

시화호에서 채집한 폴망둑 *Acanthogobius hasta*의 간장 약물대사효소계 및 항산화계의 반응

이지선 · 정지현¹ · 한창희² · 심원준¹ · 전중균*

강릉대학교 해양생명공학부 · 동해안해양생물자원연구센터.

¹동의대학교 생명과학부, ²한국해양연구원 남해연구소

Responses in Hepatic Xenobiotic Metabolizing and Antioxidant Enzymes in Javelin Goby *Acanthogobius hasta* Collected at Shihwa Lake

Ji-Seon Lee, Jee-Hyun Jeong¹, Chang-Hee Han², Won-Joon Shim¹ and Joong-Kyun Jeon*

Kangnung National University · EMBRC, Gangneung, Korea

¹Dong-eui University, Busan, Korea, ²KORDI South Sea Institute, Geoje, Korea

Abstract – The aim of this study was to assess the responses of mixed function oxygenase (MFO) and antioxidative systems of feral Javelin goby, *Acanthogobius hasta*, caught in two sites of different pollution level in Shihwa lake, which has been a highly polluted lake by organic pollutants from nearby industrial complexes and sites.

Enzymes analyzed in phase I of MFO system are cytochrome P450 (CYP), NADPH-cytochrome P450 reductase (P450R), NADH-cytochrome b5 reductase (b5R), and ethoxyresorufin deethylase (EROD). Phase II enzyme of glutathione S-transferase (GST) in MFO system was also investigated. Moreover, oxidative-enzyme system including catalase (CAT), glutathione reductase (GR) and total-glutathione peroxidase (GPX) activities and glutathione concentration in both of oxidized (GSSG) and reduced form (GSH) were determined.

P450R, b5R, and GST activities of fish are relatively high in the polluted area, whereas hepatic EROD activity levels of fish in polluted area were lower than those of unpolluted area. CYP concentrations are not different between areas. These results indicated that feral *Acanthogobius hasta* were adaptive to highly polluted environment and exposed to oxidative stress in Shihwa lake.

Key words : xenobiotic metabolizing enzyme, antioxidative system, Javelin goby, *Acanthogobius hasta*, Shihwa lake

서 론

경기도 안산시에 위치한 시화호는 안산과 이와 인접

한 대부분을 잇는 방조제 건설로 형성된 인공호이다. 본래는 시화지구 간척사업에서 얻어지는 간척지를 개발하는데 필요한 농·공 용수를 공급하기 위한 담수호로 계획되었으나 방조제가 완공된 후 해수 유입이 끊기면서 주변 6개 하천을 통한 도시하수의 유입과 주변의 안산공단과 시화공단 등지에서 유입되는 폐수로 인해 수질

* Corresponding author: Joong-Kyun Jeon, Tel. 033-640-2412, Fax. 033-647-2410, E-mail. jkjeon@kangnung.ac.kr

이 급격히 악화하였다. 그래서 이를 막기 위해 1997년부터는 오염된 시화호 물을 외해로 방류하는 한편 해수를 유입시켜 수질 개선을 도모하고 있지만 여전히 주변 공단으로부터 상당량의 다환방향족화합물 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)이나 유기염소계 화합물이 유입되면서 오염이 심하다(현 등 1999; 최 등 2000; 한국해양연구원 2001; 김 등 2005; 홍 등 2005). 그런데도 시화호와 관련된 연구 중 생물종의 생태에 대한 연구로는 어류 중 조성의 변화(이 등 1997), 저서 다모류의 조성 변화(류 등 1997) 등에 불과하다.

일반적으로 오염물질에 동물이 노출되면 오염물질로 인한 피해를 줄이려고 체내에서의 독성을 낮추면서 한편으로는 이들을 대사하여 몸 밖으로 배출하는데 이 과정에 관여하는 효소계를 '해독효소계'(xenobiotic metabolizing enzymes)라 부른다. 이 효소계에는 산화, 환원, 가수분해를 주로 담당하는 I상 효소와 그리고 포합 반응을 주로 맡는 II상 효소 과정이 있으며, 어류도 이들 효소계를 갖추고 있다고 알려져 있다(Gokøyr and Förlin 1992). 특히 어류는 다른 육상동물들과 달리 간장 외에 신장이나 아가미, 내장과 같은 다른 조직에도 낮은 활성이지만 효소활성이 있다(Buhler and Williams 1988).

한편, 오염물질이 대사되는 동안에는 화합물의 형태나 농도에 따라서 I상 반응 중 uncoupled electron transference가 일어나기도 하는데, 이때 친전자성 (electrophilic) 중간체와 같은 활성산소종 (reactive oxygen species; ROS) 이 만들어지기도 하며 (Estabrook 1982; Karuzina and Archakov 1994), 이들은 세포 내의 핵산이나 지질, 탄수화물, 단백질과 반응하여 세포를 손상시키기도 한다(Free-

man and Crapo 1982). ROS를 비롯한 여러 산화성 화합물들은 사람에서 발암과 노화를 일으키는데 관여하지만 (Halliwell 1987), 어류에도 마찬가지로 작용할 것이라 여겨진다 (Winston and DiGiulio 1991). 특히 오염이 심한 곳에 서식하는 생물은 침전물이나 부유물질, 물, 먹이를 통해 오염물질을 체내에 축적하는데 (Livingstone 1991, 1998), 이러한 경로를 통해 체내로 들어온 오염물질도 ROS를 생산한다 (Fatima *et al.* 2000; Ahmad *et al.* 2004). 더욱이 ROS는 어류에게 산화적 스트레스 (oxidative stress)를 일으키기도 한다 (Kappus 1987; Lemaire *et al.* 1996).

따라서 본 연구에서는 오염이 심각한 시화호에 서식하는 어류가 오염물질에 의해 얼마나 영향을 받는지를 조사하고자 시화호에서 연중 분포하는 풀망둑 *Acanthogobius hasta* (이 등 1997)을 대상으로 하여 간장 중의 해독효소계와 항산화효소계의 반응을 조사하여 보았다.

재료 및 방법

1. 채집 지역 및 채집 어류

오염에 의한 영향을 평가하기 위해서 오염정도가 다른 두 지점을 선정하였다 (Fig. 1). 즉, 시화호에서도 주변 공단의 폐수가 흘러들어와 오염이 심한 곳 (st. 1)과 배수 감문 개방 시 바닷물이 유입되어 상대적으로 오염이 심하지 않은 곳 (st. 2)에서 각각 어선 (st. 1)과 낚시 (st. 2)를 이용하여 풀망둑을 채집 ($n=30$)하였으며, 채집한 풀망둑은 체중 50~100 g, 체장 15~20 cm의 크기였다.

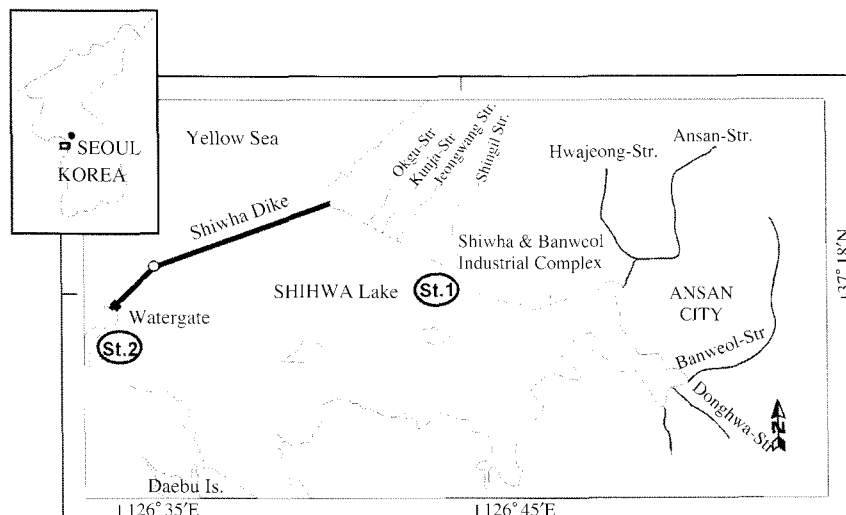


Fig. 1. Sampling sites in Shihwa Lake. St. 1, highly polluted area. St. 2, less polluted area.

2. 시료 처리 및 분석

잡은 어류는 현장에서 바로 개봉하여 간장을 떼어내어 즉시 액체질소로 동결시킨 다음 드라이아이스를 넣은 아이스박스에 넣어 실험실로 운반하였으며, 실험에 사용하기까지는 -80°C 의 초저온냉동고에 보관하였다. 분석을 위해 냉동고에서 꺼낸 간장은 얼음 위에서 반해동을 시키고 빙냉한 0.25 M sucrose 용액과 함께 Potter-Elvehjem형의 teflon축-glass homogenizer에 넣어 균질화시킨 다음 원심분리(5,000 \times g, 30분)와 초원심분리(100,000 \times g, 60분)를 거쳐 마이크로솜과 세포질 획분을 작성하였다.

약물대사효소로는 1상효소인 cytochrome P450 (CYP; Omura and Sato 1965), cytochrome P450 reductase (P450R; Phillips and Langdon 1962), cytochrome b5 reductase (b5R;

Omura and Takesue 1970), ethoxyresorufin deethylase (EROD; Burke and Mayer 1974), 그리고 2상효소인 glutathione *S*-transferase (GST; Habig *et al.* 1974)을 분석하였으며, 단백질 농도는 Lowry *et al.* (1951)의 방법으로 분석하였다. 그리고 항산화효소로는 catalase (CAT; Caliborne 1985), total-glutathione peroxidase (GPx; Lawrence and Burk 1976), glutathione reductase (GR; Carlberg and Mannerviek 1975)를 측정하였고, 또한 환원형 glutathione (GSH)과 산화형 glutathione (GSSG) 농도도 Beutler (1975)의 방법으로 측정하였다.

3. 통계처리

모든 측정치는 평균±표준편차로 나타내었으며, SPSS (V. 10.0)를 사용하여 one-way ANOVA test를 실시하였

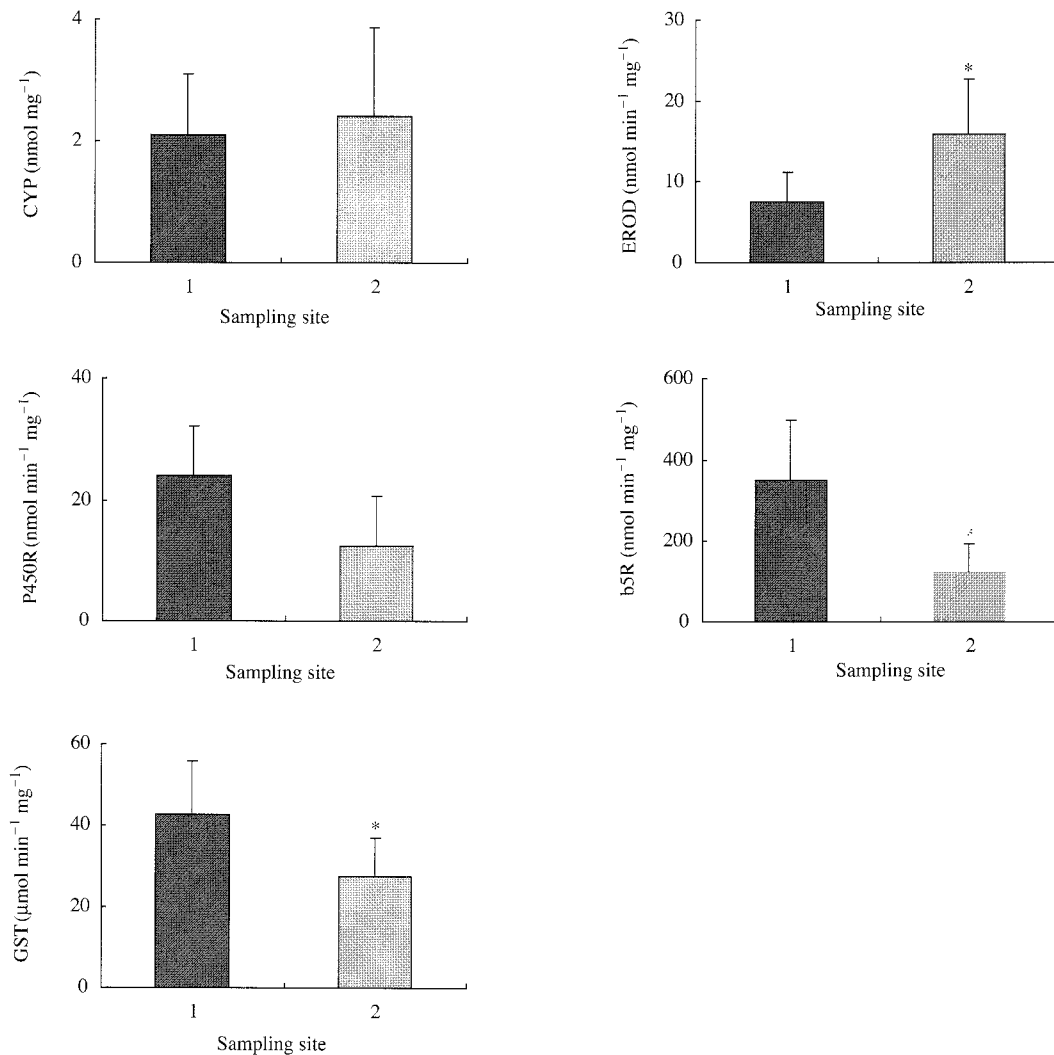


Fig. 2. Responses of hepatic MFO system in Javelin goby, *A. hasta* collected at Shihwa Lake (n=30). Asterisk represent the significant differences ($p < 0.05$) to st. 1 (highly polluted area) and st. 2 (less polluted area). CYP, cytochrome P450; EROD, 7-ethoxyresorufin deethylase; P450R, NADPH cytochrome P450 reductase; b5R, NADH cytochrome b5 reductase; GST, glutathione *S*-transferase.

고, Duncan' program으로 95% 신뢰구간에서 유의차 검정을 하였다.

결 과

시화호의 두 지역에서 채집한 풀망둑의 간장 중 해독 효소계 수준을 Fig. 2에 나타내었다. CYP 농도는 st. 1에서 채집한 것($2.1 \pm 1.0 \text{ nmol mg}^{-1}$)과 st. 2에서 채집한 것($2.4 \pm 1.4 \text{ nmol mg}^{-1}$) 사이에 유의적인 차이가 없었고 ($P > 0.05$), EROD 활성은 st. 1에서 채집한 것($7.6 \pm 3.5 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$)보다 st. 2의 것($15.9 \pm 6.8 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$)이 유의적으로 높았으며 ($p < 0.05$), P450R과 b5R 활성은 st. 1의 것이 st. 2의 것보다 높았다. 두 환원효소

중에서 b5R에서 유의적으로 큰 차이를 보였다 ($p < 0.05$). II상효소인 GST 활성도 시료 채집지역에 따라 큰 차이를 보여, st. 1 ($42.7 \pm 13.3 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$)이 st. 2 ($27.6 \pm 9.4 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$)에 비해 유의적으로 더 높았다 ($p < 0.05$).

한편, 항산화효소계의 반응은 Fig. 3과 같다. CAT 활성은 st. 1의 것($0.8 \pm 0.5 \text{ U mg}^{-1}$)이 st. 2의 것($0.3 \pm 0.2 \text{ U mg}^{-1}$)보다 유의적으로 높았고 ($p < 0.05$), GR 활성도 st. 1 ($23.3 \pm 9.0 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$)이 st. 2 ($16.5 \pm 6.5 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$)보다 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$). 그러나 GPx 활성은 앞의 두 항산화효소의 반응과는 달리 st. 1 ($0.4 \pm 0.1 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$)보다 st. 2 ($0.5 \pm 0.2 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$)에서 더 높았다 ($p > 0.05$). 하지만 SOD 활성은 조

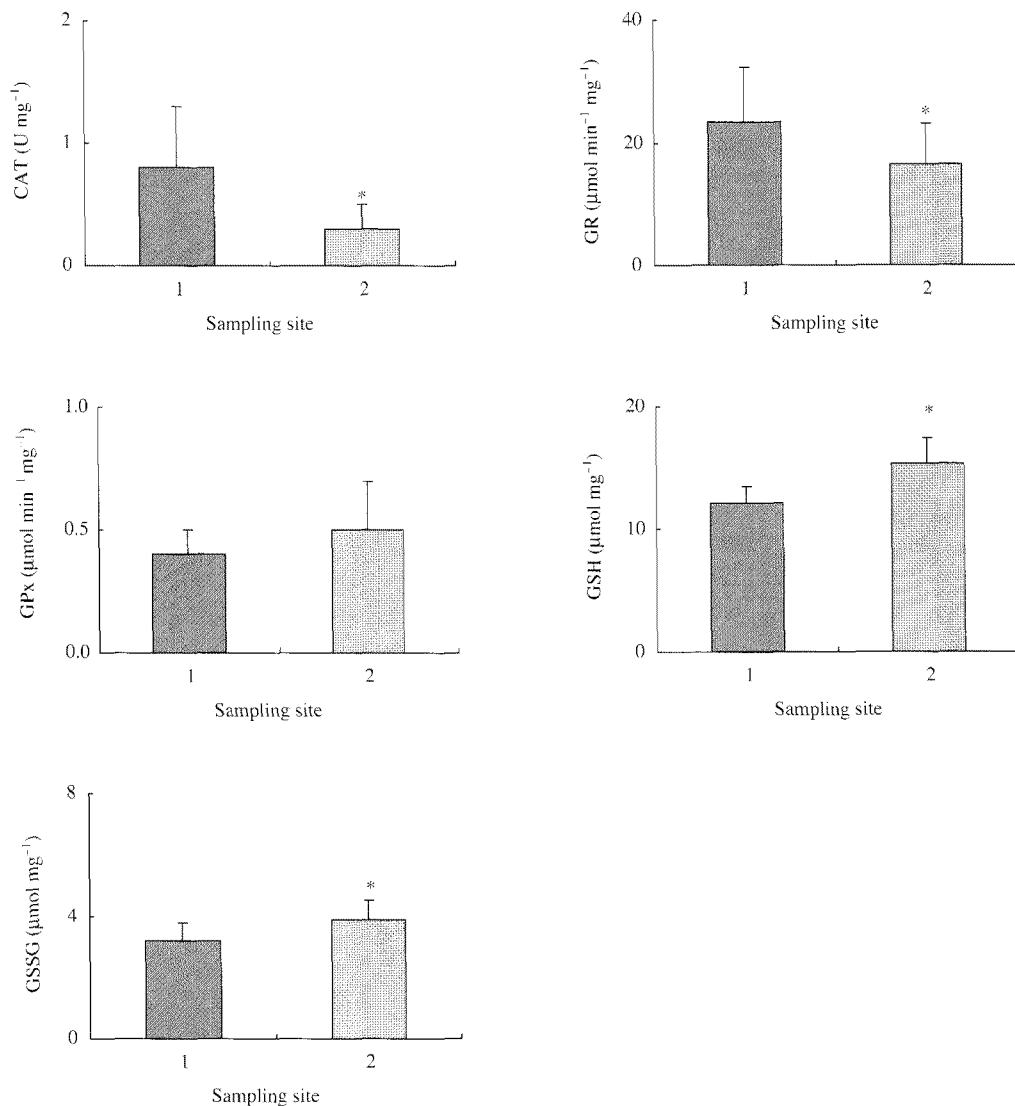


Fig. 3. Responses of hepatic antioxidative system in Javelin goby, *A. hasta* collected at Shihwa Lake (n=30). Asterisk represent the significant differences ($p < 0.05$) to st. 1 (highly polluted area) and st. 2 (less polluted area). CAT, catalase; GR, glutathione reductase; GPx, glutathione peroxidase; GSH, reduced form glutathione; GSSG, oxidized form glutathione.

직 중의 활성이 너무 낮아서인지 측정하지 못했다. 한편, 글루타치온 관련화합물의 농도를 살펴보면, st. 1과 st. 2에서의 GSH 함량은 각각 12.1 ± 1.3 및 $15.3 \pm 2.1 \mu\text{mol mg}^{-1}$ 으로 st. 2가 유의적으로 더 높았으며 ($p < 0.05$), 이러한 경향은 GSSG 농도에서도 마찬가지였고 두 st.에서 각각 3.2 ± 0.6 및 $3.9 \pm 0.6 \mu\text{mol mg}^{-1}$ 로서 유의적으로 차이가 있었다($p < 0.05$).

고 찰

본 연구에서는 주변의 공단지역과 도시에서 나오는 각종 오염수가 유입되어 환경이 크게 오염된 시화호에서 오염 정도가 다른 두 site를 선정하여 이곳에 서식하는 풀망둑을 채집하여 이들의 해독효소계를 비롯한 효소적 (enzymatic) 및 비효소적 (non-enzymatic) 항산화계 수준을 분석하였다. st. 1은 반월공단을 가로지르며 흐르는 신길천이 유입되는 지점으로 오염이 매우 심한 곳이고, st. 2는 해수갑문이 열리면 해수가 유입되어 오염물질이 바다로 빠져나가는 곳이어서 상대적으로 오염도가 낮은 곳이다(최와 김 2001; 한국해양연구원 2001; 김 등 2002).

외인성 오염물질에 노출된 어류는 여러 기관 중에서도 특히 간장에 존재하는 해독효소계가 반응하는데, 효소계에는 P450과 CYP로 이루어진 경로 및 b5R과 cytochrome b5로 이루어진 경로의 두 경로가 존재하며 주로 앞의 경로가 외인성 오염물질을 대사한다고 알려져 있다(Fent and stegeman 1991; Fent and Bucheli 1994). 게다가 오염원에 노출되면 어류에서도 ROS가 체내에서 생성되어 조직에 산화적 스트레스를 일으켜서 손상시키므로 세포는 이들 스트레스에 대응하기 위한 방어기작으로 항산화효소계를 갖추고 있기 때문에 항산화효소계도 오염 노출을 평가하는 지표로 사용되기도 한다.

본 연구에서는 CYP는 오염 정도가 다른 두 지점에서 유의적인 차이를 보이지 않았으나, P450이나 b5R 및 GST 수준은 st. 1의 풀망둑에서 더 높았다. 일반적으로 어류는 오염물질에 노출되면 이를 대사하기 위해 해독효소계가 유도되는데(Kime 1998), Bainy *et al.* (1996)은 틸라피아 *Oreochromis niloticus*의 간장 중 해독효소계를 조사하였더니 대체로 오염정도에 따라 약물대사 효소에 차이를 보였으며 오염정도가 심한 곳에 두었더니 특히 CYP와 b5R가 각각 542%와 223%나 높았다고 보고하였다.

그러나 CYP1A subfamily의 지표효소인 EROD가 st. 1에서 크게 저해되었는데, 이는 시화호에 EROD 활성을

저해하는 오염물질이 존재할 가능성을 시사하는 것으로 여겨지며, 이와 관련하여 최근에는 polychlorinated biphenyls (PCBs) 중에서 PCB-77, -126, -169와 같은 non-ortho-치환체가 scup 간장 마이크로솜을 사용한 *in vitro* 실험에서 EROD 활성을 50~70%나 저해시켰다고 한다(Schleizinger *et al.* 2006). 실제로 시화호의 표층저질 중에서 검출되는 각종 유기염소계 화합물 중에서는 PCBs 농도가 가장 높았다(한국해양연구원 2001)는 것도 이런 결과를 뒷받침해 준다.

한편, 오염물질은 어류의 산소 이용에도 영향을 미쳐서 아가미 호흡으로 체내로 흡입된 산소 중 일부는 superoxide anion으로 되며, 독성이 매우 강한 이 성분은 SOD에 의해 과산화수소로 되지만, 이것도 독성이 있으므로 생체에서는 CAT나 GPx가 이것을 분해하여 독성이 없는 물과 산소로 만든다. GPx가 활성을 발현하는데는 GSH가 필요한데, GSH는 GPx가 과산화수소를 분해하는 과정에서 GSSG로 변환되었다가 GR에 의해서 다시 환원되어 GSH로 만들어지는 사이클을 이룬다(谷口, 2001). 그렇기 때문에 항산화효소계를 조사할 경우에는 SOD, CAT, GPx, GR 활성과 GSH, GSSR 농도를 측정하는데, 어류에서 ROS에 대한 방어기작의 정보는 매우 부족한 편이다(Girotti 1990; Stadtman 1991; Ahmad *et al.* 2004).

본 연구에서 CAT 활성은 st. 1에서 채집한 풀망둑이 더 컸던 반면에 또 다른 분해효소인 GPx 활성은 오히려 낮았는데, 이것은 ROS의 하나인 과산화수소를 분해하는데 CAT가 크게 기여한다는 것을 보여준다. 오염물질에 노출된 어류에서 GPx 활성이 낮아지는 현상은 다른 연구자들도 보고하고 있는데(Aksnes and Njaa 1981; Stephensen *et al.* 2002; Ahmad *et al.* 2004), 특히 Ahmad *et al.* (2004)은 뱀장어 *Anguilla anguilla* L.가 오염물질에 단기간 노출되었을 적에는 GPx 활성이 증가하였지만 장기간 노출되면 GPx 활성이 감소하였다고 보고하였다. 본 연구에서 GPx 활성이 오염지역인 st. 1에서 더 낮았던 것도 이와 같기 때문일 것이라 여겨진다.

한편, GR 활성은 st. 1의 것에서 더 높았는데($p < 0.05$), 이는 오염물질에 노출되어 상당한 산화적 스트레스를 받고 있는 어류가 부족한 GSH를 보충하기 위한 적응 반응이라 여겨지며, 실제로 본 실험에서 st. 1에서 잡은 풀망둑의 GSH 농도가 더 낮았던 것은 이를 뒷받침한다. Stephensen *et al.* (2002)도 각종 산화환원제에 노출시킨 무지개송어에서 GR 활성이 증가하는 것을 관찰하였고, Lenartova *et al.* (1997)은 GR 활성의 증가는 산화적 스트레스 상태에 적응하고 있음을 시사하는 것이라 하였다.

GSH 농도는 st. 1에서 잡은 것이 유의적으로 낮았던

데, 이것은 오염물질 때문에 유도된 산화적 스트레스를 감소시키고자 저장했던 GSH가 소진되었음을 보여준다. 하지만 이와는 달리 오염물질에 노출되면 GSH 농도가 커진다는 보고도 있다. 즉, DiGiulio *et al.* (1993)은 오염된 침전물에 catfish를 노출시켰더니 GSH 농도가 높아졌다고 하였고, Sayeed *et al.* (2003)은 deltamethrine에 노출시킨 담수어 *Channa punctatus*의 간장에서 GSH 함량이 증가함을 관찰하였다. 이처럼 GSH 농도의 증감에서 차이가 나는 것은 아마도 오염 정도에 따른 차이가 아닐까 여겨진다. 앞에서 GSH 농도가 높아진 어류들은 주로 강에 사는 담수어였지만 본 실험에서는 고농도의 오염물질이 갇혀있는 반폐쇄성의 호수라는 차이가 주요 원인일 것이라 여겨진다. 한편, GSH와 GSSG의 비율(GSSG/GSH)은 세포내의 산화-환원 상태를 반영하며 정상적인 휴지 상태의 조직은 1% 정도이지만, GSH가 GSSG로 산화되면 이 비율은 급격히 변화하게 되는데, 본 실험에서는 0.26(st. 1)~0.27(st. 2)로 매우 높은 수준이었다. 더욱이 st. 1의 풀망둑의 혈중 호르몬 농도는 응성호르몬에는 차이가 없었지만 자성호르몬인 11 β -estradiol의 농도는 유의적으로 높았다(미발표자료).

이상의 연구 결과를 정리하면, 시화호에 서식하는 풀망둑은 오염물질에 의해 상당한 산화적 스트레스를 받고 있으며, 또한 오염물질을 대사하는 약물대사효소계도 크게 영향을 받고 있음을 알 수 있었다. 하지만 같은 생물이라도 종에 따라 해독효소계와 항산화효소계의 반응에는 차이가 있을 것이고, 오염물질의 종류나 노출 정도 그리고 환경 조건(계절, 수온 등) 등에 따라서도 이들 효소계는 다른 반응을 보일 수가 있으므로 이에 관한 연구를 할 필요가 있을 것이다.

적 요

공장 폐수로 인한 오염이 심한 경기 시화호에서 오염 정도가 다른 두 지역으로부터 풀망둑을 채집하여 이들의 해독효소계 또는 항산화효소계의 반응을 비교하였다. 해독효소계에서 I상효소로는 CYP, P450R, b5R, EROD를, II상효소로는 GST를 조사하였다. 그리고 항산화효소계로는 CAT, GR, GPx의 활성 그리고 GSH 및 GSSG 농도를 조사하였다.

그 결과, 오염정도가 심한 지역에서 잡은 어류가 간장 중 P450R, b5R, GST의 활성이 높았으나 EROD 활성은 오히려 낮았고 CYP 농도는 차이가 없었다. 그리고 이 지역에서 잡은 어류는 CAT와 GR의 활성, 비효소적인 항산화제인 GSH와 GSSG 농도도 더 높았으나 GTx 활

성은 오히려 낮았다. 이들 결과는 시화호의 오염된 곳에서 서식하는 풀망둑 *Acanthogobius hasta*은 상당히 해독 효소계가 항진되어 있으며 산화 스트레스도 크게 받고 있음을 보여준다.

사 사

본 연구는 해양수산부의 『내분비계장애물질의 해양생태 영향 연구』 프로그램과 산업자원부에서 시행하는 지역혁신센터 사업으로 강릉대학교 해양바이오RIC (동해안해양생물자원연구센터)의 지원에 의한 것입니다.

참 고 문 헌

- 김종구, 김준우, 조은일. 2002. 시화호의 배수갑문 운용에 따른 수질변화. 한국환경과학회지. 11:1205-1215.
- 김종국, 김형섭, 김경심, 이동수. 2005. 시화호 중 다환방향족 탄화수소(PAHs)의 농도와 매질별 분배 특성. 대한환경공학회지. 27:690-696.
- 류중성, 최진우, 강성길, 고철환, 허성희. 1997. 시화 방조제 건설 이후 시화호 다모류의 종조성 및 서식밀도 변화. 한국해양학회지. 2:101-109.
- 이태원, 문형태, 허성희. 1997. 시화호 수질 악화에 따른 시화호와 주변 해역 어류의 종조성 변화. 한국해양학회지. 2:110-116.
- 최정훈, 강정원, 홍대벽, 박용안. 2000. 시화호 퇴적물의 유기탄소, 유기질소 및 중금속 함량과 분포. 한국해양학회지. 5:276-284.
- 최정훈, 김미옥. 2001. 시화호 배수갑문 운용에 따른 용존산소와 pH 변화. 한국지구과학회지. 22:195-207.
- 한국해양연구원. 2001. 전국 연안의 지속성 유기오염물질 오염실태 조사연구. BSPM. 00070-00-1336-3. 529pp.
- 현상민, 천종화, 이희일. 1999. 시화호의 퇴적환경과 중금속 오염. 한국해양학회지. 4:198-207.
- 홍혁기, 박종민, 김동훈, 임흥빈. 2005. 시화호 표층퇴적물의 중금속 분석. 한국환경분석학회지 8:1-6.
- 谷口直之. 2001. SODとNOおよびグルタチオン代謝のクロストークによるレドックス制御. pp. 1-11. 酸化ストレス・レドックスの生化学(谷口直之, 淀井淳司編). 共立出版, 東京.
- Ahmad I, M Pacheco and MA Santos. 2004. Enzymatic and nonenzymatic antioxidants as an adaptation to phagocyte-induced damage in *Anguilla anguilla* L. following *in situ* harbor water exposure. Ecotoxicol. Environ. Safe. 290-302.
- Aksnes A and LR Njaa. 1981. Catalase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in different fish species. Comp.

- Biochem. Physiol. 69B:893-896.
- Bainy ACD, E Saito, PSM, Carvello and VBC Junquera. 1996. Oxidative stress in gill and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aquat. Toxicol.* 34:151-162.
- Beutler E. 1975. *Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods*. Grune and Stratton, New York.
- Buhler DR and DE Williams. 1988. The role of biotransformation in the toxicity of chemicals. *Aquat. Toxicol.* 11:19-28.
- Burke MD and RT Mayer. 1974. Ethoxyresorufin: direct fluorometric assay of a microsomal *O*-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholanthrene. *Drug Metab. Disp.* 2:583-588.
- Carlberg I and B Mannervik. 1975. Purification and characterization of the flavo enzyme glutathione reductase from rat liver. *J. Biol. Chem.* 250:5475-5480.
- Calibone A. 1985. Catalase activity. pp. 283-284. In *CRC Handbook of Methods in Oxygen Radical Research* (Greenwald, RA ed.). CRC Press, Boca Raton.
- DiGiulio RT, C Habig and EP Gallagher. 1993. Effects of black river harbour sediments on indices of biotransformation, oxidative stress, and DNA integrity in channel catfish. *Aquat. Toxicol.* 26:1-2.
- Estabrook RW. 1982. Modifiers and the mechanisms of cytochrome P450 function. pp. 133-138 In *Microsomes, Drug Oxidations, and Drug Toxicity* (Sato R ed.). Tokyo Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- Fatima M, I Ahmad, I Sayeed, M Athar and S Raisuddin. 2000. Pollutant-induced overactivation of phagocytes is concomitantly associated with peroxidative damage in fish tissues. *Aquat. Toxicol.* 49:243-250.
- Fent K and TD Bucheli. 1994. Inhibition of hepatic microsomal monooxygenase system by organotins *in vitro* in freshwater fish. *Aquat. Toxicol.* 28:107-126.
- Fent K and JJ Stegeman. 1991. Effects of tributyltin chloride *in vitro* on the hepatic microsomal monooxygenase system in the fish *Stenotomus chrysops*. *Aquat. Toxicol.* 20:159-168.
- Freeman, B and JD Crapo. 1982. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* 47: 412-425.
- Girotti AW. 1990. Photodynamic lipid peroxidation in biological system. *Photochem. Photobiol.* 51:497-509.
- Goksøyr A and L Förlin. 1992. The cytochrome P450 system in fish, aquatic toxicology and environmental monitoring. *Aquat. Toxicol.* 22:287-312.
- Habig WH, MJ Pabst and WB Jakoby. 1974. Glutathione *S*-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249:7130-7139.
- Halliwell B. 1987. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J.* 1:358-364.
- Kappus H. 1987. Oxidative stress in chemical toxicity. *Arch. Toxicol.* 60:144-149.
- Karuzina II and AI Archakov. 1994. The oxidative inactivation of cytochrome P450 in monooxygenase reactions. *Free Rad. Biol. Med.* 16:73-97.
- Kime DE. 1998. *Endocrine Disruption in Fish*. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Lawrence RA and RF Burk. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 76:952-958.
- Lemaire P, L Förlin and DR Livingstone. 1996. Responses of hepatic biotransformation and antioxidant enzymes to CYP1A-inducers (3-methylchloranthrene, β -naphthoflavone) in sea bass (*Dicentrarchus labrax*), dab (*Limanda limanda*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol.* 36:141-160.
- Lenartova V, K Holovska, JR Pedrajas, E Martinez-Lara, J Peinado, J Lopez-Barea, I Rosival and P Kosuth. 1997. Antioxidant and detoxifying fish enzymes as biomarkers of river pollution. *Biomarkers* 2:247-252.
- Livingstone DR. 1991 Organic xenobiotic metabolism in marine invertebrates. pp.45-185. In *Advances in Comparative and Environmental Physiology* (Gilles R ed.). Springer, Berlin.
- Livingstone DR. 1998. The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 120A:43-49.
- Lowry OH, NJ Roseborough, LA Farr and RJ Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.
- Omura T and R Sato. 1964. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.* 239:2370-2378.
- Omura T and S Takesue. 1970. A new method for simultaneous purification of cytochrome b5 and NADPH-cytochrome c reductase from rat liver microsomes. *J. Biochem.* 67:249-257.
- Philips AH and RG Langdon. 1962. Hepatic triphosphopyridine nucleotide-cytochrome c reductase: isolation, characterization, and kinetic studies. *J. Biol. Chem.* 237:2652-2660.
- 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.
- Schlezinger JJ, WDJ Struntz, JV Goldstone and JJ Stegeman. 2006. Uncoupling of cytochrome P450 1A and stimulation of reactive oxygen species production by co-planar polychlorinated biphenyl congeners. *Aquat. Toxicol.* 77:422-

- 432.
- Stadtman ER. 1991. Ascorbic acid and oxidative inactivation of proteins. *Am. J. Clin. Nutr.* 54:1125-1128.
- Stephensen E, J Sturve and L Förlin. 2002. Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver. *Comp. Biochem. Physiol.* 133C:435-442.
- Winston GW and RT DiGiulio, 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.* 19:137-161.

Manuscript Received: May 30, 2008
Revision Accepted: June 23, 2008
Responsible Editor: Myung Chan Gye