 100g당 50% CCl₄를 1일 1회 2일 간격으로 복강으로 투여하여 간손상을 유도시켰다. 이 같은 급성 간손상 실험동물에 cyclohexanone을 체중 kg당 1.56g을 1회 투여한 다음 4시간 후에 처치하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

급성 간손상 실험동물에 있어 cyclohexanone 투여로 인한 체중당 간무게, 혈청 alanine aminotransferase 활성 증가율과 간조직 중 단백질 함량 감소율이 더욱 크게 나타났으나 cyclohexanone 단독투여군에서 간조직은 정상을 보였다. 따라서 급성 간손상 실험동물에서 cyclohexanone 투여는 간손상을 심화시켰다. 이때 oxygen free radical 생성에 관여하는 간조직 중 cytochrome P-450 dependent aniline hydroxylase(CYPdAH) 활성은 감소되었으며

xanthine oxidase(XO) 활성은 증가되었다. 또한 oxygen free radical 해독에 관여하는 간조직의 glutathione(GSH) 함량과 catalase(CAT) 활성은 감소되었으며 cyclohexanone 단독투여군에서는 간조직 중 AH, XO 활성은 증가되었으나 CAT 활성과 GSH 함량은 감소되었다.

이상 실험 결과는 흰쥐에 있어서 급성 간손상 시에 cyclohexanone 투여로 인하여 간손상이 되었음을 나타내며, 이는 oxygen free radical의 생성증가에 기인된 결과로 생각된다.

참고문헌

- Lee, H.J., Cho, H.G. and Yoon, C.G.: Effect of CCl₄-induced liver damage on the metabolism of xylene in rats. *Kor. J. Env. Hlth. Soc.*, 25(1), 102-108, 1999.
- Cha, S.E., Yoon, C.G. and Lee, S.I.: Effect of hepatic damage on the toluene metabolism in CCl₄-pretreated rats. *J. Toxicol. Pub. Health*, 14(3), 321-328, 1998.
- Ong, C.N., Chia, S.E., Phoon, W.H., Tan, K.T. and Kok, P.W.: Monitoring of exposure to cyclohexanone through the analysis of breath and urine. *Scand. J. Work Environ. Health*, 17(6), 430-435, 1991.
- Gupta, .PK., Lawrence, W.H., Turner, J.E. and Autian, J.: Toxicological aspects of cyclohexanone. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 49(3), 525-533, 1979.
- Freeman, B.A. and Crapo, J.D.: Biology of disease-free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 47(5), 412-426, 1982.
- Simon, R.H., Scoggin, C.M. and Patterson, D.: Hydrogen peroxide causes the fetal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J. Biol. Chem.*, 266(14), 7181-7186, 1981.
- Lesko, S.A., Lorentzen, R.J. and Ts, o. P.O.: Role of superoxide in deoxyribonucleic acid strand scission. *Biochemistry*, 19(13), 3023-3028, 1980.
- Hafeman, D.G. and Hoekstra, W.G.: Protection aganist carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E, selenium, and methionine as measured by ethane evolution. *J. Nutr.*, 107(4), 656-665, 1977.9) McCord, J.M. and Fridovich, I.: Superoxide dismutase:an enzymatic function for erythrocyte(hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 244, 6049-6055, 1967.

10. Chae, S.N., Yoon, C.G. and Cho, H.G.: Effect of toluene application to skin on the enhancement of liver injury in CCl₄-pretreated rats. *J. Biomed. Lab. Sci.*, 7, 79-83, 2001.
11. Deneke, S.M. and Fanburg, B.L.: Normobaric oxygen toxicity of the lung. *N. Engl. J. Med.*, 303(2), 76-86, 1980.
12. 전태원: Cyclohexane에 의한 흰쥐의 폐 및 피부독성. *계명대학교 대학원 박사학위논문*, 1999.
13. Reitman, S. and Frankel, S.: A Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. pathol.*, 28, 56-63, 1957.
14. Karmen, A.: A note on the spectrophotometer assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum. *J. Clin. Invest.*, 34, 131-133, 1955.
15. Bidlack, W.R. and Lowery, G.L.: Multiple drug metabolism: *p*-nitroanisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochem. Pharmacol.*, 31(3), 311-317, 1982.
16. Stirpe, F., Della Corte, E.: The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, 244(14), 3855-3863, 1969.
17. Yoon, C.G.: A modified colorimetric assay for xanthine oxidase in rat liver extracts. *Keimyung Research Journal(Keimyung Junior College)*, 2, 295-308, 1984.
18. Ellman, G.L.: Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70-77, 1959.
19. Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B.: Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249(22), 7130-7139, 1974.
20. Aebi, H.: Catalase in "Methods of Enzymatic Analysis" (HU Bergmeyer, ed) Vol 2, pp. 673-684, *Academic Press, New York*, 1974.
21. Martin, J.P., Dailey, M. and Sugarman, E.: Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 255(2), 329-336, 1987.
22. Bergmeyer, H.U.: Method of enzymatic analysis, Academic Press, New York, 2, 428-429, 1974.
23. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275, 1951.
24. Scheffler, W.C.: Statistics for the biological sciences, pp. 84-89. *Addison-Wesley, London*, 1980.
25. 윤종국, 이미경, 이상일: 성장기간이 다른 흰쥐에 사염화탄소 투여가 oxygen free radical 생성계 및 해독계 효소 활성에 미치는 영향. *한국노화학회지*, 8(1), 35-42, 1998.
26. Cha, S.E. Yoon, C.G and Lee, S.I.: Effect of hepatic damaged rats on the toluene metabolism in carbon tetrachloride pretreated rats. *J. Toxicol. Pab. Health* 14(3), 321-328, 1998.
27. Chow, C.K. and Tappel, A.L.: Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats. *J. Nutr.*, 104(4), 444-451, 1974.
28. Leibovitz, B.E. and Siegel, B.V.: Aspects of free radical reactions in biological system: aging. *J. Gerontol.*, 35(1), 45-56, 1980.
29. 한선일, 윤희원, 윤종국: 연령이 다른 흰쥐에 Bromobenzene 투여가 간손상에 미치는 영향. *대한 의생명과학회지*, 5(2), 201-208, 1999.
30. Free, J.A.: Superoxide, superoxide dismutase and oxygen toxicity in "Metal ion activation of dioxygen"(JG Sprio, ed), pp. 209-237, *John Willy & Sons, INC.*, 1980.
31. Fridovich, I. and Hassan, H.M.: Superoxide dismutase: detoxication of a free radical in "Enzymatic basis of detoxication"(WB Jakoby, ed), p. 311, *Academic Press, New York*, 1980.
32. Elliott, T.H., Parke, D.U. and Williams, R.T.: Studies in detoxication. The metabolism of cyclo [¹⁴C] hexane and its derivatives. *Biochem. J.*, 72, 115-120, 1959.
33. Perico, A., Cassinelli, C.B., Brugnone, F., Bavazzano, P. and Perbellini, L.: Biological monitoring of occupational exposure to cyclohexane by urinary 1,2- and 1,4-cyclohexanediol determination. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 72, 115-120, 1999.