

이학석사 학위논문

Polychlorinated biphenyls의 장기
노출에 따른 붕어, *Carassius*
*auratus*의 성장, 호르몬 및
대사효소계의 변동

2006년 2월

부경대학교 대학원

어 병 학 과

이 옥 현

이학석사 학위논문

Polychlorinated biphenyls의 장기
노출에 따른 붕어, *Carassius*
*auratus*의 성장, 호르몬 및
대사효소계의 변동

지도교수 강 주 찬

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함

2006년 2월

부경대학교 대학원

어 병 학 과

이 옥 현

이옥현의 이학석사 학위논문을 인준함

2006년 2월 24일

주 심 약 학 박 사 정 준 기 ㉠

위 원 이 학 박 사 김 기 홍 ㉠

위 원 이 학 박 사 강 주 찬 ㉠

목 차

목차	i
Abstract	iii
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	9
1. 실험어와 실험 조건	9
2. 실험 용액	10
3. 시료 채취	10
3-1. 혈청성분	11
3-2. 조직	12
4. Phase I 효소분석	12
4-1. Ethoxyresorufin <i>O</i> -deethylase (EROD)	12
4-2. Ethoxyrecoumarin <i>O</i> -deethylase (ECOD)	13
5. Phase II 효소분석	13
5-1. UDP-glucuronyl transferase (UDPGT)	13
5-2. Glutathion S-transferase (GST)	14
6. 항산화 효소 SOD 분석	14
7. Vitellogenin 분석	14
8. 스테로이드 호르몬 측정	15
9. 단백질 분석	16
10. 유의성 검정	16
III. 결 과	17
1. 성장에 미치는 영향	17
2. Hepatosomatic index (HSI)	18

3. Phase I 관련 효소	23
3-1. Ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) 활성	23
3-1-1. 간	23
3-1-2. 신장	23
3-2. Ethoxycoumarin O-deethylase (ECOD) 활성	24
3-2-1. 간	24
3-2-2. 신장	25
4. Phase II 관련 효소	30
4-1. UDP-glucuronyl transferase (UDPGT) 활성	30
4-1-1. 간	30
4-1-2. 신장	30
4-2. Glutathione S-transferase (GST) 활성	31
4-2-1. 간	31
4-2-2. 신장	31
5. 항산화효소	37
5-1. Superoxide dismutase (SOD) 활성	37
5-1-1. 간	38
5-1-2. 신장	37
6. Vitellogenin	41
7. 스테로이드 호르몬	43
8. 혈청 내 성분 분석	46
IV. 고 찰	49
V. 요 약	64
VI. 감사의 글	66
VII. 참고 문헌	67

Changes of growth, hormone and xenobiotic-metabolizing enzymes in
crucian carp, *Carassius auratus* after long-term PCBs exposure

Ok Hyun Lee

Department of Fish pathology, Graduate School
Pukyong National University

Abstract

The objective of this study was to investigate the effects of long-term exposure to Aroclor 1254 on selected detoxification enzymes (EROD, ECOD, UDPGT, GST) and antioxidant enzyme (SOD) in the liver and kidney, growth, hematological parameters, sex steroid hormone and vitellogenin variation on crucian carp (*Carassius auratus*). Crucian carp were exposed to various concentrations of Aroclor 1254 (0, 2, 4, 8, 16, 32 $\mu\text{g L}^{-1}$) for 32 weeks.

Length and weight growth rates of crucian carp exposed to Aroclor 1254 were significantly decrease after 16, 24, 32 weeks and growth rates were significantly decrease above 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ compared to control. This study revealed that high Aroclor 1254 concentration ($\geq 32 \mu\text{g L}^{-1}$) reduced growth of crucian carp. Aroclor 1254 markedly increased microsomal cytochrome P-450-dependent monooxygenase activities toward 7-ethoxyresorufin and 7-ethoxycoumarin in the fish tissues. Aroclor 1254 induced significantly elevated liver ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) and ethoxycoumarin *O*-deethylase (ECOD). With respect to enzymes mediating conjugation reactions, hepatic and renal UDP-glucuronyl transferase (UDPGT) activities showed elevated levels especially with the 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254. Crucian carp hepatic cytosolic GST activity, enhanced by all the Aroclor 1254, was found to be a sensitive biochemical marker of oxidative stress. Crucian carp exposed to Aroclor 1254 was dependent on the exposure periods and Aroclor 1254 concentration. Long-term exposure to Aroclor 1254 induced EROD, ECOD, UDPGT, GST, SOD activities in the liver and kidney.

Plasma testosterone level was increased significantly in female fish exposed to Aroclor 1254 (32 $\mu\text{g L}^{-1}$) at 32 weeks. However, Plasma estradiol-17 β was decreased significantly in female fish exposed to Aroclor 1254 (16 and 32 $\mu\text{g L}^{-1}$) at 32 weeks. Levels of plasma vitellogenin (VTG) in male fish increased at $\geq 2 \mu\text{g L}^{-1}$ after exposure with Aroclor 1254. Plasma VTG level was no significant difference in female fish exposed to Aroclor 1254 compared to control. These data indicate that waterborne can affect the toxicity of xenobiotics to fishes through alterations in hepatic and renal enzyme systems, and thus should be considered a potential source of variation in toxicological studies with fishes.

I. 서론

현재 지구상에는 약 1,900만종의 화학물질이 존재하는 것으로 알려져 있으며, 이들 중 상업적으로 이용되고 있는 화학물질은 미국이 7만 5천 여종, 유럽이 10만 여종, 일본이 6만 여종, 우리나라가 3만 6천 여종이다 (환경부, 1996). 다양한 종류의 화학물질들이 인간 생활에 사용되어 왔으나 일부 화합물들은 인체의 위해성 및 환경오염 문제 등 사회적 문제로 대두되면서 사용이 중단되었으며, 이러한 물질 중 PCBs (Polychlorinated biphenyls)가 대표적인 사례이다.

유기 염소계 화합물의 일종인 PCBs는 biphenyl기 ($C_6H_5-C_6H_5$)에 하나 이상의 수소 원자가 염소로 치환된 물질을 총칭하며, 치환된 염소수 (1염소화~10염소화)와 위치에 따라 이론적으로 209종의 이성체가 존재하는 내분비계 장애물질이며, 이 중에서 일부 이성체들은 독성과 환경 내 잔류성이 다이옥신에 버금가는 유기오염 물질이다 (Kimbrough, 1987).

PCBs의 물리적 특성을 보면, 비등점이 매우 높은 액상의 유체로, 열역학적으로 매우 안정할 뿐만 아니라 화학적 안전성이 매우 우수하다. PCBs는 전기 절연성이 좋고 열에 매우 안정하여 변압기 및 콘덴서 등 화재가 발생하기 쉬운 전기 관련 제품의 절연유로서 널리 사용되어 왔으며, 냉각성, 화학안정성 및 침투성이 좋고 물에 잘 녹지 않아 화학 기계 플라스틱 공업 및 도료 공업 등에 열매체, 윤활유, 가소제 및 도료의 첨가제 등으로써 광범위하게 사용되었다 (Hutzinger *et al.*, 1974; Erickon, 1997; Birnbaum *et al.*, 1998). 수용해도가 낮고 octanol/water 분배계수가 큰 PCBs는 부유물질에 대한 친화력이 크며 염소수가 증가하면 지용성이 증가하는 특성 때문에 환경이나 생체 내에서 분해되기가 어렵고 장기간 환경에 잔류하여 생물에 만성 장애를 일으키는 것으로 알려지면서 1970년대 초부터 사용이

제한 또는 금지되었다 (Muir *et al.*, 1988). 그러나 실제로 제품의 형태로 일부 사용되고 있고 재고나 폐기물의 형태로 존재할 가능성이 매우 높으며 산업 생산 공정의 열 공정과 연소과정 (연료연소, 쓰레기소각, 철 산화 공정) 에서 부산물로 발생하는 등 지속적으로 환경으로 배출되고 있기 때문에 PCBs는 아직도 우리 생활 곳곳에 존재한다.

Lee (2001)에 따르면, 경기만의 PCBs 농도는 0.99~580 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 로서 가장 높았으며, 남양만 0.99~2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 시화호는 2.7~28.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 가 퇴적토에 함유된 것으로 보고되었다. 또한 Jeong 등 (2001)은 낙동강 수계의 퇴적물에 대한 PCBs의 분포 특성 조사에서 퇴적물내의 PCBs 농도분포가 신평-장림 공장단지에서 108~141.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 로 가장 높았으며 그 외의 낙동강 주변에서는 1.1~5.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 로서 상류보다는 하류의 공단부근에서 PCBs의 농도가 높게 나타나고 있다. 환경부 보고(2002)에 따르면 낙동강 유역에 서식하는 붕어 체내에서 조사한 PCBs의 축적 농도는 0.74~5.41 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 로 황소개구리 0.24~0.73 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 보다 높게 축적됨을 보고하였다. 따라서 PCBs는 먹이사슬을 통한 생물축적이 일어날 가능성이 크며, 결국 오염된 수산물의 섭취를 통하여 인간에게도 영향을 미칠 수 있다 (Lindström-Seppä *et al.*, 1996; Morris and Carbral, 1986).

PCBs 노출에 대한 포유류에서의 독성 효과를 보면 성, 종, 연령에 의존적으로 나타나며 간 손상, 암 유발, 생식계 · 면역계 · 신경계의 기능 장애 등 다양한 독성 영향이 증명되었다.

최근까지 알려진 어류에 대한 PCBs의 독성에 대한 연구를 살펴보면 PCBs 복강 주사 후 연령에 따른 면역반응 민감도의 차이 (Duffy *et al.*, 2003), PCB77를 복강 주사한 결과 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss*의 조직별 항산화 효소 유도 차이(Diana *et al.*, 1995), 잉어, *Cyprinus carpio*의 해독효소의 유도 (Belpaeme *et al.*, 1996), 송어, *Salmo trutta*

*fario*의 유전 독성 유발 (Belpaeme *et al.*, 1996), 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss*의 스테로이드 생성 방해 (Miranda *et al.*, 1992), 어류의 CYP1A의 유도 (Dioxon *et al.*, 2002), 호르몬 합성의 변화 (Muller), 호르몬 저장과 분비의 변화 (Hirsch), 그리고 생식소와 간에 미치는 조직학적 병변 (Sivarajah *et al.*, 1978) 등이 있다. 그러나 PCBs의 대한 대부분의 연구는 복강 주사와 사료를 통한 노출 실험에 따른 급성 독성 실험이거나 단기간 노출에 관한 것이 대부분이다. 따라서, PCBs의 일종인 Aroclor 1254가 장기간 수중 노출시 어류에 야기 될수 있는 다면적인 독성 연구가 필요한 실정이다.

유기오염물질인 PCBs는 수중의 부유물질에 흡착되어 섭이를 통해 어류에 축적되어 어류의 성장을 방해한다. 이렇듯 어류의 성장은 수온, 광주기, 섭이 등의 조건에 의해 영향을 받으며, 성장률의 변화는 주로 체내 항상성 유지와 오염물질을 무독화 시키기 위한 에너지대사의 증가에 의한다 (Amos and Sarah, 1985; De Boeck *et al.*, 1997). 그러므로 성장은 환경의 변화에 대한 일반적인 기초자료로서의 가치가 있다 (Brett, 1979). 또한, 혈액학적 연구는 스트레스를 유발하는 유해물질들에 의하여 그 구성이 변동되므로 오염물질로 인한 각종 스트레스를 받은 어류의 혈액학적 성상 (hematological parameters)의 변화로 환경의 오염수준을 감지 할 수 있다.

일반적으로 어류의 생화학적 변화를 조사함으로서 오염물질의 존재와 양을 추정하려는 bioindicator에 대한 연구는 활발히 진행되고 있으며 주로 detoxification enzymes의 활성을 측정함으로서 이루어졌다. 생체는 외인성 유해물질이 들어오면 이를 체외로 배설하기 위해 이물질대사효소계 (xenobiotic-metabolizing enzyme system)가 반응하여 생체변환을 일으킨다 (Van Veld, 1990). 이들 효소계는 대부분 세포의 microsome에 국재

하며, 어류에서는 cytochrome P450 monooxygenase (phase I)와 포합효소 (phase II)가 주로 관여한다고 알려져 있다 (Chambers and Yarbrough, 1979; Hansson *et al.*, 1978). 일반적으로 소수성의 특성을 갖는 유기오염물질인 PCBs의 생체 내 대사는 대부분이 간에서 이루어지지만 신장에서도 이루어진다. 간에서 이물질대사에 관여하는 세포부위는 microsome 분획에 존재하는 이물질대사효소계이고 이물질대사반응의 과정은 크게 제 1상 반응 (Phase I)과 제 2상 반응 (Phase II)으로 나뉜다 (Kleinow *et al.*, 1987; Stegeman and Kloepper-Sams, 1987). 제 1상 반응 (Phase I)은 기능기 (functional group)를 도입하는 반응과정으로 많은 지용성 약물이 산화 (oxidation), 환원 (Reduction), 가수 분해 (Hydrolysis)등을 받아서 극성기를 생성한다. 제 2상 반응은 포합반응으로서 UDP-glucuronyl transferase (UDPGT), sulfotransferase (SULT)와 glutathione S-transferases (GST) 등의 효소가 오염물질 또는 제 1상 반응을 거친 대사산물에 생체성분 (glucuronate, sulfate, glutathione등)이 결합되는 단계로서 이 과정을 거친 유기오염물질은 독성을 잃고 체외배출이 촉진된다 (Goksoyr and Forlin, 1992; 박, 1995).

Cytochrome P450 1A1은 7-ethoxyresorufin-*O*-deethylase (EROD)의 기질인 7-ethoxyresorufin과 aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH)의 기질인 benzo(a)pyrene을 대사시키기 때문에 EROD와 AHH 활성도 측정을 통해서 cytochrome P4501A1의 농도를 간접적으로 알 수 있다. 또한 7-ethoxycoumarin-*O*-deethylase (ECOD) 역시 cytochrome P450-dependent-monooxygenases 효소로 cytochrome P450의 농도를 조사하는데 활용되고 있다. UDP-glucuronyl transferase(UDPGT)는 UDP-glucuronic acid를 glucuronic acid로 전환 촉매하는 내인성, 외인성 화합물의 해독기전에 중요한 효소로 담즙합성에 필요한 황색 담즙색소인

빌리루빈(bilirubin)의 생성에 관여하며(Brown *et al.*, 1989; Drake *et al.*, 1992), Glutathione S-transferase (GST)는 환원된 glutathione의 화학적 결합을 촉매하는 효소의 한 group으로 외인성 물질의 노출에 의한 생화학적 지표로써 환경 오염 지표로 사용되어져왔다 (Livingstone, 1998).

이물질대사효소계 (xenobiotic-metabolizing enzyme system)가 반응하여 생체변환을 일으킬 때 일어나는 산화-환원에 의한 작용에서는 전자-전달계에 의한 전자의 전달이 이루어지며, 한편으로는 생체 내에 존재하는 산소분자들에 의한 상호작용이 함께 수반된다. 그러나 산소분자의 작용시 산소의 부분적인 환원으로 superoxide ion (O_2^-), hydroxyl radical (OH)과 같은 free radical이 생성되어 지방질 성분과 지질과산화반응 (lipid peroxidation)을 통한 지질의 자동산화를 촉진시킬 수 있어서 이상대사를 초래할 수 있다. Free radical은 방사선의 조사, 약물, 화학물질 및 중금속 등의 폭로로 인하여 생성되며 (Kraut *et al.*, 1981; Kasprzak, 1991; Nelson, 1995), 분자상의 산소가 환원되어 superoxide radical이 생성되고 다시 전자와 수소를 받아 과산화수소 (hydrogen peroxide)가 생성된다.

생성된 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)인 superoxide ion과 hydroxyl radical들은 세포막, 단백질 및 핵산 등을 손상시켜 세포의 기능을 억제시키며 더 나아가서는 체내의 항상성이 불균형화 되는 현상을 초래한다 (Jakoby, 1980; Sunderman, 1986; Nelson, 1995). 그러나, 정상적인 생체 내에는 체내의 항상성을 유지하기 위한 많은 효소들이 존재하여 반응성이 큰 ROS를 제거시키는데, 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD)는 생성된 O_2^- 를 H_2O_2 로 전환되는 것을 촉매하고 (McCord and Fridovich, 1969) 이렇게 생성된 H_2O_2 는 glutathione peroxidase, catalase 등에 의해서 분해되어 free radical과 과산화지질 (lipid peroxide, LPO)의 축적에 의한 세포손상을 억제하며 SOD는 생체 이물질

에 의해 증가될 수 있다. PCBs는 ROS를 발생시키는 화합물 중 하나이므로, 이러한 항산화 효소 활성화에 미치는 PCBs의 영향에 관한 연구는 bioindicator로서의 활용 가능성을 볼 때, 의미가 있을 것으로 생각된다.

전국 주요 하천, 호소, 습지 등 31개 지점 중 특정 지역에서는 붕어의 이성 생식체 발현율이 3.3~5.0% 정도로 조사되었으나 이러한 현상이 내분비 장애물질에 의한 영향인지 자연적 현상인지 규명할 비교 자료가 없는 실정이다. 따라서, 본 실험에서는 내분비장애물질인 PCBs에 노출된 붕어에 비텔로제닌을 측정하여 내분비장애물질에 의한 영향으로 규명하고자 하였다. 비텔로제닌 (vitellogenin, VTG)은 척추동물 가운데 어류, 양서류 및 곤충 등의 비포유류 난생동물의 암컷 혈장에서 발견되는 단백질로서 난황 단백질의 전구체 물질이다. 외부에서 에스트로겐이나 내분비장애 물질에 노출된 경우에는 수컷과 미성숙한 암컷의 간세포에 작용하여 비텔로제닌 (vitellogenin, VTG)이라는 난황단백전구체를 합성하게 하고 또한 수컷의 정소발달을 억제한다는 보고 (Lech *et al.*, 1996 ; Jobling *et al.*, 1996; Smeets *et al.*, 1999)가 있어 이들 물질이 어류의 생식내분비계에 영향을 준다는 것은 오늘날 널리 알려져 있는 상태이다. 이러한 이유로 난생동물의 수컷에서 유도되는 비텔로제닌은 외인성 에스트로겐 물질에 노출되었음을 암시하는 중요한 지표로 인정되고 있으며 수환경 내 xenoestrogen의 오염을 검사하기 위한 연구가 다양한 어류에서 진행되어 왔다.

따라서 미숙한 붕어 암컷과 수컷이 이들 물질에 노출되었을 때 VTG가 비정상적으로 생합성되어 혈액 중으로 방출된다는 점을 이용하여 어류의 내분비장애물질에 대한 영향 평가를 위한 생물학적 지표로 VTG를 이용하였다.

PCBs가 여러 어류의 수컷에서 혈중 VTG 생성에 영향을 미쳤다는 보고가 있으나 (Chen *et al.*, 1986; Monosson *et al.*, 1994; Tam *et al.*,

1990), 만성 노출 시 수컷은 VTG 합성이 유도되지만 암컷에서는 오히려 feed back 작용에 의해 억제된다고 알려져 있다 (Leory *et al.*, 1996). 하지만 이들 연구는 대부분 성숙한 개체를 대상으로 연구한 것이고 미성숙한 개체를 대상으로 오염물질이 혈중 VTG 생성에 미치는 영향이 성별에 따라 어떻게 차이를 보이는지에 대한 연구는 부족한 실정이다. 또한 내분비계 장애물질에 대한 실내 연구는 단기간의 노출 또는 주사에 의한 VTG의 변동 추이에 대한 실험이 대부분인 관계로 자연 환경에서 일어나고 있는 생태계 이상 현상을 이에 적용하여 해석하기에는 상당한 무리가 있다.

에스트로겐성 내분비계장애물질들에 노출된 수컷 어류에서는 암컷 어류의 주요 에스트로겐인 Estradiol-17 β (E₂)가 혈장에서 높은 농도로 검출되었고 (Giesy *et al.*, 2000), E₂에 의해 합성되는 암컷 특이단백질인 난황전구 물질, 비텔로제닌과 난각형성단백질인 Zona radiata protein의 합성이 유도되었다고 보고하였다 (Ackermann *et al.*, 2002; Christensen, 1999; Jones *et al.*, 2000; Lindholst, 2000). 뿐만 아니라 정소의 발달을 억제시키고 testis-ova가 유도되는 등 암컷화 현상이 나타났으며 (Tabata *et al.*, 2001; Yokota *et al.*, 2000), 이러한 에스트로겐성 내분비계장애물질에 의한 수컷어류의 생식계 교란은 수서생태계의 교란을 야기시킴으로써 지금까지의 연구는 수컷을 중심으로 이루어졌다. 에스트로겐성 내분비계장애물질들은 암컷 어류에서도 생식소 크기 감소, 혈장 호르몬 농도 교란, 혈장 vitellogenin 농도 증가 그리고 산란을 감소 등의 생식기능장애를 일으켰다 (Janssen *et al.*, 1997; Sohono *et al.*, 2001). 이렇듯 성 스테로이드 호르몬은 VTG와 함께 외인성 에스트로젠 물질에 노출되었음을 암시하는 중요한 지표로 인정되고 있으며 많은 연구가 되었다. 그러나 미성숙한 붕어 암컷과 수컷이 내분비장애물질에 노출되었을 때 연구는 미비한 실정이다.

본 연구에서 사용된 실험어는 붕어, *Carassius auratus*는 잉어목 (Order

Cyprinidae) 잉어과 (Family Cyprinidae)에 속하며 한국, 중국 및 일본 등 아시아권에 널리 분포하고 개체수도 풍부한 대표적인 담수어종이다 (Choi *et al.*, 2002). 또한, 환경 변화와 오염에 대한 내성이 강하여 환경독성학적 연구에서 생물학적 모니터로 자주 사용되며, 실험실에서 순화가 잘 될 뿐만 아니라 채집에도 용이한 점이 있기 때문에 실험어로 선택하였다. 최근 생태 영향조사의 주 대상으로 붕어를 선택하여 실내에서 단기간 노출 실험을 통한 내분비계 장애물질의 특성에 대한 조사가 계속 진행 중이나 지금까지 데이터는 장기적인 경향을 설명하기는 어려운 실정이다.

따라서, 본 연구는 장기간동안 상업용으로 제작된 PCB mixture인 Aroclor 1254의 수중 노출에 따른 붕어의 성장과 혈액변동, 간과 신장에서 의 Phase I 효소 (EROD, ECOD), Phase II 관련 효소 (UDPGT, GST), 항산화 효소인 SOD 활성과 독성 기전과 관련하여 VTG 합성에 미치는 영향 및 혈청 성 스테로이드 호르몬의 변화를 조사하여 이를 자연 환경에서 일어나고 있는 생태계 이상 현상에 적용하여 환경의 생태 분석에 대한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험어와 실험 조건

본 연구에 사용된 붕어, *Carassius auratus* 는 충청북도 내수면연구소에서 분양받아 잉어용 부상사료를 공급하면서 실험실에서 4주간 순치시킨 후 외관상 질병의 증세가 나타나지 않은 건강한 개체 ($1.46 \pm 0.05\text{g}$, $4.64 \pm 0.69\text{cm}$)를 선발하여 50L 유리수조에 입식하였다. 한 수조에 70마리의 실험어를 수용하였고, 정수식 방법으로 실시하였으며, 2일마다 환수하였다. 모든 실험은 자연광 하에서 실시하였으며 실험기간 중 수질은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Chemical analysis of the freshwater used in bioassays

Item	Value
Temperature (°C)	21±1
pH	7.3±0.3
Dissolved oxygen (mg L ⁻¹)	6.8±0.5
NH ₄ ⁺ -N (μg L ⁻¹)	8.3±0.4
NO ₂ ⁻ -N (μg L ⁻¹)	1.5±0.3
NO ₃ ⁻ -N (μg L ⁻¹)	7.3±0.6
PO ₄ ³⁻ -P (μg L ⁻¹)	4.5±0.4

2. 실험 용액

상업용으로 제작된 PCBs mixture인 Aroclor 1254 (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Germany)를 GR급 아세톤 (Carlo Erba, Spain)에 1:1의 비율로 용해시켜 증류수로 1g L^{-1} 의 표준용액을 만든 다음, 실험시 증류수로 희석시켜 조제하였으며, 실험농도는 0, 2, 4, 8, 16, $32\mu\text{g L}^{-1}$ 로 설정하였다.

3. 시료채취

시료는 실험 시작 후 8주 단위로 채취하였고, 각 시기마다 실험어는 MS-222로 마취시킨 뒤 전장, 체장, 체중 및 간 중량을 측정하였다. 전장과 체장은 버지니아 캘리퍼스(No. 500, Mitutoyo, Japan)로 측정하였으며, 체중 및 간 중량은 전자저울(HF-3000GD, A&D Company, Ltd, Japan)을 이용하여 측정하였다. 전장 성장률 (Weight growth rate), 체중 성장률 (Weight growth rate)과 간 중량지수 (Hepatosomatic index)는 아래와 같이 산출하였다.

성장률 (%)

$$\text{Weight growth rate (\%)} = \{(W_f - W_i) / W_i\} \times 100$$

W_f = Weight and Weight at the end of experiment

W_i = Weight and Weight at the beginning of experiment

간중량지수 (Hepatosomatic index: HSI)

$$\text{HSI (\%)} = (\text{liver wet weight} / \text{total body wet weight}) \times 100$$

혈액 채취는 실험 개시일로부터 24주째와 32주째에 이루어졌으며 heparin (Heparin-Na, 25,000 I.U., 중외제약) 처리를 한 주사기를 사용하여 미부 정맥에서 채취하였고 4℃, 3000rpm에서 20분간 원심분리 (Micro 22R, Hettich zentrifugen Ltd, Germany)하여 분리한 혈청은 비텔로제닌 측정에 사용하였다. 혈청분석용은 4℃, 3000g에서 10분간 원심분리하였으며, 성 스테로이드 호르몬을 측정하기 위해 4℃, 3000g에서 5분간 원심분리하였다.

3-1. 혈청성분

Aroclor 1254 노출로 인한 혈청 중 유기성분 변화에서 총 단백질량 (total protein), 글루코즈 (glucose), 중성지방 (triglyceride) 및 빌리루빈 (bilirubin)을 각각 Biuret법, GOD/POD법, 효소법, Michaelsson변법을 사용하는 임상용 키트 (Asan Pharm. Co., Ltd.)를 사용하여 측정하였다. 혈장의 무기성분은 칼슘 (calcium), 마그네슘 (magnesium)을 측정하였다. 칼슘은 Arsenaso III법 (Asan Pharm. Co., Ltd.), 마그네슘은 xylidyl blue-I 법 (Asan Pharm. Co., Ltd.)으로 측정하였다.

혈청 중 효소 활성의 변화는 간 기능 검사에 대표적으로 이용되고 있는 GOT (glutamic oxalate transaminase), GPT (glutamic pyruvate transaminase)를 조사하였다. GOT와 GPT는 Reitman-Frankel법으로 시판되고 있는 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.)를 사용하여 측정하였으며 LDH (lactate dehydrogenase)는 kind-king법으로 측정하였다.

3-2. 조직

간, 신장 조직은 teflon-glass homogenizer (099C K4424, Glass-Col Ltd., Germany.)를 이용하여 균질화하였고, 완충액은 Homogenize buffer (100mM K_2HPO_4 buffer, 0.15M KCl, 1mM DTT, 1mM EDTA and 0.1mM PMSF)를 사용하였다. 균질화된 조직은 $9000\times g$, $4^{\circ}C$ 에서 20분간 원심분리하였다. 이 과정에서 얻어진 상등액을 초원심관에 옮긴 후, $4^{\circ}C$ 에서 $105,000\times g$ 로 60분간 초원심분리 (Centrikon T-1170, USA)를 실시하였다. 얻어진 상등액, 즉 cytosol fraction을 분리한후 microsomal pellet에 인산완충용액을 첨가하여 재부유시키고 균질화한 다음 측정하기 전까지 $-70^{\circ}C$ 에서 보관하였다. cytosol fraction은 GST, SOD 활성을 측정하였고 microsome으로는 EROD, ECOD, UDPGT 활성을 측정하였다.

4. Phase I 효소분석

4-1. Ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD)

EROD 활성도는 Burke and Mayer (1974)의 변형된 방법으로 측정하였다. 50mM sodium phosphate buffer (pH 8.0)에 microsome과 $0.5\mu M$ ethoxyresorufin를 넣은 후 $37^{\circ}C$ 에서 10분동안 배양하고 1mM NADPH 첨가로 fluorescence spectrophotometer (BF10001, Packard Instrument Co.)에 옮겨 여기파장 530nm, 방출파장 590nm로 반응을 측정하였으며, 활성은 $pmol\ min^{-1}\ mg^{-1}\ protein$ 으로 나타내었다.

4-2. Ethoxycoumarin *O*-deethylase (ECOD)

ECOD 활성도는 Ullrich 등 (1972)의 방법을 응용하여 측정하였다. 30mM Tris-HCl buffer (pH7.6)에 microsome과 200nM 7-ethoxycoumarin를 넣은 후 29℃에서 5분동안 배양하고 120nmol NADPH를 well cell culture에 가한 다음 fluorescence spectrophotometer (BF10001, Packard Instrument Co.)에 옮겨 여기파장 365nm, 방출파장 460nm로 반응을 측정하였고 활성은 $\text{pmol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ 으로 표시하였다.

5. Phase II 효소분석

5-1. UDP-glucuronyl transferase (UDPGT)

UDPGT 활성도는 p-nitrophenol(pNP)을 기질로써 Hanninen (1968) 방법을 응용하여 microsomal fraction을 측정하였다. Incubation mixtures는 microsomal protein (0.2% Triton X-100를 5분간 미리 처리), 0.5M Tris-maleate 완충액 (pH 7.4), 1mM pNP, 20mM UDP glucuronic acid를 포함한다. UDPGA 첨가를 시작으로, 37℃에서 10분간 배양후 0.5M trichloroacetic acid (TCA)를 첨가하고 즉시 vortex 시킨 후, 5분동안 얼음에 놓아둔다. 원심분리후 상층액에 sodium hydroxide를 처리하였으며 spectrophotometer (Zenyn 200, Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria) 405nm에서 remaining pNP를 측정하였다. 활성은 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ 으로 표시하였다.

5-2. Glutathion S-transferase (GST)

GST의 활성은 Habig (1974) 방법을 응용하여 측정하였다. 각 장기의 cytosol에 0.2M potassium phosphate buffer (pH 6.5), 증류수와 10mM GSH를 혼합시킨다. 기질로 10mM CDNB를 가하여 반응시킨 후, 분광광도계 (Zenyn 200, Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria)를 사용하여 파장 340nm에서 3분간 30초단위로 효소 활성 변화를 측정하였다. 대조구는 증류수를 cytosol과 동량을 첨가하여 위 과정과 동일하게 시행하였고 활성을 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ 으로 표시하였다.

6. 항산화 효소 SOD 분석

SOD 활성은 McCord와 Fridovich (1969)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 0.1mM EDTA를 함유한 50mM phosphate buffer (pH7.8)에 50 μ M xanthine, 20 μ M cytochrome c를 넣은 후 xanthine oxidase를 가하여 550nm에서 3분간 증가되는 흡광도를 측정하였다 (Zenyn 200, Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria). 그리고, 흡광도 550 nm (pH 7.8, 25 $^{\circ}$ C)에서 cytochrome c의 환원량을 50% 억제하는 효소의 양을 1 unit으로 표시하였다.

7. Vitellogenin 분석

ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 실험을 이용하여 Aroclor 1254에 노출시킨 붕어의 혈청을 대상으로 모노클론항체를 이용하

여 비텔로제닌의 정량 검사를 수행하였다. ELISA용 96 well 판에 혈청을 1000배 희석하여 50 μ l씩 넣어 4℃에서 16시간 동안 코팅하였다. 판을 PBS로 세척한 후 PBSTG 용액을 첨가하여 상온에서 1시간 동안 반응시킴으로써 blocking하였다. 판을 PBS-Tween20으로 세척한 후 각 well에 적절하게 희석된 모노클론항체를 넣고 상온에서 2시간 동안 반응시켰으며, PBS-Tween20을 사용하여 판을 3번 세척한 후 alkaline phosphatase가 붙어 있는 secondary antibody를 첨가하였다. 상온에서 2시간 동안 반응시킨 후 PBS-Tween20으로 3번 세척하고 substrate를 넣었다. 상온에서 10분간 반응시킨 후 2.5% EDTA용액 70 μ l씩을 넣어 반응을 중지시킨 다음 595 nm에서 O.D. 값을 측정하였다. 정제된 붕어의 혈액 속에 있는 비텔로제닌의 흡광도를 측정하고 표준적정그래프에 의하여 그 농도를 계산하였다.

8. 스테로이드 호르몬 측정

혈청 estradiol-17 β (E₂)와 testosterone (T)은 국립수산물과학원에서 Aida *et al.* (1984)의 방법에 따라 방사선면역측정법 (radioimmunoassay)에 의해 측정하였다. Rabbit anti-E₂-6-CMO-BSA 항체, Rabbit anti-T-3-CMO-BSA 항체는 Cosmo-Bio Co. Ltd. (Tokyo, Japan)에서 구입하였고, standard 호르몬들은 Steraloids Inc. (Wilton, NH, USA)로부터 구입하였다. 또한 방사선표지 [2,4,6,7-³H]-E₂ and [1,2,6,7-³H]-H는 Amersham Life Science (England)로부터 구입하였다. E₂, T의 RIA계에 있어서 최소 검출량은 각각 12.5pg ml⁻¹, 10pg ml⁻¹이었고, assay 내 (intra-assay)와 assay 간 (inter-assay) 변동계수를 50% 상대결합율에서

조사한 결과, E₂ RIA계에서는 3.4 (n=3)와 11.5% (n=6), T RIA계에서는 2.3 (n=3)와 12.5% (n=6) 이었다. E₂ 항체의 교차율은 estron, estriol 그리고 T에 대하여 각각 0.5%, 0.9% 그리고 0.01% 이었고, 그 외의 다른 스테로이드 호르몬들에 대해서 0.01% 이하의 교차율을 나타냈다. T 항체의 교차율은 dihydrotestosterone, androsten-3, 17-dione, 11-ketotestosterone 그리고 androstenedione에 대하여 각각 2.7%, 0.5%, 0.5% 그리고 0.35이었고, 다른 스테로이드 호르몬들과 0.01% 이하의 교차율을 나타냈다.

9. 단백질 분석

조직의 단백질 함량의 측정은 Bradford (1976) 방법으로 측정하였다. Bovine serum albumin (sigma, USA)을 사용하여 표준검량선을 작성하였다.

10. 유의성 검정

결과의 통계적 처리는 SPSS 통계 프로그램 (SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA test를 실시하였으며, 사후 다중비교는 Duncan's multiple range test를 이용하여 평균간의 유의성을 SPSS version 10 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA, 1997) program을 사용하여 95%와 99% 수준에서 검정하였다.

III. 결 과

1. 성장에 미치는 영향

장기간 Aroclor 1254 노출이 실험어의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 노출 실험 후 8, 16, 24와 32주째에 실험어에 대한 전장 및 체중의 성장률을 조사한 결과는 Fig. 1~2에 나타내었다. 전장 성장률은 Aroclor 1254를 노출한지 8주째에는 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 16주에는 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254 농도구에서만 대조구와 비교하여 유의한 감소가 나타났다. 또한 노출 24주와 32주 이후 역시 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254 농도구에서만 유의한 감소가 관찰되었다. 체중 성장률도 전장 성장률과 마찬가지로 8주째에는 대조구와 노출구사이에 유의한 차이가 나타나지 않았다. 그러나, 16주 이후에는 가장 농도가 높은 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254 농도구에서 유의적인 감소가 나타났으며 32주째에는 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 유의하게 감소하였다.

비만도 지수는 전체적으로 볼때 Aroclor 1254 농도가 높을수록 감소하는 경향을 나타내고 있다 (Fig. 3). 노출 8주째에는 대조구와 비교하였을 때 전 구간에서 유의한 차이를 보이지 않았지만, 노출 16주와 24주째에는 대조구와 비교하여 가장 높은 농도구인 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254 농도구에서만 유의하게 감소하였다. 그러나 노출 32주째에는 대조구와 비교하여 16과 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 유의적인 감소를 나타내었다.

2. Hepatosomatic index (HSI)

Aroclor 1254가 붕어 간에 미치는 영향을 알아보기 위하여 2, 4, 8, 16과 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254에 노출시킨 후, 8, 16, 24와 32일째에 각 농도구에서 HSI의 변동을 조사하였다 (Fig. 4). 간중량지수 역시 성장률과 마찬가지로 노출 8주째에는 대조구와 노출 전 구간에서 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 노출 16주 이후 대조구와 비교하여 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254 농도구에서만 유의한 감소가 나타났으며, 24와 32주 역시 대조구에 비해 가장 높은 농도구인 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254에서만 유의하게 감소하였다.

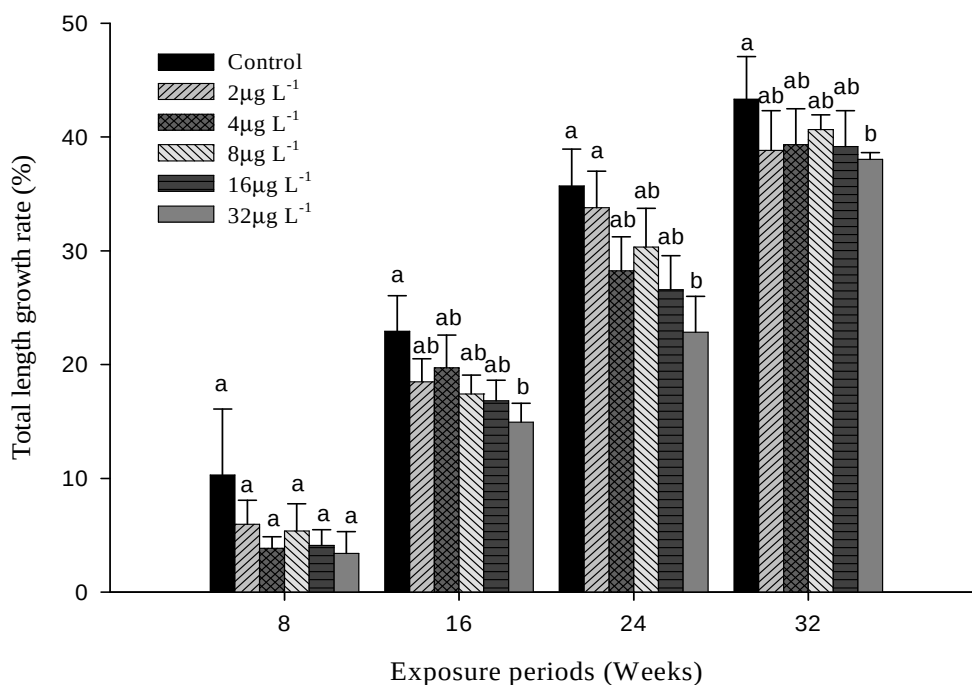


Fig. 1. Total length-growth rate of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 for 32 weeks. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different (P<0.05) as determined by Duncan's multiple range test.

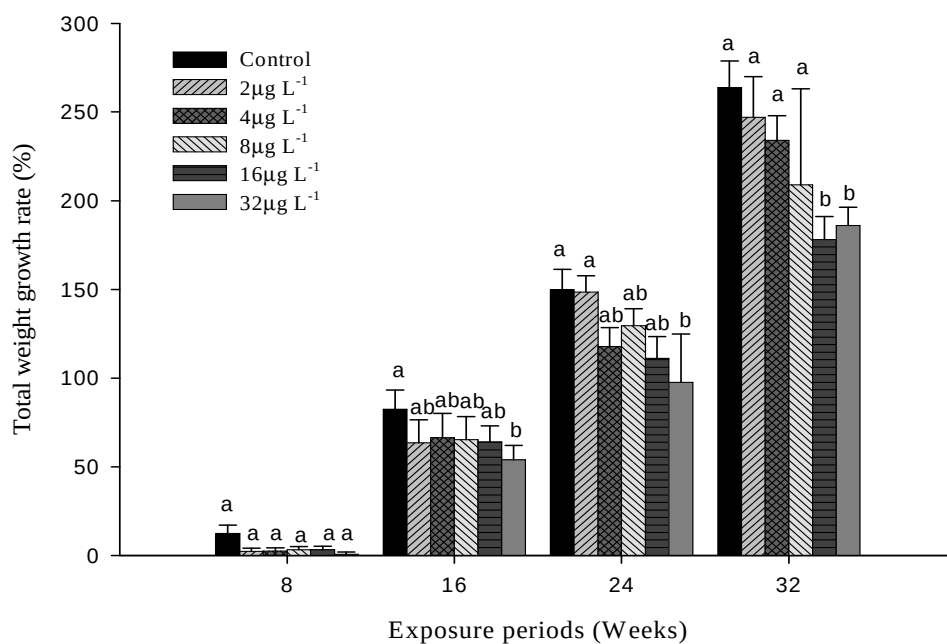


Fig. 2. Total weight-growth rate of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 for 32 weeks. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

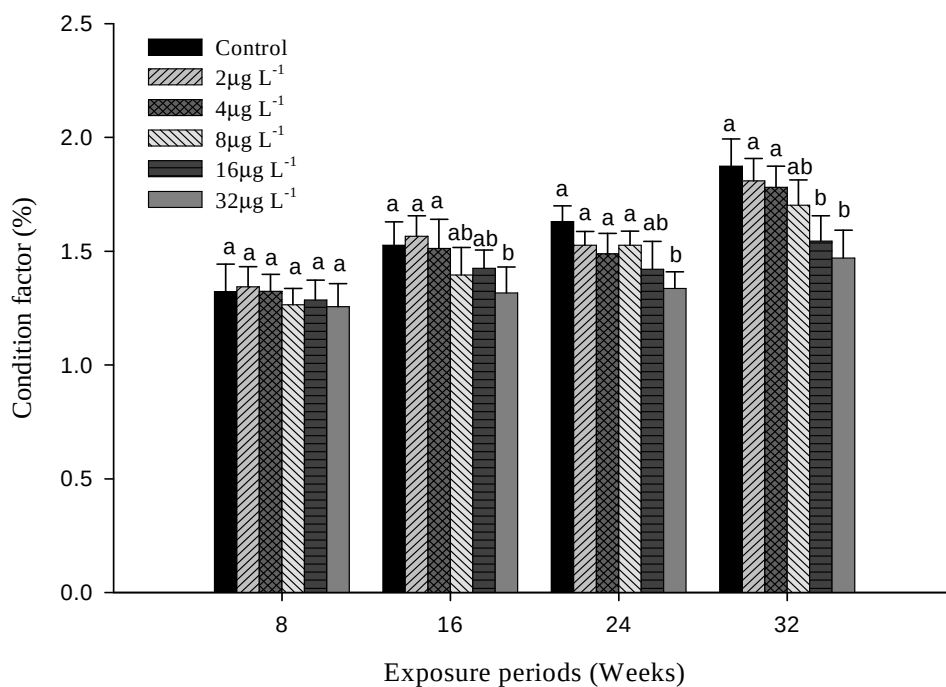


Fig. 3. Condition factor of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 for 32 weeks. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

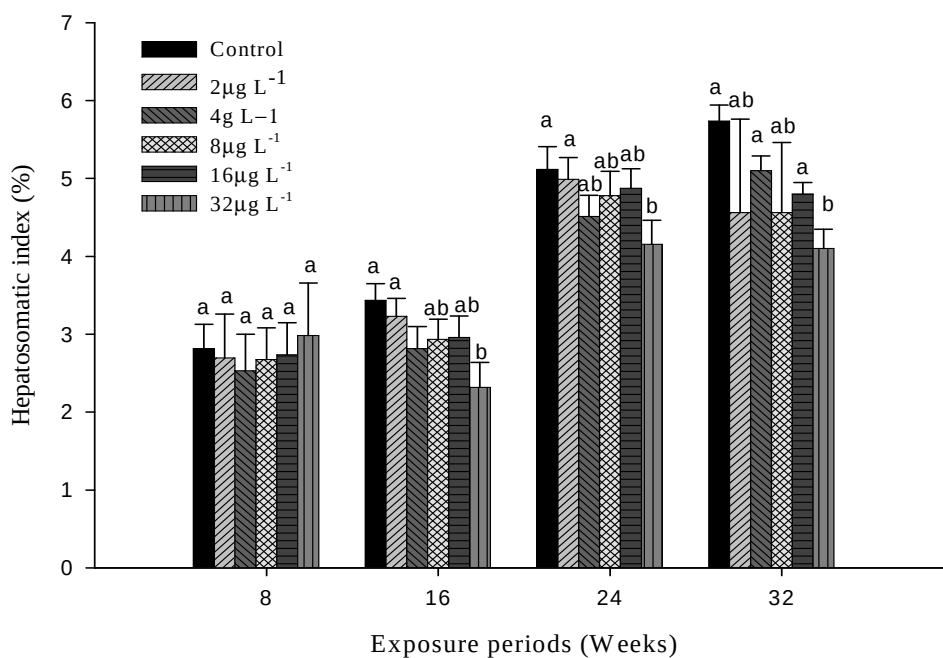


Fig. 4. Variations of the hepatosomatic index (HSI) in the crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 for 32 weeks. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

3. Phase I 관련 효소

3-1. Ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) 활성

3-1-1. 간

독성물질의 체내, 주로 간에서 이루어지는 해독 과정 중 붕괴 (degradation) 또는 비합성 반응 (nonsynthetic reaction)이라 불리는 제 1 상 반응 (Phase I reaction)에 관여하는 효소인 EROD의 활성을 조사함으로써 Aroclor 1254가 붕어에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 간의 EROD 활성은 Fig. 5-1에 나타내었다. 노출 8주째 16과 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서는 각각 240.25 ± 37.60 및 267.99 ± 30.29 pmol resorufin $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein으로 조사되어 대조구에 비해서 유의한 변화가 인정되었다. 노출 16주에는 16과 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 각각 535.05 ± 58.41 과 663.99 ± 74.83 pmol resorufin $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein 이 관찰되었으며 노출 24주째는 각각 848.48 ± 84.74 및 956.36 ± 95.93 pmol resorufin $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein 으로 관찰되어 유의한 증가를 나타냈다. 또한 32주째는 16과 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 1188.67 ± 122.77 및 1669.86 ± 180.23 pmol resorufin $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein 으로 관찰되어 대조구에 비해서 유의한 증가를 보였다.

3-1-2. 신장

독성물질에 노출될 경우 주로 간에서 해독과정이 일어나지만 그외 신장, 심장, 근육 등 여러 조직에서도 해독과정이 일어난다. 따라서 간과 함께 신장에

서의 EROD의 활성은 Aroclor 1254 노출에 따른 생화학적인 오염지표로 활용하고자 하였다. 붕어의 신장의 EROD 활성에 미치는 Aroclor 1254의 영향은 Fig. 5-2에 나타냈다. 효소활성의 변화는 간과 유사하였으며, 노출 8주째와 16주째는 대조구와 비교하여 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서만 112.14 ± 14.88 , $149.80 \pm 18.08 \text{ pmol resorufin min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 유의하게 상승하였다. 그러나 노출 24주째는 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 각각 226.85 ± 26.19 와 $252.21 \pm 36.07 \text{ pmol resorufin min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로, 32주째는 318.75 ± 34.25 와 $353.70 \pm 55.16 \text{ pmol resorufin min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구와 비교하여 유의한 증가를 보였다.

3-2 Ethoxycoumarin *O*-deethylase (ECOD) 활성

3-2-1. 간

간에서 ECOD의 활성에 미치는 Aroclor 1254의 영향은 Fig. 6-1에 나타내었다. ECOD는 EROD에 비해서 낮은 활성을 나타내었는데 Aroclor 1254 노출 8주째와 16주째에는 가장 높은 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서만 각각 52.64 ± 3.46 및 $80.95 \pm 5.95 \text{ pmol coumarin min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 유의하게 높은 활성을 보였다. 그러나 노출 24주째에는 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 각각 123.38 ± 8.10 및 $133.71 \pm 8.56 \text{ pmol coumarin min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 유의한 활성을 나타내었으며 노출 32주째는 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 와 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 각각 152.47 ± 12.27 와 $188.79 \pm 17.69 \text{ pmol coumarin min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구에 비해 유의한 증가를 보였다.

3-2-2. 신장

신장에서 ECOD의 활성에 미치는 Aroclor 1254의 영향은 Fig 6-2에 나타내었다. 신장에서의 ECOD는 간에 비해서 높은 활성이 조사되었으며, Aroclor 1254 노출 8주째와 16주째에는 간에서와 마찬가지로 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서만 각각 52.64 ± 3.46 과 $80.95 \pm 5.96 \text{ pmol coumarin min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구에 비해 유의한 변화를 보였다. 그러나 노출 24주째에는 16과 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 두 농도구에서 각각 123.39 ± 8.9 , $133.71 \pm 8.56 \text{ pmol coumarin min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 유의한 활성을 나타내었다. 또한 노출 32주째 역시 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 152.47 ± 12.27 , $188.79 \pm 17.67 \text{ pmol coumarin min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구와 비교하여 유의한 증가가 인정되었다 ($P < 0.05$).

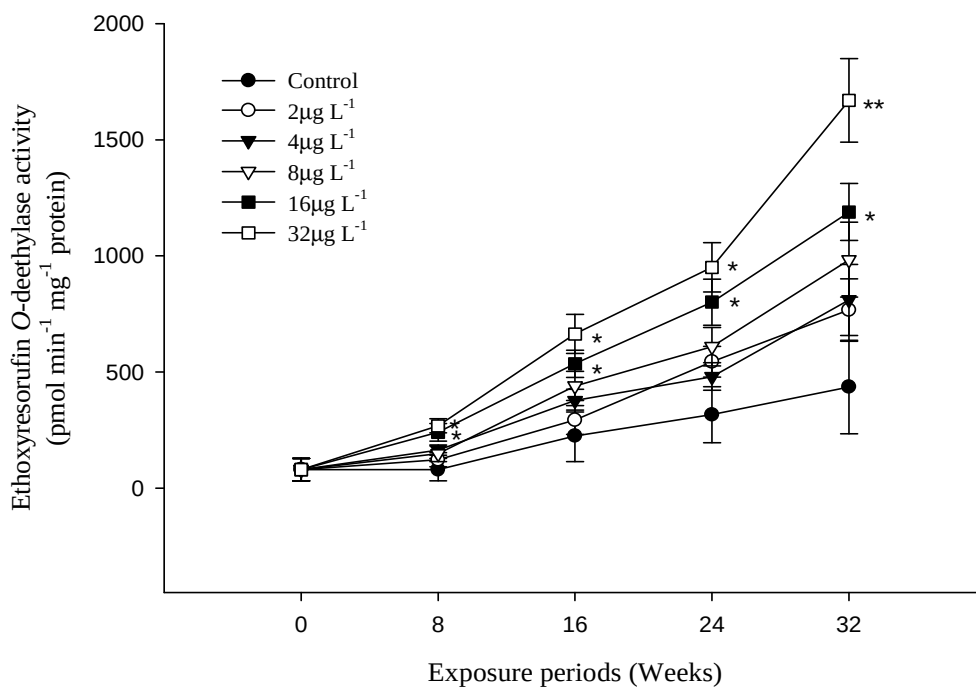


Fig. 5-1. Variations of the Ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) activity in the liver of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 dissolved in freshwater. Data are expressed as mean±S.E. * Significant difference between control and exposed group ; P<0.05, ** ; P<0.01.

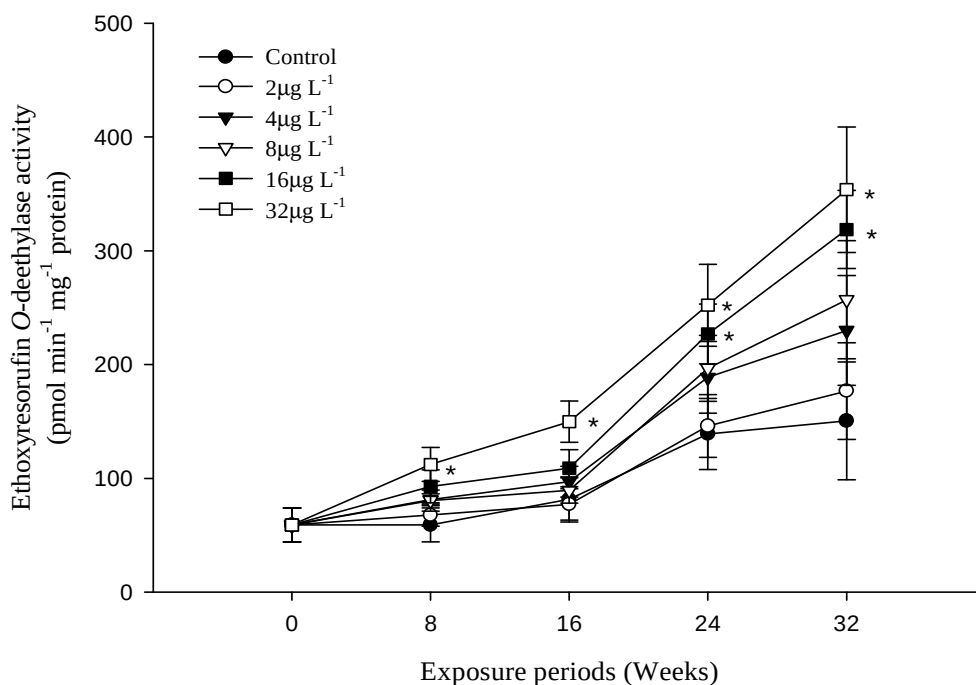


Fig. 5-2. Variations of the Ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) activity in the kidney of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 dissolved in freshwater. Data are expressed as mean $\pm$ S.E. * Significant difference between control and exposed group.

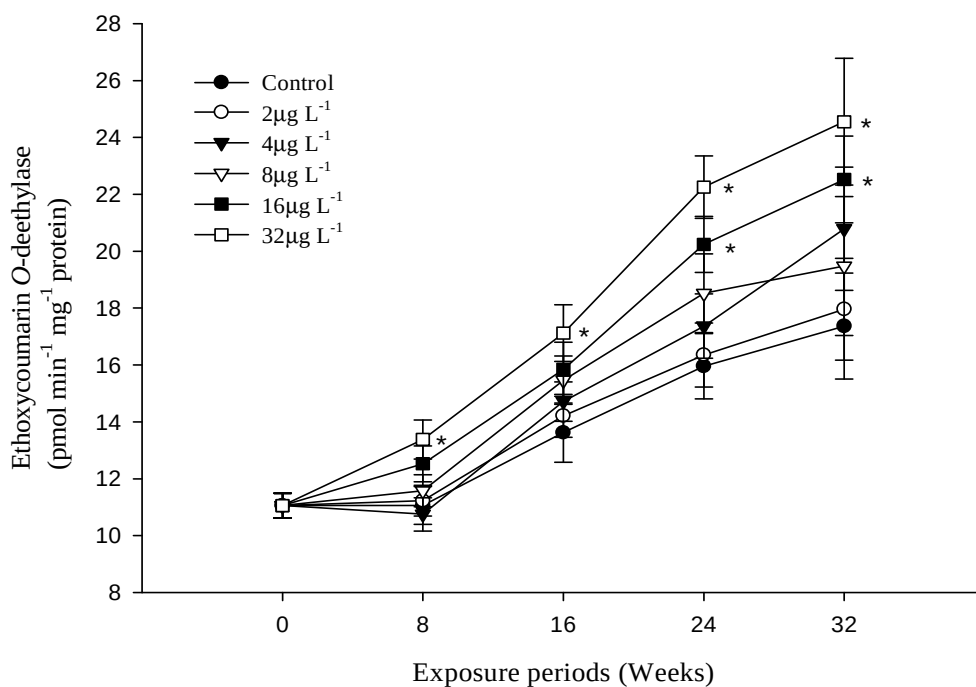


Fig. 6-1. Variations of the Ethoxycoumarin *O*-deethylase (ECOD) activity in the liver of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 dissolved in freshwater. Data are expressed as mean $\pm$ S.E. * Significant difference between control and exposed group ; $P < 0.05$.

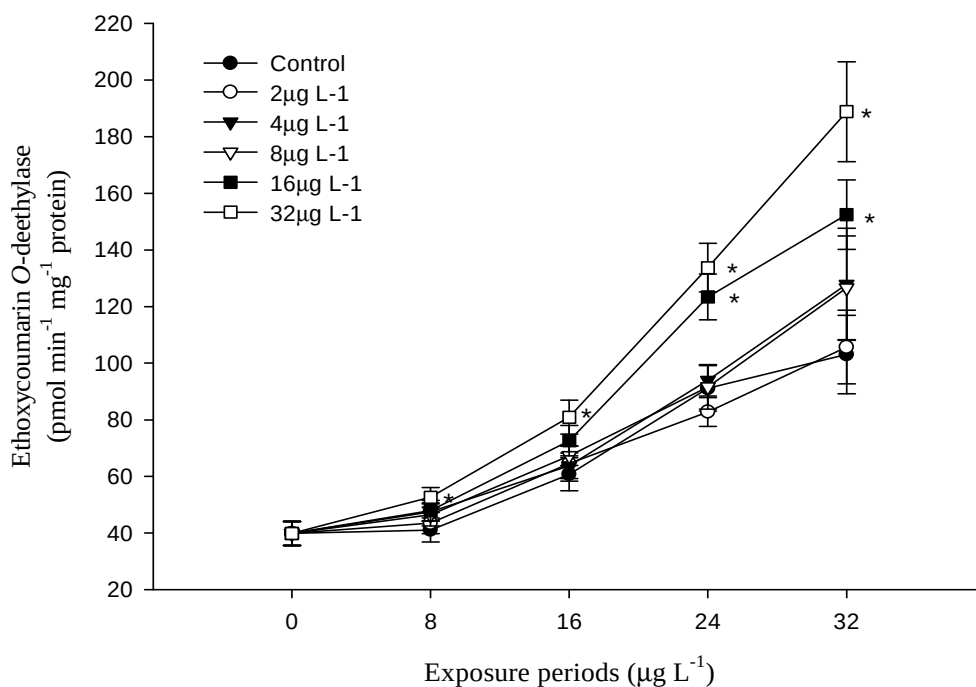


Fig. 6-2. Variations of the Ethoxycoumarin *O*-deethylase (ECOD) activity in the kidney of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 dissolved in freshwater. Data are expressed as mean $\pm$ S.E. * Significant difference between control and exposed group ; $P < 0.05$.

4. Phase II 관련 효소

4-1. UDP-glucuronyl transferase (UDPGT) 활성

4-1-1. 간

포합 (conjugation) 또는 합성 반응 (synthetic reaction)이라고 하며 xenobiotics 또는 대사산물이 내인성 물질과 결합하는 제 II상 반응 (Phase II reaction)에 관여하는 효소인 UDPGT의 활성을 조사함으로써 Aroclor 1254가 붕어에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 간에서의 UDPGT의 활성에 미치는 Aroclor 1254의 영향은 Fig. 7-1에 나타내었다. 노출 8주째와 16주째에는 가장 높은 농도구인 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 각각 0.81 ± 0.13 과 $5.20 \pm 0.98 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구와 비교하여 유의한 활성 변화를 보였지만, 노출 24주째는 그 보다 낮은 농도구인 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상에서 각각 6.96 ± 0.99 및 $6.93 \pm 0.49 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 유의한 변화를 나타내었다. 노출 32주 역시 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상에서 각각 8.46 ± 0.80 및 $9.28 \pm 0.98 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구와 비교하여 유의한 차이를 보였다.

4-1-2. 신장

신장에서의 UDPGT의 활성에 미치는 Aroclor 1254의 영향은 Fig. 7-2에 나타내었다. 신장에서의 UDPGT는 간과 비교하여 아주 낮은 활성을 나타내었다. Aroclor 1254 노출 8주와 16주째의 경우 대조구와 비교하여 전 노출구 사이에 유의한 변화를 나타내지 않았다. 그러나, 노출 24주째와 32

주째에는 가장 높은 농도구인 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 각각 0.21 ± 0.02 및 $0.26 \pm 0.03 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구와 비교하여 유의하게 상승하였다.

4-2. Glutathione S-transferase (GST) 활성

4-2-1. 간

붕어 간 내의 GST 활성에 미치는 Aroclor 1254의 영향은 Fig. 8-1에 나타내었다. 노출 8주째에는 16과 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 두 농도구에서 각각 0.16 ± 0.01 및 $0.17 \pm 0.01 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 유의한 활성을 보였으며 노출 16주 역시 8주와 마찬가지로 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 각각 0.23 ± 0.02 및 $0.24 \pm 0.03 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구에 비하여 유의한 증가를 보였다. 또한, 노출 24주 역시 대조구와 비교하여 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 0.38 ± 0.04 및 $0.40 \pm 0.04 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ min}^{-1} \text{ protein}$ 으로 유의한 상승을 나타내었다. 그러나 노출 32주 후에는 그 보다 낮은 농도인 $8 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서부터 0.61 ± 0.07 , 0.64 ± 0.07 및 $0.69 \pm 0.08 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구에 비하여 유의한 활성 증가를 나타내었다.

4-2-2. 신장

간과 함께 신장에서의 GST의 활성은 Aroclor 1254 노출에 따른 생화학적인 오염지표로 활용하고자 하였다. 신장의 GST의 활성에 미치는

Aroclor 1254의 영향은 Fig. 8-2에 나타내었다. 신장에서의 GST는 간과 거의 유사한 활성이 조사되었으며, 노출 8주째와 16주째에는 가장 높은 농도구인 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서만 각각 0.16 ± 0.01 , $0.21 \pm 0.02 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ 으로 대조구와 비교하여 유의한 변화를 보였다. 하지만, 24주째에는 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 각각 0.27 ± 0.02 및 $0.31 \pm 0.04 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$, 노출 마지막 주인 32주째 역시 0.39 ± 0.02 및 $0.43 \pm 0.03 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ 으로 대조구에 비해 유의한 상승을 나타내었다 ($P < 0.05$).

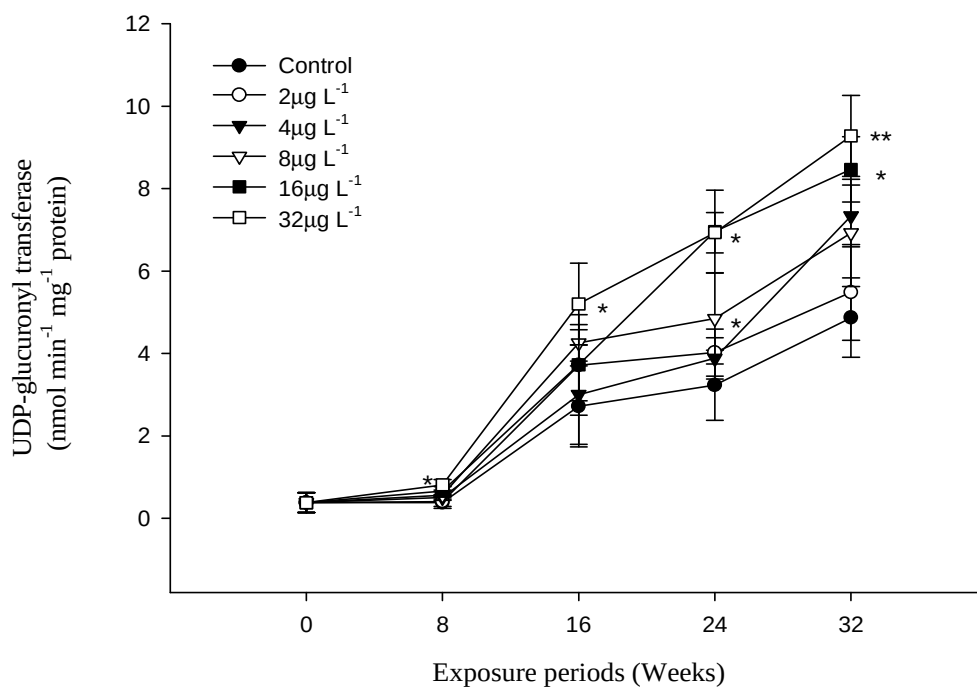


Fig. 7-1. Variations of the UDP-glucuronyl transferase (UDPGT) activity in the liver of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 dissolved in freshwater. Data are expressed as mean $\pm$ S.E. * Significant difference between control and exposed group ; P<0.05, ** ; P<0.01.

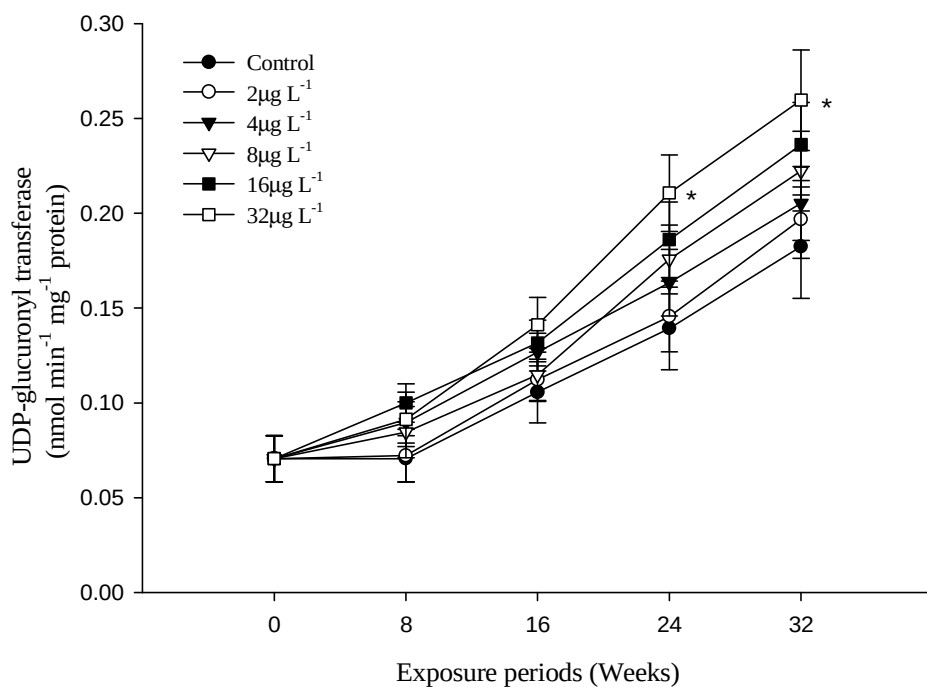


Fig. 7-2. Variations of the UDP-glucuronyl transferase (UDPGT) activity in the kidney of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 dissolved in freshwater. Data are expressed as mean $\pm$ S.E. * Significant difference between control and exposed group ; P<0.05.

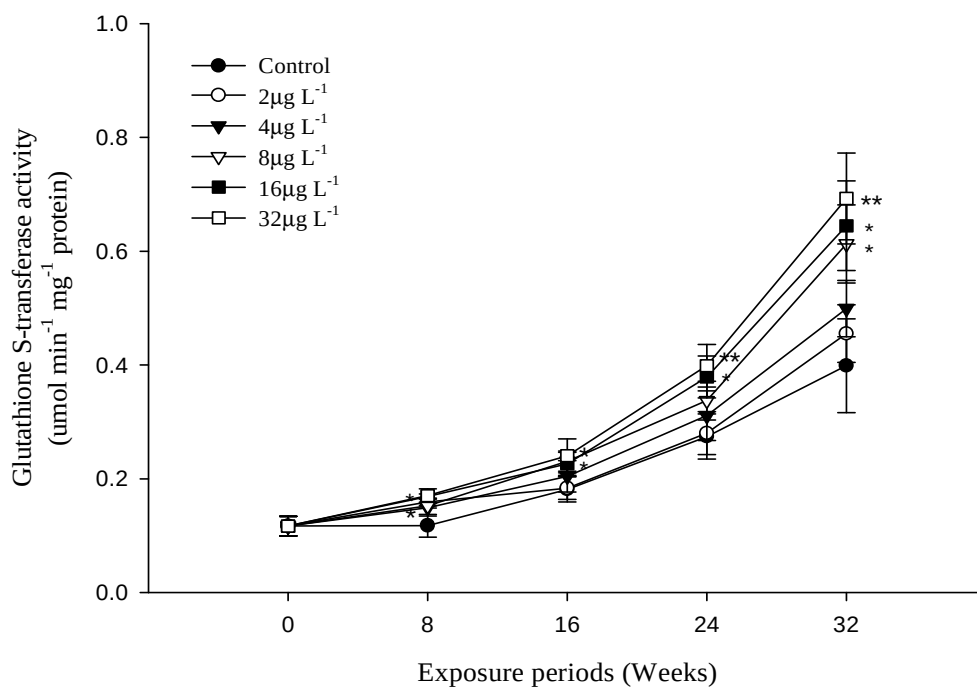


Fig. 8-1. Variations of the Glutathione S-transferase (GST) activity in the liver of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 dissolved in freshwater. Data are expressed as mean±S.E. * Significant difference between control and exposed group ; $P < 0.05$, ** ; $P < 0.01$.

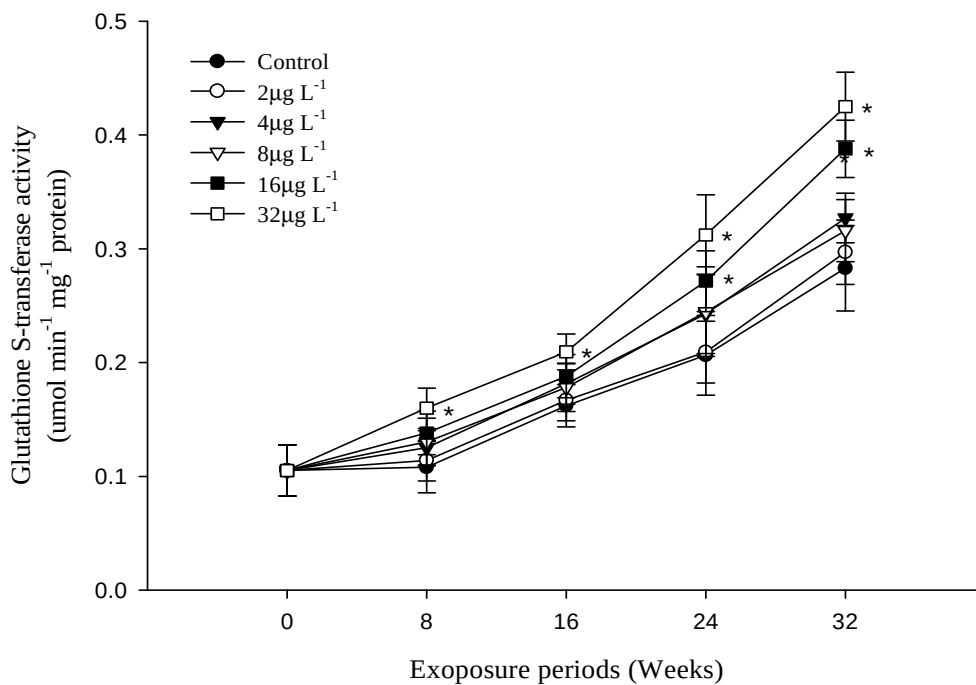


Fig. 8-2. Variations of the Glutathione S-transferase (GST) activity in kidney of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 dissolved in freshwater. Data are expressed as mean $\pm$ S.E. * Significant difference between control and exposed group ; $P < 0.05$.

5. 항산화효소

5-1. Superoxide dismutase (SOD) 활성

5-1-1. 간

독성물질에 대한 방어기작으로 작용하는 항산화효소인 SOD의 활성을 조사함으로써 Aroclor 1254가 붕어에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. Aroclor 1254에 장기간 노출된 붕어 간의 SOD 활성 변화는 Fig. 9-1에 나타내었다. 노출 8주째에는 가장 높은 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서만 $6.95 \pm 0.92 \text{ Unit mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구와 비교하여 유의한 변화를 보였지만, 노출 16주에는 그 보다 낮은 농도인 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서부터 각각 8.10 ± 1.23 및 $9.27 \pm 1.39 \text{ Unit mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 또한 노출 24주째 역시 16과 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 각각 14.81 ± 1.77 및 $15.57 \pm 1.99 \text{ Unit mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 유의한 활성을 보였으며 노출 32주째 역시 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서부터 18.45 ± 2.31 및 $20.12 \pm 2.16 \text{ Unit mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구에 비해 유의한 증가를 나타내었다.

5-1-2. 신장

신장에서의 SOD의 활성에 미치는 Aroclor 1254의 영향은 Fig. 9-2에 나타내었다. 간에서보다 조금 낮은 활성을 보였지만 노출기간 동안 유의한 활성 변화를 나타내었다. 노출 8주, 16주와 24주째는 가장 높은 농도구인 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서만 각각 2.04 ± 0.21 , 4.75 ± 0.46 및 $6.90 \pm 0.87 \text{ Unit mg}^{-1}$

protein 으로 대조구와 비교하여 유의한 상승을 보였지만, 노출 마지막 32 주째에는 그 보다 낮은 농도인 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서부터 각각 8.42 ± 1.09 및 $9.45 \pm 1.20 \text{ Unit mg}^{-1} \text{ protein}$ 으로 대조구에 비하여 유의한 증가를 나타내었다 ($P < 0.05$).

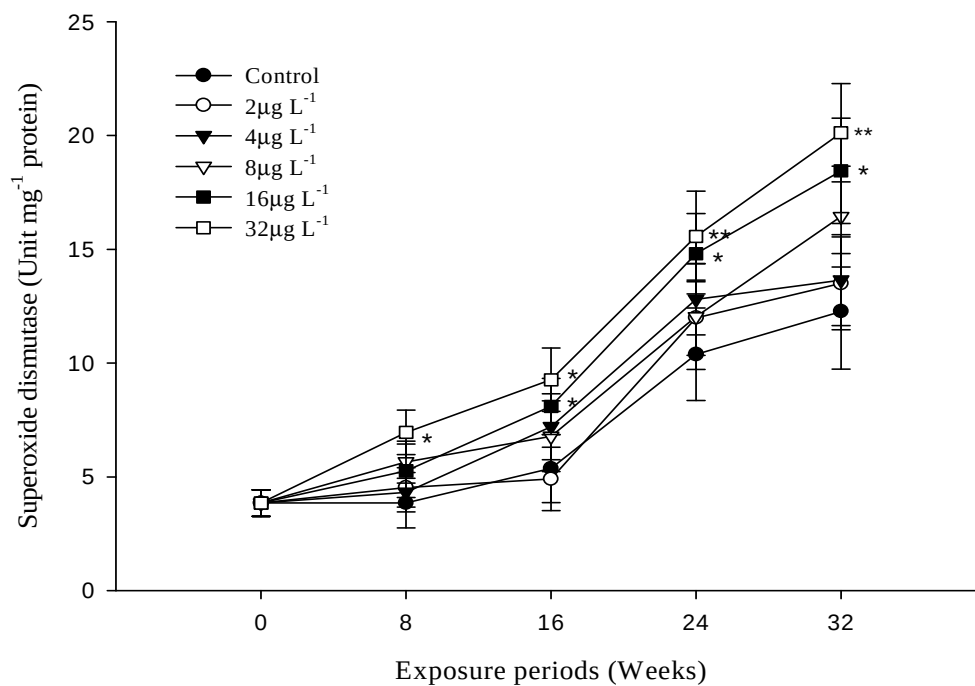


Fig. 9-1. Variations of the Superoxide dismutase (SOD) activity in the liver of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 dissolved in freshwater. Data are expressed as mean $\pm$ S.E. One unit of SOD is defined of the amount of enzyme which inhibits the rate of cytochrome c reduction by 50% at pH 7.8 and 25°C. * Significant difference between control and exposed group ; $P < 0.05$, ** ; $P < 0.01$.

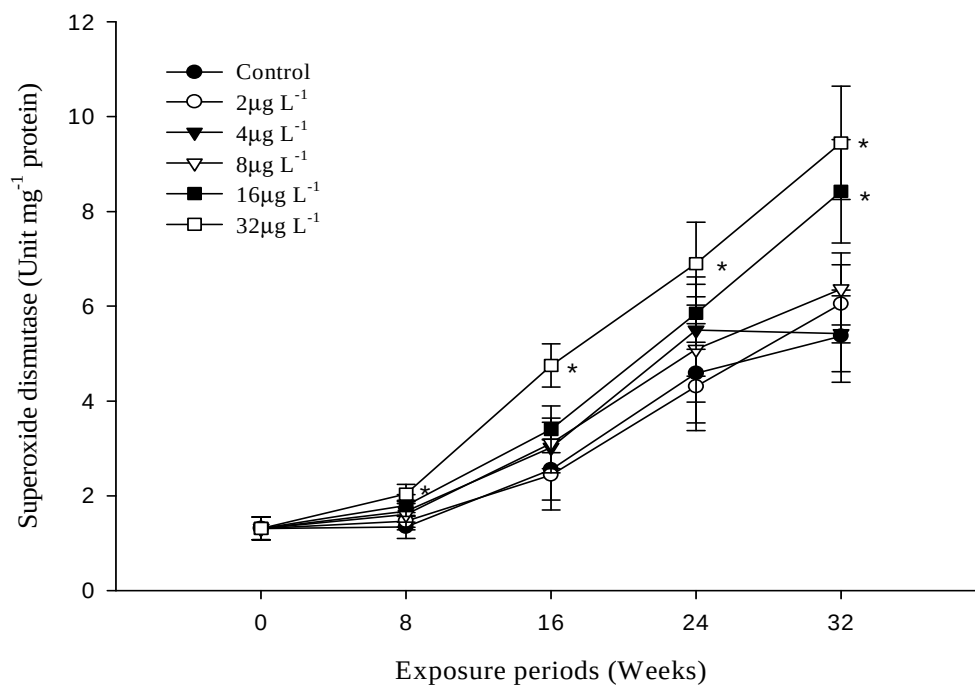


Fig. 9-2. Variations of the Superoxide dismutase (SOD) activity in the kidney of crucian carp, *Carassius auratus* exposed to the different concentrations of Aroclor 1254 dissolved in freshwater. Data are expressed as mean $\pm$ S.E. One unit of SOD is defined of the amount of enzyme which inhibits the rate of cytochrome c reduction by 50% at pH 7.8 and 25°C. * significant difference between control and exposed group ; P<0.05.

6. Vitellogenin

붕어에 Aroclor 1254를 32주간 노출시킨 후 혈액 중의 생성된 VTG 농도 변화는 Fig. 10에 나타내었다. 본 실험에서는 미성숙한 붕어를 실험대상으로 하였기 때문에 VTG의 농도를 암컷·수컷 구분 없이 나타내었고, 조직학적 검사 후 암·수 구분을 분명히 한 자료를 참고로 하여 암·수를 구분한 VTG 측정값을 같이 나타내었다. 대조구에서는 미성숙한 수컷의 붕어 혈중 VTG는 유도되지 않았으나, 암컷의 경우 $50.16 \pm 13.9 \mu\text{g ml}^{-1}$ 의 VTG가 검출되었고, Aroclor 1254에 노출시킨 붕어의 암컷 혈중 VTG 농도와는 유의한 차이가 없었다. 반면에 수컷의 경우는 Aroclor 1254에 노출된 붕어의 혈중 VTG 농도가 대조구에 비하여 유의하게 증가하였다. 대조구의 VTG 농도가 $0.5 \pm 0.1 \mu\text{g ml}^{-1}$ 인 것에 비하여 $2 \mu\text{g L}^{-1}$ 구간에서도 대조구에 비하여 유의한 상승현상을 보였지만, Aroclor 1254 농도 구간간의 유의한 VTG 유도 차이는 보이지 않았다. 암컷과 수컷의 구분없이 도출한 VTG의 결과를 살펴보면, Aroclor 1254의 $8 \mu\text{g L}^{-1}$ 구간까지는 대조구와 유의한 차이가 없었으나, 16과 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 구간은 대조구에 비하여 유의하게 상승한 VTG 농도를 보였다.

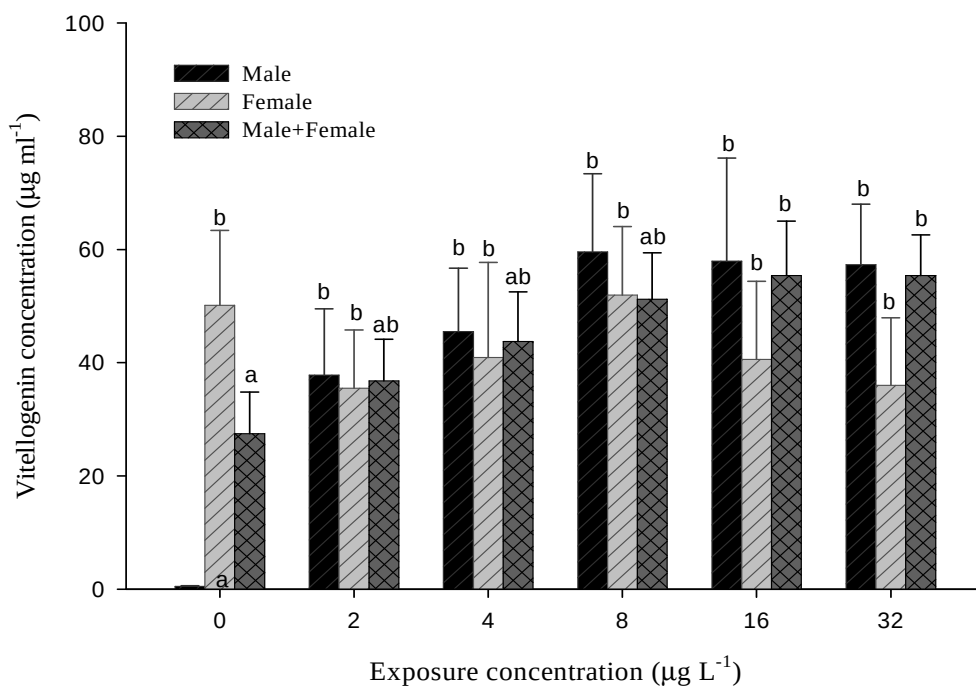


Fig. 10. Plasma vitellogenin level in crucian carp following exposure of Aroclor 1254 for 32 weeks. Data are expressed as mean $\pm$ S.E. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

7. 스테로이드 호르몬

붕어에 Aroclor 1254를 32주간 노출시킨 후 혈청 성 스테로이드 호르몬 변화는 Fig. 11-1과 Fig. 11-2에 나타내었다. 본 실험에서는 미성숙한 붕어를 실험대상으로 하였기 때문에 T와 E₂의 농도를 암컷·수컷 구분없이 나타내었고, 조직학적 검사 후 암·수 구분을 분명히 한 자료를 참고로 하여 암·수를 구분한 testosterone과 estradiol-17 β 측정 값을 같이 나타내었다. 혈중 Testosterone의 농도는 대조구에서 미성숙한 수컷의 붕어에서 정상적으로 유도되었으나, 노출 농도가 증가함에 따라 다량 분비되는 경향을 보였다 (P<0.05). 또한 암컷의 경우 가장 높은 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 혈중 testosterone의 농도가 유의하게 증가하였다. 암컷과 수컷의 구분없이 도출한 혈중 testotsterone의 농도 결과를 살펴보면, 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서부터 유의한 증가를 나타내었다.

혈중 Estradiol-17 β 의 농도는 미성숙한 수컷에서 대조구와 Aroclor 1254에 노출시킨 붕어의 수컷 혈중 estradiol-17 β 농도와는 유의한 차이가 없었으나, 미성숙한 암컷은 16과 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구간에서 유의하게 감소하였다. 또한 암컷과 수컷의 구분없이 도출한 estradiol 17- β 의 결과를 살펴보면, 16 $\mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서부터 유의한 감소가 관찰되었다.

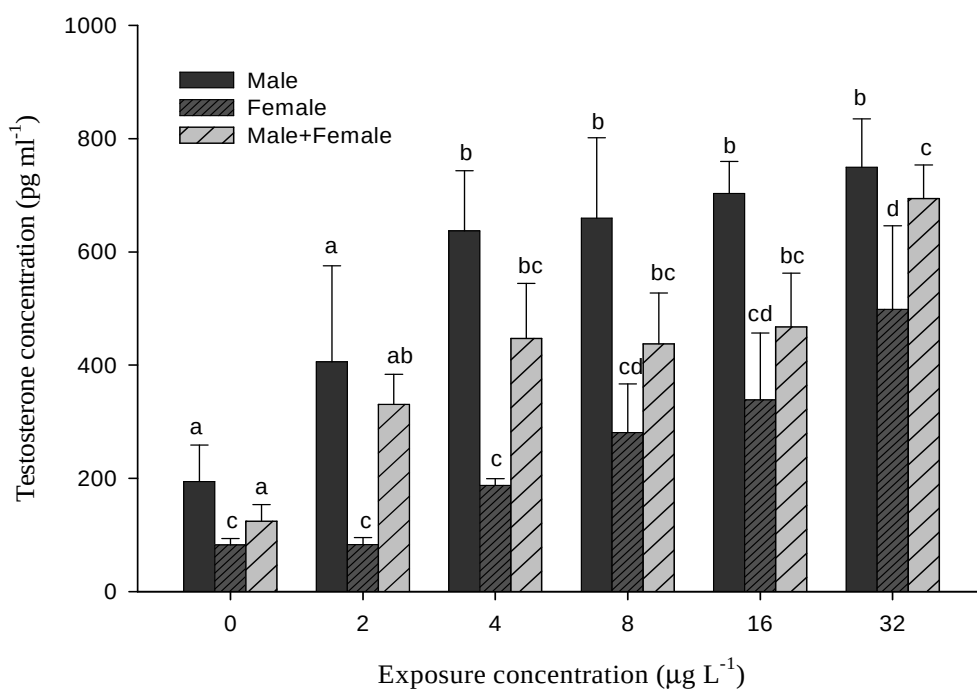


Fig. 11-1. Variations of plasma testosterone level in *Carassius auratus* exposed to various concentrations of Aroclor 1254 for 32 weeks. Each column represents the mean $\pm$ S.E. (n=20). Values with different superscript are significantly different ($P<0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

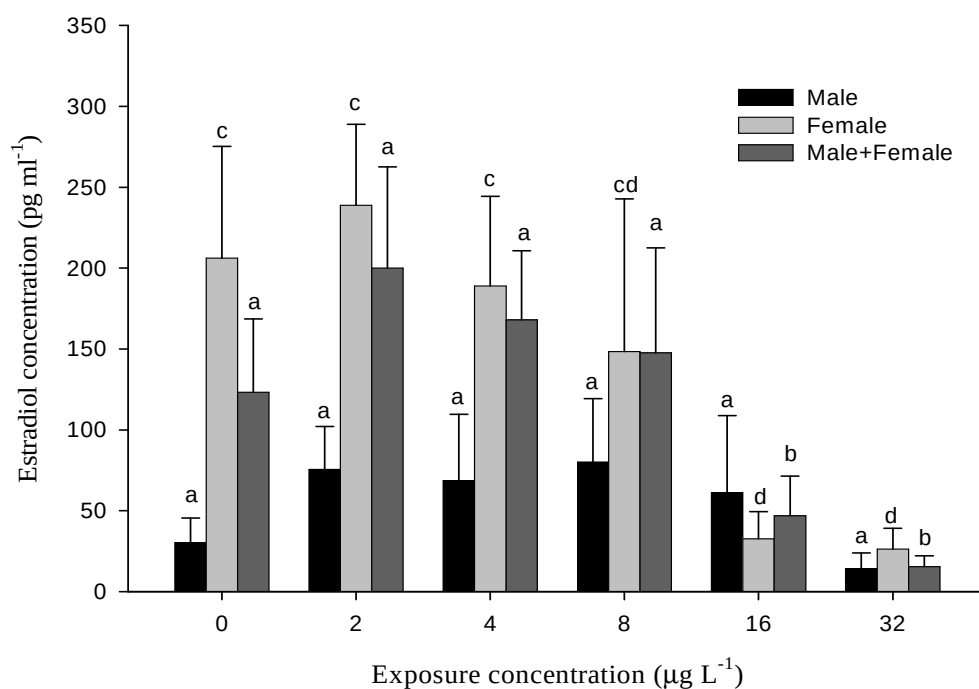


Fig. 11-2. Variations of plasma estradiol-17 β level in *Carassius auratus* exposed to various concentrations of Aroclor 1254 for 32 weeks. Each column represents the mean $\pm$ S.E. (n=20). Values with different superscript are significantly different (P<0.05) as determined by Duncan's multiple range test.

8. 혈청 내 성분 분석

Aroclor 1254 노출 결과 나타난 붕어의 혈청성분의 변화는 Table. 2에 나타내었다. 혈청 내 유기성분의 변화를 알고자 총단백질, 글루코즈, 중성지방 및 빌리루빈을 조사하였다. 글루코즈는 24주째에 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서만 유의한 증가를 보였지만, 32주째에는 대조구에 비하여 16과 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구간에서 유의한 증가를 나타내었다. 총단백질은 농도 구배량과 노출 기간이 연장됨에 따라 감소하는 경향을 나타내었으며, 24주와 32주째에 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서만 유의적인 감소를 나타내었다. 중성지방도 총단백질과 비슷한 경향을 나타내었으며, 24주와 32주째에 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서만 유의하게 감소하였다. 빌리루빈은 노출기간과 농도 구배량에 따라 증가하는 경향을 나타내었으며, 노출 24주와 32주째에는 대조구와 비교하여 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 유의적인 차이가 관찰되었다.

혈청 내 무기성분의 변화를 알고자 마그네슘과 칼슘을 조사하였다. 다양한 농도의 Aroclor 1254에 노출한 붕어의 혈청내 마그네슘은 노출 24주와 32주째에 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 유의한 감소를 나타내었다. 칼슘은 농도와 노출기간에 따라 증가하는 경향을 보였으며, 24주와 32주째에 가장 높은 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 유의한 증가를 보였다.

혈청 내 전이 효소인 GOT, GPT는 농도와 노출 기간이 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였다. GOT는 노출 24주와 32주째에 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 대조구에 비해서 유의하게 높은 활성을 보였다. GPT 역시 GOT와 유사한 경향을 보였으며, 노출 24주와 32주째에 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 유의한 증가를 나타내었다.

Table 2. Changes of hemochemical factors in serum of crucian carp, *Carassius auratus* exposed Aroclor 1254

Parameter	Exposure period (Weeks)	Aroclor 1254 concentration ($\mu\text{g L}^{-1}$)					
		Control	2	4	8	16	32
Glucose (mg dL ⁻¹)	24	194.06 $\pm 33.31^a$	203.82 $\pm 21.11^a$	197.65 $\pm 26.41^a$	220.29 $\pm 26.71^{ab}$	231.71 $\pm 29.66^{ab}$	257.94 $\pm 27.94^b$
	32	223.31 $\pm 52.36^a$	244.31 $\pm 39.76^a$	302.90 $\pm 37.71^{ab}$	334.16 $\pm 44.69^{ab}$	373.29 $\pm 40.33^b$	396.89 $\pm 53.97^b$
Total protein (mg dL ⁻¹)	24	6.80 $\pm 0.59^a$	6.25 $\pm 0.40^a$	6.34 $\pm 0.36^a$	5.85 $\pm 0.59^{ab}$	5.51 $\pm 0.62^{ab}$	4.82 $\pm 0.59^b$
	32	5.24 $\pm 0.58^a$	5.15 $\pm 0.39^a$	4.77 $\pm 0.44^{ab}$	4.53 $\pm 0.39^{ab}$	4.46 $\pm 0.37^{ab}$	4.02 $\pm 0.31^b$
TG-S (mg dL ⁻¹)	24	118.79 $\pm 11.80^a$	117.94 $\pm 8.47^a$	113.93 $\pm 5.81^a$	109.92 $\pm 7.80^a$	100.49 $\pm 10.50^{ab}$	93.21 $\pm 8.66^b$
	32	99.51 $\pm 10.24^a$	97.28 $\pm 6.60^a$	92.08 $\pm 9.52^a$	89.85 $\pm 7.20^a$	79.24 $\pm 10.65^{ab}$	72.31 $\pm 8.29^b$
Bilirubin (mg dL ⁻¹)	24	19.08 $\pm 2.18^a$	20.54 $\pm 2.50^{ab}$	21.62 $\pm 3.01^{ab}$	21.62 $\pm 2.57^{ab}$	22.70 $\pm 2.21^{ab}$	25.41 $\pm 2.86^b$
	32	24.74 $\pm 4.99^a$	28.67 $\pm 4.63^{ab}$	32.63 $\pm 3.47^{ab}$	28.77 $\pm 3.92^{ab}$	31.23 $\pm 4.15^{ab}$	36.14 $\pm 4.22^b$

Values are mean $\pm$ S.E. (n=5). Values with different superscript are significantly different (P<0.05) as determined by Duncan's multiple range test.

Table 2. continued.

Parameters	Exposure period (Weeks)	Aroclor 1254 concentration ($\mu\text{g L}^{-1}$)					
		Control	2	4	8	16	32
Magnesium (mg dL ⁻¹)	24	4.52	3.92	4.38	4.33	3.56	3.02
		$\pm 0.56^a$	$\pm 0.46^a$	$\pm 0.38^a$	± 0.39	$\pm 0.41^a$	$\pm 0.37^b$
	32	3.81	3.32	3.29	3.52	3.30	2.58
		$\pm 0.33^a$	$\pm 0.32^a$	$\pm 0.37^a$	$\pm 0.32^a$	$\pm 0.30^a$	$\pm 0.29^b$
Calcium (mg dL ⁻¹)	24	6.67	7.03	7.40	7.69	8.25	8.45
		$\pm 0.68^a$	$\pm 0.40^a$	$\pm 0.42^{ab}$	$\pm 0.56^{ab}$	$\pm 0.62^{ab}$	$\pm 0.71^b$
	32	7.71	8.24	8.08	8.65	8.99	9.76
		$\pm 0.88^a$	$\pm 0.48^a$	$\pm 0.37^a$	$\pm 0.42^a$	$\pm 0.6^{ab}$	$\pm 0.57^b$
GOT (Karmant Unit)	24	33.45	34.21	36.55	38.97	43.62	46.16
		$\pm 3.76^a$	$\pm 3.23^a$	$\pm 2.76^a$	$\pm 3.66^{ab}$	$\pm 3.45^b$	$\pm 4.08^b$
	32	36.99	37.05	35.98	43.44	50.04	53.27
		$\pm 6.80^a$	$\pm 4.82^a$	$\pm 6.13^a$	$\pm 5.94^{ab}$	$\pm 5.73^b$	$\pm 6.67^b$
GPT (Karmant Unit)	24	17.84	20.81 $\pm$	21.94 $\pm$	19.27 $\pm$	23.04 $\pm$	25.32 $\pm$
		$\pm 2.21^a$	2.87 ^{ab}	2.18 ^{ab}	3.76 ^{ab}	2.87 ^b	2.70 ^b
	32	20.23	25.07	26.19	30.10	34.14	38.31
		$\pm 4.45^a$	$\pm 4.98^{ab}$	$\pm 4.08^{ab}$	$\pm 3.74^{ab}$	$\pm 3.42^b$	$\pm 3.92^c$
LDH (W unit)*	24	1.69	1.83	1.99	1.90	2.04	2.34
		$\pm 0.30^a$	$\pm 0.20^a$	$\pm 0.24^{ab}$	$\pm 0.32^{ab}$	$\pm 0.24^{ab}$	$\pm 0.27^b$
	32	2.21	2.42	2.46	2.50	2.76	2.97
		$\pm 0.31^a$	$\pm 0.28^{ab}$	$\pm 0.27^{ab}$	$\pm 0.27^{ab}$	$\pm 0.24^b$	$\pm 0.29^b$

Values are means $\pm$ S.E. (n=5). Values with different superscript are significantly different (P<0.05) as determined by Duncan's multiple range test. * indicates the Wroblewski unit

IV. 고 찰

야생생물에 대한 PCBs의 노출은 주로 먹이 사슬을 따라 위로 이동되며, 어류와 같이 지질 함량이 높은 조직에 농축되는데, 이러한 PCBs가 갖는 문제점은 장기간 환경에 존속함으로써 수년간에 걸쳐 생태계에서 끊임없이 순환한다는 점이다. 또한, PCBs는 수용해도가 낮고 octanol/water 분배계수가 매우 크다. 따라서 수중으로 흘러들어간 PCBs는 수중의 부유물질에 흡착되어 하천이나 해양 퇴적층에 같이 침강하여 쌓이게 된다. 침적된 PCBs는 동·식물 플랑크톤에 의해 흡수된 후 다시 소형 어류에서 대형 어류로 이행하게 된다. 따라서 PCBs는 생물농축계수 (BCF)가 크고 체외 배출 반감기가 6~10년이나 된다.

우리나라의 경우 환경부 보고(2002)에 따르면 붕어 체내의 PCBs 축적량은 최대 31.33~188.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이 검출되었으며 양서류의 경우 5~9.74 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이 검출되었다. 이러한 이유 때문에 PCBs에 대한 연구가 여전히 많이 되고 있으나 대부분 단기간의 먹이 노출 또는 주사 실험인 관계로 자연 환경에서 일어나고 있는 생태계 이상 현상을 이에 적용하여 해석하기에는 상당한 무리가 있다. 따라서 본 실험은 우리나라 수계의 PCBs 실태 조사 (환경부, 2002) 결과를 바탕으로 해서 Aroclor 1254 농도 구간을 설정하였다. 32주간 붕어를 2, 4, 8, 16과 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254에 노출한 결과, 폐사 개체는 없었다.

일반적으로 어류의 성장은 영양분의 섭취, 분해 및 흡수를 통해 일어나며 여러 가지 오염원에 의해 저해될 수 있다 (Lanno *et al.*, 1985; Denny *et al.*, 1995). 다양한 오염물질은 수계 생물의 성장률과 운동력을 저하시키며 (Steinberg *et al.*, 1995; Kamjunke *et al.*, 2002), 오염물질에 의한 식욕 감퇴는 스트레스에 대한 어류의 일반적인 반응이며 장기간 노출될 경우 어

류의 성장과 생식에 영향을 미친다 (Rice, 1990). 본 시험에서 전장 성장률은 대조구와 비교하였을 때 노출 8주째에는 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, 노출 16, 24, 32주째에는 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254 농도구에서 유의적인 감소가 나타났다. 또한, 체중 성장률도 전장성장률과 마찬가지로 8주째에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 그러나 16주 이후에는 가장 농도가 높은 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254 농도구에서 유의적인 감소가 나타났으며 32주째에는 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 유의하게 감소하였다. Khan (1999)은 PCBs에 오염된 해안에 서식하는 넙치가 비오염지역에 서식하는 넙치보다 유의하게 비만도 지수가 감소함을 보고하였다. 또한 Anderson *et al.* (2003)은 오염된 지역에 서식하는 어류가 비오염지역에 비해 유의하게 비만도 지수가 낮음을 조사하였다. 비만도 지수는 전체적으로 볼 때 Aroclor 1254 농도가 높을수록 감소하는 경향을 보였으며 노출 16주 이후에는 가장 높은 농도구인 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254 농도구에서 유의하게 감소하였으며, 노출 32주째에는 대조구와 비교하여 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 유의한 차이가 있었다. 이상의 결과로부터 장기간 Aroclor 1254 수중 노출될 경우 성장 저해가 나타났음을 알 수 있으며 이는 체내 대사활동의 억제에 의한 것으로 추측된다.

어류에 화학물질을 단기간 노출시키면 간중량지수가 증가하는 경향을 보이는데 반해, 장기간 PCBs mixture에 노출 시킬 경우 어류의 간 중량 지수는 감소하였으며 이것은 독성 영향으로 인한 간 조직의 변성 때문이라는 조사 결과가 보고되었으며 (Orn and Andersson, 1998), PCBs에 오염된 강에서 채집한 어류가 비오염지역보다 간중량지수가 낮음을 보고하였다 (Anderson and Cacela, 2003). 따라서 본 연구 결과에서 나타난 노출 16주 이후 가장 높은 농도구인 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254 농도구에 간 중량 지수가 감소한 것은 간 조직에 변성에 의한 것으로 보아 Aroclor 1254가

간에 독성 작용을 일으켰을 것으로 생각된다.

포유류에서 연구된 것과 같이 어류의 간 내에 존재하는 cytochrome P450 효소계는 기능적으로 유기오염물질을 대사시키는 것으로 알려져 있지만 포유류에 비해서 상대적으로 낮은 유도상태를 나타내었다 (Bend and James, 1978; Stegman, 1981). 일반적으로 유기오염물질은 cytochrome P450 농도에 영향을 주지만, 특정 isozyme의 활성화에 영향을 미친다. 본 실험에서는 cytochrome P450 1A1 효소가 ethoxyresorufin 기질에, cytochrome P450 2B6은 ethoxycoumarin 기질에 특이적으로 반응한다는 (Burke and Mayer, 1983; Ullrich, 1972) 점을 이용하여 EROD와 ECOD의 활성도를 측정함으로서 cytochrome P450 1A1과 P450 2B6의 유도 여부를 간접적으로 증명하였다. Mixed function oxidases (MFO)는 이물질대사효소계에서 중요한 역할을 하는데 (Payne *et al.*, 1987; Melancon *et al.*, 1988), 어류에서도 소수성의 외인성 오염물질을 대사하여 친수성의 대사물질로 변환시켜 체외로 배설이 잘 되도록 만들기도 하고 또한 내인성의 스테로이드 호르몬을 불활성화 시키기도 한다 (Addison, 1984). 그러므로 만일 MFO가 오염물질을 해독하는데 지나치게 쓰인다면 그로 인해 스테로이드 호르몬의 불활성화가 충분히 이루어지지 못해 혈중 성 스테로이드 호르몬의 수치가 높아지게 되고, 이로 인해 생식계는 이상을 초래 할 수 있으며, 또한 다른 오염물질을 해독하는 기능도 손상되고 면역계에도 영향을 미쳐 위약해질 것이라 여겨진다. 이처럼 중요한 기능을 하는 MFO에는 몇 종류의 효소들이 관여하지만 그 중에서도 특히 ethoxyresorufin deethylase (EROD)가 일반적으로 활용되고 있으며 EROD 활성은 CYP 1A의 지표 효소로 널리 이용되고 있으며 여전히 활발한 연구가 진행되고 있다. 본 실험에서 Aroclor 1254에 대한 붕어의 EROD 활성은 대조구에 비해 유의적으로 증가되는 것을 조사되었다. 간의 EROD 활성은 노출 8주

제 16과 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 대조구에 비해서 3~3.5배로 유의하게 증가하였으며, 16주와 24주째 역시 대조구에 비해 두 농도구에서 2.5~3배로 유의하게 증가하였다. 노출 32주째에는 16과 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 대조구와 비교하여 3~4배로 유의한 증가를 보였다. 그러나 EROD 활성은 다른 어류와 비교하여 보면, 낮은 활성을 알 수 있는데 이는 어종, 개체크기 등의 생물학적 차이에 의한 것으로 생각되며, 실제로 이러한 효소의 활성은 어종과 섭식의 특성 등에 따라서 다양한 수치를 나타낸다고 알려져 있다. 간에서와 마찬가지로 kidney에서도 노출기간동안 대조구에 비해 가장 높은 농도구에서 유의하게 높은 EROD의 활성을 보아 liver와 함께 Aroclor 1254의 영향을 받았음을 추측할 수 있다. Diana *et al.* (1995)은 PCB77를 복강주사 한 결과 무지개송어의 간과 신장의 EROD 활성이 증가했음을 보고하였고, Ankley 등 (1986)도 PCBs (1mg Aroclor 1254/kg b.w.)를 복강주사로 투여한 결과 차넬메기 (*Ictalurus punctatus*)의 EROD 활성이 증가함을 보고하여 본 실험과 같은 경향을 나타내었다. 또한, Foster *et al.* (1998)은 무지개송어에게 PCB-153을 복강주사하였을 경우에 4주 후에 간의 EROD 활성이 증가함을 보고하여 본 실험과 같은 경향을 나타내었다. 따라서 Aroclor 1254를 수중 노출시켰을때 붕어의 EROD는 유용한 bioindicator로 사용할 수 있으며 16 $\mu\text{g L}^{-1}$ 이상의 농도구에서는 8주째부터 Aroclor 1254의 오염을 감지할 수 있는 것으로 판단된다. 한편, PCB류도 종류에 따라서 MFO 효소계 반응은 다르게 나타난다고 한다 (Gooch *et al.*, 1989). 예를 들어, 어류인 Sucp (*Stenotomus chrysops*)에게 3, 3', 4,4'-tetrachlorobipheyl (PCB-77)을 복강주사하면 EROD와 CYP가 증가하였으나, 다른 종류인 PCB-105나 -118등과 같은 동속체들은 이들 단백질과 효소활성을 유도시키지 않았다고 한다. 간의 EROD의 활성과 신장에서의 활성을 비교하면, Maija *et al.* (1987)은 무지개 송어의 간이 신장보

다 높은 활성을 보인다고 보고하였고, BNF를 복강주사한 차넬메기에서도 간이 신장보다 높은 EROD 활성을 보였다고 한다 (Laurence, 1988).

Aroclor 1254 노출로 인한 붕어의 간, 신장의 ECOD 활성은 8주, 16주째에는 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 유의한 증가가 나타났으며, 24주와 32주째에는 16과 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 효소 활성이 유의하게 증가하였다. 이와 같은 결과는 무지개 송어에서 BNF와 PBO 주사 실험 후 유의하게 증가하는 반면 Rotenone 주사실험에는 유의한 차이가 나타나지 않았음을 연구에서 찾을 수 있다 (Divid *et al.*, 1992). 또한 오염된 강에 서식하는 Ruffe는 비오염지역의 ruffe보다 ECOD 활성이 증가되었고 (Sigrun and Ludwig, 1995), Aroclor 1260을 Baebel에 사료 투여한 결과 대조구에 비해 ECOD 활성이 증가하였다 (Hugla and Thome, 1999). 한편 오염물질에 노출된 무지개 송어의 간과 신장에 ECOD 활성을 비교한 결과 간보다 신장에서 높은 활성 증가를 보이며 대조구에 비해 두 조직 모두 증가를 나타냈다고 하며 (Maija and Malin, 1987), Laurence (1988)도 차넬메기의 신장이 간보다 ECOD 활성에 영향을 더 받는다고 보고하여 본 실험과 같은 경향을 나타내었다. 그러나 ECOD 활성은 EROD 활성에 비해서 상당히 낮은 수준으로 검출되어 cytochrome P450 2B6의 유도여부를 판정할 수 있는 다른 효소에 대해서 앞으로 연구되어야 할 것으로 생각된다.

포합반응 (conjugation)은 지용성 화학물질 또는 대사물을 가용성으로 만들어 배설하는데 필요한 반응이다. 포합반응 중 가장 대표적인 것은 glucuronic acid 포합, glutathione 포합, 황산 포합, acetyl기 포합 등이 있다. Glucuronic acid 포합은 화학물질이 해리성 수소를 가지고 있는 관능기에 대해서 간 microsome에 있는 UDP-glucuronyltransferase의 작용으로 보조소 UDPGA (uridine diphosphate glucuronic acid)로부터 활성 glucuronic acid가 전이되는 반응이다. UDP-glucuronyltransferases

(UDPGT)는 endoplasmic reticulum의 membrane-bound 효소이며 다양한 화학구조를 가진 xenobiotics는 물론 발암물질을 포함해서 bilirubin과 steroid에 UDP-glucuronic acid에서 glucuronic acid를 옮겨주는 것이다 (Dutton, 1980). 이렇게 형성된 glucuronide는 극성이 증가하며 물에 용해되므로 쉽게 배설된다. 이것은 cytochrome P450에 의하여 촉매되는 xenobiotics의 산화에 연관되는 phase I 반응과 이후 hydroxylated metabolites가 UDPGT에 의해서 glucuronic acid와 함께 conjugation되는 정량적으로 가장 중요한 phase II 반응으로 이루어진다. UDPGT도 cytochrome P-450과 비슷하게 다른 substrate에 대하여 specificity와 inducibility를 갖고 매우 밀접한 관계가 있는 enzyme family로 구성되어 있다 (Wishart, 1978; Roy *et al.*, 1986). 이 효소는 multiple form으로 존재하므로 그들의 glucuronidation에 대한 능력과 종에 따른 변화 및 기질에 대한 glucuronidation pattern 그리고 다양한 화학물질을 투여하였을 때 induction pattern등이 많은 연구의 대상이 되어 왔다 (Styczynspk, 1991). 포유류에 β -naphthoflavone 과 Aroclor 1254 투여 결과 기질에 따라 간의 UDPGT 활성이 증가된다는 보고가 있었다 (Lilienblum *et al.*, 1982). Douglas *et al.* (1992)는 넙치의 간 microsome에 glucuronidation의 기질 특이성을 실험한 결과 4-Nitrophenol이 1-Naphthol, 2-Aminophenol 등 보다 활성이 높았다. 이 결과를 바탕으로 본 실험에서는 4-Nitrophenol을 기질로 하는 실험 방법을 사용하였다.

Aroclor 1254 노출에 따른 붕어 간의 UDPGT 활성을 조사한 결과, 노출 8주와 16주째에는 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 2~2.2배의 유의한 증가를 보였으며, 노출 24주와 32주째에는 16과 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 약 2배정도의 유의한 증가를 보였다. 또한 신장의 UDPGT는 전반적으로 낮은 활성을 보였으며 노출 8주와 16주째에는 유의한 차이가 나타나지 않았으며 24주와 32

주째에 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 약 1.8~2정도의 활성을 나타내었다. 이와 관련한 연구로는 무지개 송어에 PCB 77과 PCB 126을 복강주사한 후 간과 신장의 UDPGT 활성을 조사한 결과 간의 경우 대조구에 비해 활성이 증가하였으며 신장 역시 낮은 활성을 보이긴 하였지만 증가하였다 (Huuskonen *et al.*, 1996). 또한, Blom and Forlin (1997)은 무지개 송어에 장기간 PCB를 복강주사한 후 간의 UDPGT 활성이 증가됨을 보고하였고, 무지개 송어에 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl을 복강주사한 후 간과 신장의 UDPGT 활성을 비교한 결과 간의 경우 높은 활성을 보였으나 신장은 낮은 활성을 나타내었다 (Dian and Thomas, 1995). Parker *et al.* (1993) 역시 무지개 송어에 간 종양을 야기시킨 aflatoxin에서 UDPGT 활성이 증가되는 것을 관찰하였으며, 찰넬 메기에 Aroclor 1254를 복강 주사 한 결과 간의 UDPGT 활성은 대조구에 비해 가장 높은 농도구인 100mg/kg Aroclor 1254에서 2배 증가한다는 조사결과를 보고하여 (Gerald and Ankley, 1986) 본 실험과 같은 경향을 나타내었다. 그러나 어류에서의 UDPGT 활성에 관해서는 아직 연구가 매우 부족한 편이므로, 명확하게 알기 위해서는 좀 더 연구가 수행되어야 될 것으로 생각된다.

Glutathione S-transferase (GST)는 여러 가지 다양한 전자 친화체에 cysteine의 sulfur 원자 상에서 glutathione (GSH)과의 결합을 촉매하는 효소로서 종에 따라 여러 종류의 isozyme이 존재한다 (Jakoby and Habig, 1980). 또한 GST는 xenobiotics의 대사과정과 약물의 생체내 전이에 있어서 매우 다양한 기능을 가지고 있다 (Mannervik, 1985). GST는 heme, bilirubin, polycyclic aromatic hydrocarbons과 dexamethasone과 같은 여러 종류의 소수성 화합물과 높은 친화력으로 결합하는 ligand 결합 기능을 보이기도 한다 (Litwack *et al.*, 1971).

Aroclor 1254를 붕어에 노출 시킨 결과, 노출 전기간 동안 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이

상인 농도구에서 간의 GST 활성이 유의한 상승을 보였으며, 노출 마지막 32주째에는 $8 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서도 유의한 증가를 보였다. 간에서와 마찬가지로 신장에서도 노출 전기간동안 높은 농도구에서 GST 활성이 유의하게 상승하는 것으로 보아 간을 포함한 신장 역시 손상을 받았음을 추측할 수 있다. 이와 같은 예로 잉어에 PCB Mixtures (Aroclor 1254)를 노출시킨 결과 간의 GST가 유의한 증가가 조사되었으나, TBT (tributyltin)에 노출된 잉어는 유의적인 변화를 나타내지 않았다고 보고하였다 (Schmidt and Christian, 2004). Helene *et al.* (2005)은 무지개 송어에 TNT (trinitrotoluene)를 복강주사한 후 GST 활성 증가를 보고하였으며, 중금속에 오염된 지역에 서식하는 붕어의 경우 비 오염지역에 서식하는 붕어보다 GST 활성이 야기된다고 보고하였다 (Guosheng *et al.*, 1998). 또한 Machala *et al.* (1998)은 무지개 송어에 PCB 153 과 p,p' -DDE를 복강주사한 결과 GST의 높은 활성이 야기되었으나, TCDD를 복강주사한 후에는 GST 활성이 야기되지 않았다고 보고하여 본 실험과 같은 경향을 나타내었다. 이렇듯 간과 신장은 Aroclor 1254에 영향을 받아 GST 효소 활성에 변화가 일어난 것은 분명한 것으로 생각된다.

활성산소는 막 성분들을 비 특이적으로 공격하여 막을 변형시키고, 세포 구성에 손상을 가져와 결국은 세포를 죽게 만든다. 이러한 활성산소는 연쇄 반응을 통하여 결국 수많은 활성산소를 생성하는데 이러한 연쇄반응이 세포막에서 발생할 때 이것을 과산화지질 (lipid peroxidation)이라 하였다 (Halliwell, 1994; Jacob and Burri, 1996). 지구상에 존재하면서 산소를 이용하는 모든 생물은 산소의 산화에 의한 조직 손상에 항상 노출되어 있어 활성 산소로부터 스스로 보호하기 위한 방어 시스템을 가지고 있다. 활성 산소에 의하여 생성되는 유리기를 소거하는 것으로는 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX)와 같

은 항산화 효소 등이 있다. SOD는 산소 라디칼을 과산화수소로 변환시켜 과산화를 억제하는 metalloprotein이며 (Nebot *et al.*, 1993), 유리기를 형성할 수 있는 전구물질들의 불활성 유리기의 생성을 억제시키거나, 유리기를 직접 소거하여 분자상 산소에 의한 유리기 연쇄 반응을 차단하는 작용을 한다. 본 실험에서 간의 SOD 활성은 노출 8주째에 가장 높은 $32\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 유의한 증가를 보였으며, 노출 16, 24와 32주째에는 $16\mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 유의한 활성을 나타내었다. 또한 신장 역시 낮은 활성을 보이긴 하였지만 가장 높은 농도구에서 유의한 차이가 나타났으며 노출 마지막 32주째에는 $16\mu\text{g L}^{-1}$ 이상인 농도구에서 유의하게 증가하였다. 이는 Aroclor 1254 노출에 의한 조직손상을 최소화하려는 어체의 방어행동에 의한 것으로 추정된다.

이와 같은 예로는 유기살충제인 Dichlorvos에 잉어를 노출한 결과 간의 SOD 활성은 유의한 증가를 보였지만 신장은 유의한 차이가 나타나지 않았고 동자개 역시 간에서 높은 활성을 나타내었다 (Hai and Varga, 1997). Bernssen *et al.* (2003)은 어린 연어에 사료를 통한 수은을 노출시켰을때 간과 신장의 SOD를 비교한 결과 간은 신장보다 높은 SOD 활성을 보였다고 보고하였다. 그리고 틸라피아에 카드뮴을 노출한 결과 간과 신장에서 유사한 SOD 활성이 보고되었으며 (Siraj Basha and Usha Rani, 2003), 붕어에 제초제인 DCA를 노출시켰을때 유의한 활성을 보였다고 한다 (Li and Yin, 2003). 또한, PCBs에 오염된 강에 서식하는 Brown bullheads는 비 오염지역에 서식하는 Brown bullheads 보다 유의하게 높은 SOD활성이 관찰되어 (Otto and Moon, 1996) 본 실험과 같은 경향을 나타내었다.

Vitellogenin (VTG)은 난생동물의 난황전구체로 난황형성과정 동안에 estradiol cycle에 의하여 정상적으로 암컷의 간에서 생성되며 (Hinton and Lauren, 1990), 수컷의 간에서도 vitellogenin의 유전자는 존재하지만

silent gene 형태로 존재한다 (Denslow et al., 1990). 이러한 유전자들이 estrogen 이나 estrogen 유사물질에 한 번 노출되면 자극을 받아 vitellogenin이 합성된다. 합성 후 혈액을 통해 순환하게 되는데 수컷의 경우는 신장에서 제거될 때까지 머물러 있고 암컷의 경우는 수용체에 의해 조절되는 내부세포 분할에 의해 발생중인 난세포로 들어가 난황 단백질로 축적된다 (Lane et al., 1983; Schneider, 1996). 모든 난생동물에서 간은 vitellogenin 합성 조절에 있어 중요한 역할을 담당하고 vitellogenin의 합성은 estrogen에 의존한다 (Lethimonier et al., 2000). 어류는 estrogen에 의해 유도되는 vitellogenin 합성에 민감하게 반응하여 estrogen과 estrogen mimic 또한 이 물질들을 억제하는 화학물질을 탐지하는데 이용되어 왔다 (Anderson et al., 1996). 그러나 어류의 vitellogenin 합성은 estrogen agonist 또는 antagonist 뿐만 아니라 vitellogenin 단백질 합성에 관련된 다양한 단계에서 작용할 수 있는 화학물질에 의해서도 영향을 받을 수 있다.

본 실험에서는 붕어의 혈액으로부터 VTG를 측정할수 있도록 개발된 ELISA 키트를 이용하여 붕어의 VTG를 측정하였다. 이러한 ELISA를 이용하여 붕어의 미성숙한 암컷과 수컷을 에스트로겐 유사물질로 알려지기도 하였으나, 아직까지 estrogen mimic 물질이라고 보고되고 있는 PCBs의 일종인 Aroclor 1254에 장기간 노출시킨 후 혈중 VTG를 정량하였다. Aroclor 1254에 노출시킨 모든 농도구간의 수컷에서는 VTG가 대조구에 비해 유의하게 검출되었고, 암컷에서는 혈중 VTG 농도의 뚜렷한 변화가 관찰되지 않아 본 연구 결과 Aroclor 1254는 수컷에서 자성호르몬 효과를 유발하여 VTG의 생합성을 유도한 것으로 생각된다. 이와 같은 예로는 실제 수서 생태계에서의 인위적 가두리망에 송어를 넣고 실험한 결과에 따르면, 영국에서 수집여종의 공장폐수가 배출되는 지점에 수 주간 노출된 수컷

의 혈액에서 정상 수컷보다 수만배 이상의 vitellogenin이 검출되었고 (Purdom *et al.*, 1994; Harries *et al.*, 1997), 일본에서도 도쿄만에서 채집한 수컷 넙치에서 혈청내의 vitellogenin이 증가된 것이 보고되었다 (Hashimoto *et al.*, 2000). Flouriot *et al.* (1995)는 다양한 유사 에스트로겐을 첨가하여 간세포를 배양하면서 자성호르몬 효과를 조사한 결과 PCBs는 직접 에스트로겐 수용체와 결합하여 VTG 생합성을 유도하는 것이 아니라, 생체내 hepatic metabolite등에 의해 VTG mRNA의 발현을 유도한 것이라고 추정하였다. 본 시험의 결과도 이러한 가정을 뒷받침할 수 있으나 보다 명확한 규명을 위해서는 VTG mRNA의 발현여부가 조사되어야 할 것이다.

또한 유기염소 화합물인 다이옥신에 노출된 무지개 송어에서는 혈중 VTG가 증가하였다는 보고가 있으며 (Donohoe and Curtis, 1996), 4-Nonylphenol에 노출시킨 수컷 Sheepshead minnow에서 혈중 VTG가 증가하였다는 보고가 있다 (Michael *et al.*, 2002). 그리고 PCBs가 여러 어류의 수컷에서 혈중 VTG 생성에 영향을 미쳤다는 보고가 있으나 (Chen *et al.*, 1986; Monosson *et al.*, 1994; Tam *et al.*, 1990), 만성 노출 시 수컷은 VTG 합성이 유도되지만 암컷에서는 오히려 feed back 작용에 의해 억제된다는 보고가 있다 (Leroy *et al.*, 1996). 최근 외인성 E₂가 암컷 수컷과 미성숙한 개체들의 혈중 VTG를 유도할 뿐만 아니라 (Wallace, 1985; Tyler and Sumpter, 1990; Utarabhand and Bunlipatanon, 1996), 여러 PCBs나 알킬페놀류와 pesticides 등의 유사 에스트로겐성 물질등도 VTG 생성을 유도한다고 보고되었다 (Flouriot *et al.*, 1995; Jobling *et al.*, 1996; Palmer *et al.*, 1998).

Aroclor 1254는 에스트로겐수용체 (estrogen receptor; ER)와 결합율이 높아 에스트로겐성 활성이 높은 것으로 보고되었지만 (Fielden *et al.*,

1997), 본 실험에서는 Aroclor 1254를 32주 동안 붕어에 노출 시킨 결과, 혈중 testosterone의 농도는 수컷에서 노출 농도가 증가함에 따라 다량 생성되는 경향을 보였으며 ($P < 0.05$), 암컷의 경우 가장 높은 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 혈중 testosterone의 농도가 유의하게 증가하였다. 또한, 암컷의 경우 16과 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구간에서 혈중 Estradiol- 17β 의 농도를 유의하게 감소시키는 것으로 나타났다. PCB 혼합물인 Aroclor 1254에 노출된 Atlantic Croaker 난모세포에서도 이와 동일한 결과가 보고되었다 (Thomas, 1989-1990). 또한, 성숙한 암컷어류의 난소에서 E_2 는 cytochrome P450 aromatase 효소에 의해 생성된다 (Young *et al.*, 1983). 양서류, *Rana catesbeiana*의 경우 안드로겐이 이 효소의 활성을 저해하여 E_2 의 생성을 감소시킴이 보고되었다 (Yu *et al.*, 1993). 또한 안티에스트로겐성 물질인 polycyclic aromatic hydrocarbon이 넙치 난소의 cytochrome P450 aromatase 활성을 저해하여 E_2 의 생성을 억제시킨 것으로 알려졌다 (Monteiro *et al.*, 2000). 붕어의 E_2 생성이 억제된 것은 Aroclor 1254가 cytochrome P450 aromatase의 활성을 억제시키는 항에스트로겐성으로 작용한 것으로 생각된다. Thomas (1989, 1990)는 무지개송어를 PCBs에 노출 시켰을 때 *in vivo* 실험에서 혈중 T 농도가 유의하게 증가된 본 연구와 유사한 결과를 나타내어, PCBs는 특이적으로 생체내 기작과 복합적으로 작용하여 혈중 VTG를 합성 할 것이라고 추정할 수 있었다.

어류의 혈액은 다양한 오염물질들에 의해서 유도되므로 어류의 혈액학적 변수 (hematological parameters)에 대한 연구는 환경의 오염 수준을 감시하는 유용한 수단으로서 연구되고 있다 (Chandrasekar *et al.*, 1993). 본 실험에서 혈청의 유기성분은 총단백질, 글루코즈, 중성지방 및 빌리루빈을 조사하였다. 단백질은 에너지원으로 중요하며 글루코즈는 탄수화물 대사

에서 중요하고 에너지원으로 사용된다. 콜레스테롤은 세포막의 유동성에 중요한 역할을 하며 중성지방은 대표적인 에너지 대사에 관계되는 지질로 콜레스테롤 합성의 원료이자 고지혈증의 원인이 된다. 혈청 빌리루빈은 적혈구 중의 헤모글로빈으로부터 만들어지는 색소이며 헤모글로빈이 헴과 글로빈으로 분해되면 헴은 효소의 작용으로 빌리루빈으로 변하고 글로빈은 조식단백을 형성하게 된다. 혈청내 단백질의 양의 변화는 환경오염의 지표(Ito et al., 1990; Hodson et al., 1992)로 사용되고 있으며, 일반적으로 독성물질의 유입으로 감소하는 경향을 나타낸다. 본 연구에서 총 단백질량은 대조구와 비교하여 유의한 변화를 나타내었다. 환경오염에 대한 글루코즈의 변동에 대한 연구 중 PCBs (Ito and Murata, 1980)로 인한 증가의 예가 있으며 일반적으로, 글루코즈는 스트레스 인자들에 의하여 자극을 받으면 혈장화합성분 중 현저한 변화를 일으키는데, 본 연구에서는 글루코즈가 대조구와 비교하여 유의하게 증가하는 경향을 나타내었다. 이렇게 글루코즈가 지속적으로 증가하는 것은 glucocorticoids에 의한 glucogenesis 때문이라고 알려져 있다 (Robertson *et al.*, 1987). 오염지역에 서식하는 어종을 대상으로 조사한 결과 혈청 내 빌리루빈 수치가 정상범위를 벗어난 보고 (Casillas *et al.*, 1985)가 있으며 heptachlor를 아치사 농도로 틸라피아에 만성적으로 폭로 시 혈청 빌리루빈이 증가한다는 보고가 있다.

본 실험에서 Aroclor 1254를 32주 동안 붕어에 노출시켰을때 어류의 총 단백질과 중성지방은 농도 구배량에 따라, 노출 기간이 연장됨에 따라서 감소하는 경향을 나타내었으며, 24주와 32주째에 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 유의적인 감소를 나타내었다. 어류의 총단백질 농도의 변화는 최근 환경오염의 지표로 사용되고 있으며 (Ito and Murata, 1990), 일반적으로 오염물질에 의해 감소하며, 그 원인 중의 하나는 장관 손상에 따른 흡수장애를 들 수 있다 (Shen *et al.*, 1997). 따라서 PCBs 노출에 의한 붕어의 총단백질량의

감소는 장관의 흡수장애로 인한 영향으로 추정된다. 글루코즈의 경우 노출 24주째에는 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서만 유의한 증가를 보였지만 32주째에는 16과 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서 유의한 증가를 나타내었다. 이것은 아드레날린의 과분비에 의한 과혈당 조건을 유발할 수 있으며 체내 glycogen을 분해하여 혈장 glucose가 증가하게 된다 (Gupta 1974). 또한, *Salmo trutta*에 PCBs를 사료를 통해 43일 동안 경구투여 한 결과 glucose의 양이 증가하였음을 보고하여 (Johansson, 1972), 본 실험과 같은 경향을 나타내었다. 빌리루빈은 노출기간과 농도 구배량에 따라 증가하는 경향을 나타내었고, 노출 16주와 24주째에는 대조구와 비교하여 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구에서만 유의적인 차이가 관찰되었다. 혈중 빌리루빈을 측정하는 것은 간기능검사에 중요한 지표가 되고있다. 혈청 무기성분 조사에서 마그네슘과 칼슘이 대조구와 노출구 사이에 유의한 차이가 조사되었다. 이같은 현상은 아가미 상피세포의 막투과성 변화 및 장애에 기인된다고 생각된다 (Roch and Maly, 1979). 혈청 GOT와 GPT 활성은 간 세포의 변성이나 괴사를 반영하는 효소로서 간 장애의 조기 진단에 불가결한 요소로 간 조직 손상시 다량 혈중으로 유출되기 때문에 혈청의 간 기능 지표 효소 활성도로써 잘 알려져 있다 (Takeda *et al.*, 19).

본 연구를 종합해 볼때, Aroclor 1254에 노출된 붕어의 Phase I과 Phase II 효소 활성은 성장함에 따라 농도 구배량에 따라 노출 기간이 연장됨에 따라서 해독 효소의 활성에 차이를 나타내었다. 대부분 약물대사 효소계는 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254 농도로 32주 동안 노출 되었을때, Aroclor 1254 오염을 암시하는 bioindicator로 사용될 수 있는 것으로 판단된다. 그리고 장기간 노출시킨 붕어의 신장에서 해독효소 활성이 유의하게 나타나는 것은 간과 함께 신장이 중요한 해독 기관임을 시사하나, 오염 물질에 장기간 노출될 경우에 관한 근거 자료가 아직은 미비한 실정이기에,

더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 판단된다. 그리고 간과 신장의 phase I과 II 관련 효소계에 영향을 미칠 수 있는 다양한 요인들을 표준화함으로써 유기오염물질에 대한 각 데이터를 비교할 때 변동성을 최소화해야 될 것으로 생각된다. 대부분 내분비계장애물질들이 성숙한 어류의 E_2 농도 교란과 VTG 합성에 미치는 영향에 관한 연구가 많이 되어 있지만, 내분비계장애물질에 노출된 미성숙한 어류에 관한 스테로이드 호르몬과 VTG 연구는 미비한 실정이므로 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다. 또한 비텔로제닌은 종에 따라 특이성이 다른 단백질이므로 Aroclor 1254 노출에 따른 다른 어종 대한 연구와 유전자 발현여부 역시 조사되어야 할 것이며, 광범위한 수계환경조사 및 어류의 생활사 단계에 따른 독성 영향을 정확하게 파악하는 연구도 이루어져야 할 것으로 여겨진다. 그리고 장기간 노출과 관련하여 붕어 체내 수용체 발현특성 등 세포·분자 수준의 생물반응성에 대한 조사도 함께 이루어져야 할 것으로 판단된다.

V. 요 약

장기간 PCBs에 노출될 경우 붕어 (*Carassius auratus*)에 미치는 독성 영향을 파악하기 위하여 2, 4, 8, 16과 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ Aroclor 1254에 32주 동안 노출시킨 붕어의 성장, 혈액학적인 반응, 간과 신장에서의 Phase I 효소 (EROD, ECOD), Phase II 효소 (UDPGT, GST), 항산화 효소인 SOD활성 변화와 vitellogenin 합성에 미치는 영향 및 혈청 성 스테로이드 호르몬의 변화를 조사하여 이를 자연 환경에서 일어나고 있는 생태계 이상 현상을 규명 할 수 있는 환경의 생태 분석에 대한 기초 자료로 활용하고자 시험하였다.

장기간 PCBs에 노출된 붕어의 전장 · 체중 성장률은 노출 8주째에는 유의한 차이가 나타나지 않았지만 16주 이후에는 노출구에서 유의한 감소가 관찰되었다. 비만도 지수는 전체적으로 볼 때 PCBs 농도가 높을수록 감소하는 경향을 나타내었다. PCBs에 장기간 노출된 붕어의 간 EROD 활성은 노출 전 기간 동안 대조구에 비하여 16과 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 유의한 변화가 인정되었다. 간의 ECOD는 EROD에 비해서 낮은 활성을 나타내었으며 대조구에 비하여 노출구에서 유의한 증가를 보였으며 신장의 EROD와 ECOD 활성 역시 높은 농도구 에서 유의한 변화를 나타내었다. EROD의 경우 신장보다는 간에서, ECOD의 경우 간보다 신장에서 높은 활성을 나타내었다. Phase II 반응에 관여하는 효소인 UDPGT의 경우 노출 기간이 길어질수록 대조구에 비하여 노출구에서 유의한 증가를 보였다. 또한 신장의 경우 UDPGT는 노출 8주와 16주째에 유의한 변화가 관찰되지 않았지만 24주 이후에는 32 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 유의한 변화를 보였다. 간에서의 GST 활성은 노출 전기간 동안 16 $\mu\text{g L}^{-1}$ 이상에서, 32주째에는 8 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서부터 유의한 활성을 보였다. 반면에, 신장의 경우 GST 활성은 24주 이후부터 16 $\mu\text{g L}^{-1}$ 이상에서 유의한 활성을 보였다. 항산

화효소인 SOD 경우 노출 16주 이후에는 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상에서부터 유의한 활성 증가를 나타내었다. 또한 간보다는 낮은 활성을 보였지만, 신장에서 SOD 활성은 노출 24주째까지는 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서만, 32주째에는 그 보다 낮은 농도인 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상에서부터 활성 증가를 나타내었다.

PCBs에 장기간 노출된 붕어 혈액 중의 생성된 VTG 농도 변화는 수컷의 경우 대조구에서는 혈중 VTG가 유도되지 않았으나, 암컷의 경우 VTG가 검출되었고, PCBs에 노출시킨 붕어의 암컷 혈중 VTG 농도와는 유의한 차이가 없었다. 반면에 수컷의 경우는 PCBs에 노출된 붕어의 혈중 VTG 농도가 대조구에 비하여 유의하게 증가하였으며, 암컷과 수컷의 구분 없이 도출한 VTG의 결과를 살펴보면, 16과 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 대조구에 비하여 유의하게 상승한 VTG 농도를 보였다. 또한 혈중 스테로이드 호르몬을 조사한 결과, 수컷의 경우 혈중 testosterone은 $4 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상에서 대조구에 비해 유의하게 증가하였으며 암컷의 경우 $32 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 유의한 증가를 나타내었다. 혈중 estradiol-17 β 은 수컷의 경우 대조구와 노출구 사이에 유의한 차이가 없었으나, 암컷의 경우 $16 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상에서 유의한 감소를 나타내었다.

VI. 감사의 글

항상 해가 바뀔 이맘때쯤이면 늘 후회가 많이 납니다. 항상 신년 초에는 잘해야지 다짐하면서도 그 다짐이 어느 순간 흐트러져 있는 제 모습을 발견하고 나면 벌써 한해가 지나가 있습니다. 벌써 제가 2년간의 석사 과정의 끝에 서 있습니다. 부족하나마 이 한편의 논문을 마무리하면서 석사과정에 도움을 주신 여러분들께 감사의 마음을 전합니다. 2년동안 논문을 지도해주시고 학문과 인생의 자세를 가르쳐 주신 지도교수님인 강주찬 교수님께 감사를 드리며, 논문이 나오기까지 교정 및 심사를 하시느라 고생하신 정준기 교수님, 김기홍 교수님께도 고마움을 금할 길이 없습니다. 그리고 관심을 가져주시고 격려해주신 정현도 교수님, 허민도 교수님, 박수일 교수님께 감사드립니다.

2년이라는 기간동안 지금의 제가 있기까지 저를 도와주신 수권환경학 실험실원들에게 진심으로 감사를 드리며, 자주 말다툼 하지만 항상 신경 써주시는 실험실의 방장인 석우 선배님, 논문에 대해 많은 조언을 해주신 우리 실험실의 큰 언니인 은영이 언니, 제가 이곳에 처음 왔을때 아무것도 모른 저에게 많은 실험을 가르쳐주신 유화언니, 이것저것 많은 일을 군소리 없이 도와주고 일 잘하는 후배 미영이, 조용한 광섭이 오빠, 항상 따뜻하게 챙겨주셨던 승엽오빠, 지금은 휴학중이지만 나의 논문 실험을 도와주고 항상 실험실 일을 열심히 했던 희주오빠, 멋쟁이 봉환이 오빠, 휴학을 하지 않았으면 졸업동기가 됐을 재미있는 병욱이 오빠, 힘이 너무 좋은 영주오빠, 무뚝뚝한 용찬이, 몇 번뿐이 못봤지만 든든해 보이는 상규선배, 밖에서 실험실에 많은 도움을 주시고 학교에 오시면 항상 웃으시면서 저에게 잘 대해주셨던 규석 선배님과 자근 선배님, 그리고 아무것도 몰랐던 저에게 논문 읽는 방법부터 어병학회 구두발표때까지 많은 도움을 주신 정훈선배님, 타지에서 와서 힘들어할 때 먼저 말 걸어주시고 제가 잘 적응 할수 있게 해주신 성길선배님께 진심으로 감사한 마음을 전합니다. 또한 우리 실험실인원같은 착각을 불러일으키게 만드는 약리방의 상환선배, 항상 힘들때마다 나의 고민을 들어준 진단방의 나의 착한 친구 현정이에게 고맙다는 말을 전합니다.

제가 어렵고 힘들어 할때 마다 저에게 도움을 주시고 힘이 되주신 목포대 해양자원학과 오철웅 교수님, 장진호 교수님, 박찬선 교수님, 임현식 교수님, 박경양 교수님께 진심으로 감사드리며 잘챙겨주는 종헌이 오빠와 종희언니, 그리고 인주오빠께 고맙다는 말을 전합니다. 그리고 항상 힘들때마다 나의 푸념 다 들어주는 나의 착한 친구 미화와 엽따기, 멀리 떨어져있어도 항상 옆에 있는것 같은 승희, 독특한 나의 오랜 친구 은정이, 항상 날 믿어주는 지선이, 멀리 떨어져서있어 얼굴보기 힘든 혜은이, 소꿉친구 세라와 현주, 그리고 나의 대학생활을 떠올리면 항상 모든 기억에 나와 같이 있는 수경이와 미영이, 진숙이에게 다시 한번 고맙다는 말을 전하고 싶으며 행복하길 바랍니다.

마지막으로 언제나 부족한 딸을 믿어주시고 항상 실험과 타지생활에 지친 저를 위로 해주시며 격려를 보내주신 사랑하는 부모님, 할머니, 오빠, 언니, 여동생 그리고 우리집에 항상 도움주시는 이모, 이모부께 감사드리며 이 논문을 바칩니다.

VII. 참고문헌

- Addison, R. F. 1984. Hepatic mixed function oxidase (MFO) induction in fish as possible biological monitoring system. In "Contaminant Effects on Fisheries", (V.W. Cairns, P.V. Hodson and J.O. Nriagu, Eds.). 52-60. Wiley, New York.
- Anderson, M. J., D. Cacela, D. Beltman, S. J. Teh, M. S. Okihiro, D. E. Hinton, N. Denslow and J. T. Zelikoff. 2003. Biochemical and toxicopathic biomarkers assessed in smallmouth bass recovered from a polychlorinated biphenyl contaminated river. *Biomarkers*. 8, 371-393.
- Basha, P. S. and A.U. Rani. 2003. Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 56, 218-221.
- Belpaeme, K., K. Delbeke, L. Zhu and M. Kirsch-Volders. 1996. Cytogenetic studies of PCB 77 on brown trout (*Salmo trutta fario*) using the micronucleus test and the alkaline comet assay. *Mutagenesis*. 11(5), 485-492
- Brinbaum, M. and A. Bosabel. 1998. Toxic equivalent factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife, *Environ. Health Perspect.*, 106(12), 775-792.
- Brown, C. A. and S. D. Black. 1989. Membrane topology of mammalian cytochrome P450 from liver endoplasmic reticulum. Determination by trypsinolysis of phenobarbital-treated microsomes. *J. Biol. Chem.*, 264, 4442-4449.

- Buckler, D. R., L. Cleveland, E. E. Little and W. G. Brumbaugh. 1995. Survival, sublethal responses and tissue residues of Atlantic salmon exposed to acidic pH and aluminum. *Aquatic Toxicol.*, 31, 203-216.
- Choi K. C., S.R. Jeon, I. S. Kim and Y. M. Son. 2002. Coloured Illustrations of The Freshwater Fishs of Korea.
- Diana, M. E. Otto and Thomas W. Moon. 1995. TCB Effects on Antioxidant Enzymes and Glutathione Status in Different Tissues of Rainbow Trout. *Pharmacol. Toxicol.*, 77, 281-287.
- Dixon, T. J., J. B. Taggart and S. G. George. 2002. Application of Real time PCR determination to assess interanimal variabilities in CYP1A induction in the European flounder (*Platichthys flesus*). *Mar. Env. Res.* 54, 267-270.
- Donohoe, R. M. and L. R. Curtis. 1996. Estrogenic activity of chlordecone, *o,p'*-DDT and *o,p'*-DDE in juvenile rainbow trout : induction of vitellogenesis and interaction with hepatic estrogen binding sites. *Aquatic Toxicol.*, 36, 31-52.
- Dutton, G. J. 1980. In *Glucuronidation of Drugs and Other Compounds* (Ed. GJ Dutton). CRC Press Inc. Boca Raton.
- Erickon, V. D. 1997. *Analytical Chemistry of PCBs*, Lewis Publishers, New York.
- Flouriot, G., Paked, F., Ducouret, B., Y.Valotaire. 1995. Influence of xenobiotics on rainbow trout liver estrogen receptor and VTG gene expressioin. 15, 143-151.
- Guillette, LJ. Jr. D. B. Pickford, D. A. Crain, A. A Rooney and H. F.

- Percival. 1996. Reduction in penis size and plasma testosterone concentrations in juvenile alligators living in a contaminated environment. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 101, 32-42.
- Gupta, P. K. 1974. Malathion induced biochemical changes in rats. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 35 : 191-194.
- Halliwell, B. 1994. Free radicals antioxidants and human disease curiosity cause or consequence *Linc. E. T.* 344, 721-724.
- Hanninen, O. 1968. On the metabolic regulation in the glucuronide acid pathway in the rat tissues. *Ann. Acad. Sci. Fenn.* A2:1-96
- Hutzinger, O., S. Safe, and V. Zitko, 1974. The chemistry of PCBs. CRC Press, Boca Raton, Florida : 269
- Huuskonen, S. and P. Lindstrom-Seppa. 1996. Effects of Non-*ortho*-substituted Polychlorinated Biphenyls (Congeners 77 and 126) on Cytochrome P4501A and Conjugation Activities in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp Biochem Physiol C*, 113(2), 205-213.
- Jacob, R. A. and B. J. Burri. 1996. Oxidative damage and defence. *A. M. J. Clin Nutr*, 63, 985S-990S.
- Jakoby, W. B. 1980. "Glutathione Peroxidase" enzymatic basis of detoxication, I. New York, Academic press, 333-353.
- Jakoby, W. B. and W. H. Habig. 1980. Enzymatic Basis of Detoxication. Academic Press, New York, 63~94.
- Jobling, S., D. Sheahan, J. A. Osborne, P. Mattiessen and J. P.

- Sumpter. 1996. Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. Environ. Toxicol. Chem. 15, 194-202.
- Joeng, G. H., Kim, H. J., Joo, Y. J. Kim, Y. B. and H. Y. So. 2001. Distribution characteristics of PCBs in the sediments of the lower Nakdong River, Korea. Chemosphere, 44. 1403-1411.
- Kimbrough, R. D. 1987. Human health effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs). Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 27, 86.
- Kimjunke , N., Schmidt, K., Pflugmacher, S., Mehner, T., 2002. Consumption of cyanobacteria by roach (*Rutilus rutilus*) : useful or harmful to the fish? Freshwater Biol. 47, 243-250.
- Khan RA (1999) Length-mass relationship, histopathology and parasitism in winter flounder, *Pleuronectes americanus*. Bull Environ Contam Toxicol., 61, 770-777.
- Kraut, E. H. and A. L. Sagone. 1981. The effect of oxidant injury on the lymphocyte membrane and function. J. Lab. Clin. Med., 98, 697-703.
- Lanno, R. P., S. J. Slinger and Hilton, J. W. 1985. Effects of ascorbic acid on dietary copper in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture, 49, 269-287.
- Laurence G. 1988. Characterization of Phase I and Phase II Drug Metabolism and Effect of β -naphthoflavone in the Liver and Posterior Kidney of the Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*
- Lee. K. T., S. Tanaba and C. H. Koh. 2001. Contamination of

- Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Sediments from Kyeonggi Bay and Nearby Areas. Korea, Marine Pollution Bulletin. Vol. 42, 273-279.
- Leroy C. F., Nancy D. D., Vijayasri R., Marjorie C., D. Andrew Crain, Jack Enblom, Joseph Marcino, and Louis J. Guillette Jr. 1996. Vitellogenin Induction and Reduced Serum Testosterone Concentrations in Feral Male Carp (*Cyprinus carpio*) Captured Near a Major Metropolitan Sewage Treatment Plant.
- Litwack, G., Ketterer, B., and I. M. Arias. 1971. Ligandin : A hepatic protein with binds steroids, bilirubin, carcinogens and a number of exogeneous organic anions. Nature, 466-467.
- Maija, P., C. Malin, F. Lars and A. Tommy. 1987. Comparison of Xenobiotic Biotransformation Enzymes in Kidney and Liver of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). Toxicol. Appl. Pharmacol., 91, 75-84.
- Mannervik, B. 1985. The isoenzymes of glutathione transferase. Adv. Enzymol. 57, 357~417.
- McCord, J. M. and I. Fridovich. 1996. Superoxide dismutase ; Enzymatic function erythrocuprein (hematocuprein). J. Bio. Chem., 244, 6049-6055.
- Melancon, M. J., Binder, R. L., Lech, J. J. 1988. Environmental induction of monooxygenase activity in fish. In "Toxic Contaminants and Ecosystem Health : A Great Lakes Focus", (M. S. Evans, Ed.). 215-255. Wiley, New York.

- Nelson, S. D. 1995. Mechanisms of the formation and disposition of reactive metabolites that can cause acute liver injury. *Drug. Meta. Rew.*, 27, 147-177.
- Michael, J. H., J. B. Christopher, L. H. ecky, D. F. Stephanid, M. Dragoslav, J. K. Kevin and D. D. Nancy. 2002. Vitellogenin mRNA regulation and plasma clearance in male sheepshead minnows, (*Cyprinodon variegatus*) after cessation of exposure to 17 β -estradiol and p-nonylphenol. *Aquatic Toxicol.*, 58, 99-112.
- Miranda, C. L., M. C. Henderson, J. L. Wang, H. A. Chang, H. D. Hendricks and D. R Buhler. 1992. Differential effects of 3,4,5,3',4',5'-hexachlorobiphenyl on interrenal steroidogenesis in male and female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 103C, 153-157.
- Monosson, E, Flemong W. J, Sullivan C. V. 1994. Effects of the planar PCB, 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (TCB) on ovarian development, plasma levels of sex steroid hormones and vitellogenin, and progeny survival in the white perch (*Morone americana*). *Aquat Toxicol.*, 29, 1-19.
- Muir, D. C. G., R. J. Norstrom and M. Simon. 1988. Organochlorine Contaminants in arctic food chains : Accum chlordanerelated compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 22,1071-1079.
- Nebot, C., M. Moutet, P. Huet, J. Z. Xu, J. C. Yadan and J. Chaudiere. 1993. Sperctophotometric assay of superoxide dismutase activity based on the activated autoxidation of a

- tetracyclic catechol. Anal. Biochem., 214, 442-451.
- Palmer, B. D., L. K. Huth, D. L. Pioto and K. W. Selcer. 1998. Vitellogenin as a biomarker for xenobiotic estrogens in an amphibian model system. Environ. Toxicol. Chem. 17, 30-36.
- Paul, H. A. 1979. Lipophilicity of acceptor substrate as a factor in late foetal rat liver microsomal UDP-glucuronosyltransferase activity. Biochem. Pharmacol., 29, 999-1006.
- Payne, J. F., Fancy, L. L., Rahimtula, A. D., Porter, E. L. 1987. Review and perspective on the use of mixed function oxygenase enzymes in biological monitoring. Comp. Biochem. Physiol. 86C, 233-245.
- Rice, J. A. 1990. Bioenergetics modelling approaches to evaluation of stress in fishes. American Fisheries Society Symposium, Bethesda, Maryland, 8, 80-92.
- Roch, M. and E. J. Maly. 1979. Relationship of cadmium-induced hypocalcemia with mortality in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and the influence of temperature on toxicity. J. Fish. Res. Board Can. 36, 11, 1279-1303.
- Roy Chowdhury, J., N. Roy Chowdhury, C. N. Falany, T. R. Tephly and I. M. Arias. 1986. Isolation and characterization of multiple forms of rat liver UDP-glucuronate glucuronosyltransferase. Biochem J. 233, 827-837.
- Schmidt, K., C. Steinberg, S. Pflugmacher and G. Staaks. 2004. Xenobiotic Substances Such as PCB Mixtures (Aroclor 1254) and TBT Can Influence Swimming Behavior and

- Biotransformation Activity (GST) of Carp (*Cyprinus carpio*). Environ. Toxicol., 19(5), 460-470.
- Siraj Basha, P. Usha Rani, A. 2003. Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). Ecotoxicol. Environ. Saf., 56, 218-221.
- Sivarajah, K., C. S. Franklin and W. P. Williams. 1978. Some histopathological effects of Aroclor 1254 on the liver and gonads of rainbow trout, *Salmo gairdneri* and carp, *Cyprinus carpio*. J. Fish. Biol. 13, 411-414.
- Sunderman, F. W. Jr. 1986. Carcinogenicity and mutagenicity of some metals and their compounds. Lyon, IARC, scientific publications, 71, 17-43.
- Steinberg, C. E. W., R. Lorenz and O. H. Spieser. 1995. Effects of atrazine on swimming behavior of zebrafish, *Brachydanio rerio*. Water Res. 29, 981-985.
- Styczynspk, P., M. Green, J. Puig, B. Coffman and T. R. Tephly. 1991. Purification and properties of a rat liver phenobarbital-inducible 4-hydroxybiphenyl UDP-glucuronosyltransferase. Mol. Pharmacol. 40, 80-84.
- Tam, W. H., J. N. Fryer, B. Valentine. 1990. Reduction in oocyte production and gonadotrope activity, and plasma levels of estrogens and vitellogenin, in brook trout exposed to low environmental pH. Can. J Zool 68: 2468-2476.
- Takeda, Y., A. Ichihara, H. Tanioka and H. Inowe. 1964. The effect of corticosteroids on leakage of enzyme from dispersed rat

- liver cell. J. Biol. Chem., 239, 3590-3596.
- Thomas, P. 1989. Effects of Aroclor 1254 and Cadmium on Reproductive endocrine function and ovarian growth in atlantic croaker. Mar. Environ. Res., 28, 499-503.
- Thomas, P. 1990. Teleost model for studying the effects of chemicals on female reproductive endocrine function. J. Exp. Zool. Suppl., 4, 126-127.
- Toxic Substance Control Act Inventory, USA, 1991.
- Tyler, C. R. 1990. The purification and partial characterization of carp *Cyprinus carpio*, VTG. Fish Physiol. Biochem, 8(2), 111-120.
- Van der Oost, R., S. C. C. Lops, H. Komen, K. Satumalay, R. Van der Bos, H. Heida and N. P. E. Vermeulen. 1998. Assessment of environmental quality and inland water pollution using biomarker responses in caged carp (*Cyprinus carpio*): Use of a bioactivation : detoxication ratio as a biotransformation index (BTI). Mar. Environ. Res. 46(1-5), 315-319.
- Wallace, R. A. 1985. Vitellogenesis and oocyte growth in non-mammalian vertebrates. In : "Developmental Biology" (L. Browder, Ed.), Vol. 1, pp. 127-177. Pergamon Press, Elmsford, New York.
- Weber, S. and L. Karbe. 1995. Suitability of the Ruffe (*Gymnocephalus cernua* [L.]) for investigations of Activity of Hepatic Enzymes Induced by Xenobiotics. Ecotoxicol. Environ. Saf., 32(3), 215-218.

- WHO. 1993. PCBs, Environmental Health Criteria 140.
- Wishart G. J. 1978. Demonstration of functional heterogeneity of hepatic uridine diphosphate glucuronosyltransferase activities after administration of 3-methylcholanthrene and phenobarbital to rats. *Biochem. J.* 174, 671-672, 1978.
- Young, G., L. W. Crim, H. Kagawa, A. Kambegawa and Y. Nagahama. 1983. Plasma 17 α , 20 β dihydroxy-4-pregnen-3-one levels during sexual maturation of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) : correlation with plasma gonadotropin and in vitro production by ovarian follicles. *Gen. Comp. Endocr.*, 51-96-105.
- Yu, N. W., C. Y. Hsu, H. H. Ku, L. T. Chang and H. W. Liu. 1993. Gonadal differentiation and secretions of estradiol and testosterone of the ovaries of *Rana catesbeiana* tadpoles treated with 4 hydroxyandrostenedione. *J. Exp. Zool.*, 265, 310-315.
- 환경부, 1996. 기존화학물질목록.
- 환경부, 2005. PCBs 변압기 전국실태조사