

이 학 석 사 학 위 논 문

비소(As) 노출에 의한 틸라피아
*Oreochromis niloticus*의 기관별
축적과 항산화 반응



2011년 8월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 명 의 학 과

정 지 원

이 학 석 사 학 위 논 문

비소(As) 노출에 의한 틸라피아
*Oreochromis niloticus*의 기관별
축적과 항산화 반응

지도교수 강 주 찬

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함

2011년 8월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 명 의 학 과

정 지 원

정지원의 이학석사 학위논문을 인준함.

2011년 8월 26일



주심 약학박사 정준기



위원 농학박사 허민도



위원 이학박사 강주찬



목 차

Abstract

I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	6
1. 실험어 및 실험환경	6
2. 전혈	7
3. 혈청	8
4. Bioaccumulation	8
5. 조직	9
6. 생화학 분석	10
6-1. Glutathione level	10
6-2. Glutathione reductase	10
6-3. Glutathione peroxidase	11
6-4. Glutathione S-Transferase	11
6-5. Protein	12
7. 유의성 검정	12
III. 결 과	13
1. Bioaccumulation	13
2. 혈청분석	17
2-1. 혈액 성분	17
2-2. 혈청무기성분	17

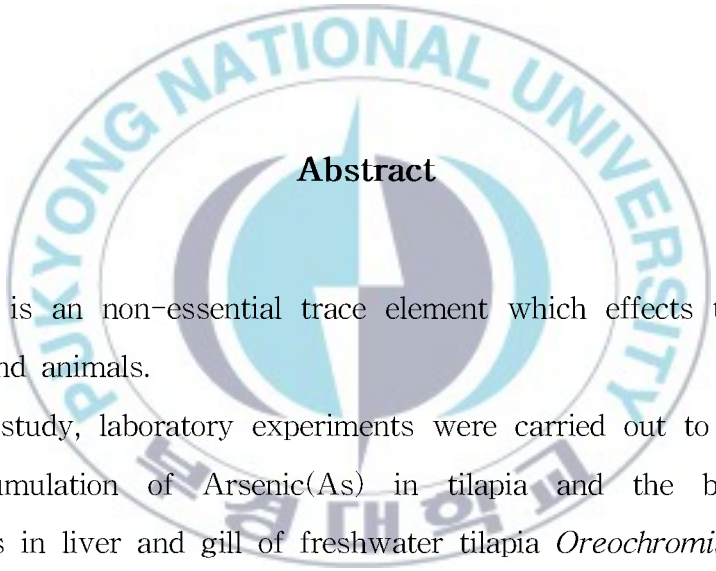
2-3. 혈청유기성분	18
2-4 혈청효소성분	18
3. 생화학 분석	22
3-1. Total glutathione 함량	23
3-2. Glutathione reductase의 활성	30
3-3. Glutathione peroxidase의 활성	31
3-4. Glutathione S-Transferase의 활성	31
IV. 고 찰	51
V. 요 약	64
VI. 감사의 글	65
VII. 참고문헌	66



Tissue bioaccumulation and antioxidant responses in tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to arsenic.

Ji Won Jeong

Department of Aquatic Life Medicine, The Graduate school,
Pukyong National University



Abstract

Arsenic is an non-essential trace element which effects toxicity to human and animals.

In this study, laboratory experiments were carried out to determine the accumulation of Arsenic(As) in tilapia and the biochemical responses in liver and gill of freshwater tilapia *Oreochromis niloticus* under 20, 25 and 30°C temperatures. tilapia were exposed to 200 μ g/l and 400 μ g/l arsenic for 10 and 20days.

Accumulations in gill and liver were significantly changed with elevated temperature. These data indicate that tilapia, *Oreochromis niloticus* liver and gill can be considered adequate target tissues for waterborne exposed of As.

blood were measured on total protein, glucose, GOT and GPT in tilapia exposed to As concentrations. Total protein and glucose were

increased and the elevated activities of GOT and GPT were observed during 20days exposure period compared to those of the control group.

arsenic exposed tilapia reduced the contents of glutathione and decreased activities of glutathione reductase, glutathione peroxidase in liver and gill. but, biphasic responses on GST in the tissues.

It was shown that the antioxidant defense parameters of tilapia, including the contents of GSH and activities of GR, GPx, GST were sensitive to arsenic exposure, accompanied by changes of arsenic accumulation under different temperatures in liver and gill tissue. And these data indicates that tilapia, *Oreochromis niloticus* liver and gill can be considered adequate target tissues for waterborne exposure of As and also implied that excessive waterborne As can effect the toxicity of xenobiotics to tilapia through alterations in antioxidant system and bioaccumulation.

I. 서론

반금속인 비소는 자연적 그리고 인위적인 과정의 결과물으로써 수생 환경에 퍼져있는 가장 두려운 독성물질중의 하나이다(ATSDR., 2002; Reimer et al., 2002). 세계 보건 기구(WHO)에 따르면 환경이나 직업으로 인한 비소 노출은 전 세계적인 주요 건강 문제이다.

비소 화합물은 산소(O), 염소(Cl), 및 황(S)과 결합한 무기 비소 화합물과 탄소(C)와 수소(H)와 결합한 유기 비소 화합물로 나뉘며 비소에 대한 위해성은 이온의 상태나 화합물의 형태에 따라 다른 것으로 알려져 있다. 오랜 시간동안 약으로 사용되었으며 살충제, 목재 보존제, 그리고 농작물에 필요한 보충제뿐만 아니라 유리화 전자 기기의 제조에도 사용되어져 왔다(Eisler R., 1988). 또한 광산업, 제련, 금속 제조와 화석 연료 등으로 사용되어지면서 환경을 오염시켰다. 비소 오염은 과거 몇 년 동안 아시아, 유럽, 그리고 미국에서 심각한 문제로 대두되고 있다(Ayotte et al., 2003; Karagas et al., 2002; Mukgerjee et al., 2006). 이렇게 사용된 비소는 여러 자연적 과정으로 인하여 수계 생태계에 흘러들어간다. 대부분의 연구는 포유류에 대한 비소의 영향에 초점을 맞추고 있으나, 어류는 지속적인 아가미 호흡과 오염된 먹이의 섭취로 인해 수계에 존재하는 비소에 특히 취약하다고 판단된다(Heather Bears., 2005). 게다가, 어류 서식지에 많은 양의 비소가 증가할수록 개체수가 줄고 어류에게 해가 된다는 연구결과가 보고되어 있다 (Gilderhus., 1996; Sorenson., 1991; Reimer et al., 2002; Larsen and Francesconi., 2003; Liao et al., 2003).

비소는 어류의 조직에서 대사가 일어나며, 특히 간과 같은 기관에서

활발히 일어난다. green sunfish(Sorensen et al., 1979), rainbow trout(Cockell et al., 1991), 그리고 Japanese medaka와 Tilapia mossambica(Suhendrayatna et al., 2002a,b)와 같은 경골어류에 축적되는 경향이 있다고 보고되어 있다.

비소는 유기 비소와 무기 비소로 나뉘어 존재하며, 이들의 형태에 따라 독성 정도가 다른 것으로 보고되어 있다. 일반적으로 수계 내에서는 무기 비소의 형태로 존재하며, 비소는 arsenite(As^{3+})와 arsenate(As^{5+})로 존재하고 있다. 3가 비소는 체내에서 redox와 methylation 반응으로 5가 비소로 산화되고 5가 비소 중 일부분은 다시 3가 비소로 환원된다(Philips., 1994; Eisler., 1988). 일반적으로 무기비소의 경우 삼산화비소(As^{III})는 수중 생물군에 유해하며(Hall and Burton., 1982), 오산화비소(As^{V})보다 독성이 강한 것으로 알려져 있다(Akter, K.F. et al., 2005). 또한 유기 비소가 무기 비소보다 독성이 낮다(Kobayashi Y. et al., 2005). 독성에 있어서 중요한 것은 무기 비소화합물인데, 이는 자체의 독성이 강할 뿐만 아니라, 환경 중에서 이동이 비교적 자유롭기 때문이다.

이전 연구에서 비소는 어류의 간에서 산화 스트레스를 유발하며(Bhattacharya and Bhattacharya., 2007), 이것은 다른 혈액학적 지표에 변화를 가져온다(Tripathi et al., 2003). 또한 외인성 물질에 대한 혈액학적 성상은 어체의 생리적인 변화에 대한 간접적인 지표로 사용되어 왔으며(Chang et al., 2001; Smet and Blust., 2001), 생체내의 대사작용과 연관하여 stress 요인에 대한 기본적인 자료로 이용될 수 있다(Waring et al., 1992).

비소는 어류에서 특이적인 stress protein의 합성을 유도하며 (Roy and Bhattacharya., 2006) 비소가 어류의 protein과 결합한다는 연구결

과도 있다(Oladimeji., 1985). 무기 비소는 단백질의 thiol groups과 GSH와 같은 비단백질의 thiol group과 결합함으로써 독성을 나타내고(M. Soundararajan et al., 2009), glutathione peroxidase(GPx), glutathione reductase(GR)와 같은 항산화 효소의 활성화는 독성 기전과 연관되어 있다고 알려져 있다(Shila S. et al., 2005).

글루타치온은 환원 형태(GSH) 및 산화 형태(GSSG)로 존재한다. 환원 형태에서는 시스테인의 thiol group이 reactive oxygen과 같은 불안정한 분자에 전자를 제공하고 자신은 다른 활성형 글루타치온과 반응하여 산화 형태인 이황화 글루타치온(glutathione disulfide; GSSG)을 형성한다. GSSG는 글루타치온 환원 효소(Glutathione reductase)에 의해 다시 GSH로 재생된다. GSH(reduced form)은 oxygen radicals를 제거함으로써 세포를 보호하는 것과 관련된 가장 중요한 항산화제중의 하나로 생각된다(Meister., 1989). 게다가 glutathione은 여러 가지 독성 물질들을 해독, 배출하고 많은 효소들의 보조인자로 작용한다(Francesco R. et al., 1995). 또한, GSH는 arsenate에서 arsenite로 환원될 때 전자를 제공하는 역할로 비소의 생체 내 변화에 관여하고 있으며(Thomas P. et al., 1982), 비소와 glutathione 복합체를 형성하여 비소를 배출하는 역할도 한다(Joseph R. et al., 2007). 항산화 방어 시스템이 손상되거나 체내 효소의 농도보다 독성 물질이 많을 때, 산화스트레스는 DNA 손상, 효소 불활성 그리고 지질과산화와 같은 결과를 초래할 수 있다(Halliwell et al., 1989).

항산화제는 오염 물질의 노출 후에 유도되며, 세포의 항상성 유지에 중요한 역할을 한다. 활성 산소종을 해독하기 위한 세포내 방어 기전은 효소계, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione S-transferase, superoxide dismutase, 그리고 catalase를 포함한다

(J.H. Doroshov., 1995;Y. Yamamoto et al., 1993;N. Avissar et al., 1989;K.D. Teur., 1994 ;K. Mekhail-Ishak., 1989).

주요 세포 항산화제인 GSH 농도는 glutathione reductase(GR)에 의하여 유지되며(Seelig et al., 1985), NADPH를 소모하여 GSSG를 GSH로 환원하여 세포질내의 GSH농도를 유지한다(Zhang et al., 2005).

이러한 효소 중에서 glutathione peroxidase는 hydrogen peroxide와 organic hydroperoxides의 환원 과정을 통해($\text{ROOH} + 2\text{GSH} \rightarrow \text{ROH} + \text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$), 산화 스트레스와 free radicals을 효율적으로 보호하는 기능을 한다(Francesco R. et al., 1995).

Glutathione S-Transferase는 이성질 효소로써 외인성 물질의 생체 내 변화에 관여하는 중요한 역할을 한다(Ria M.E. et al., 1990). GST는 mercapturic acid를 형성하는 해독 경로의 초기 단계로 친전자성 기질을 GSH에 결합시키는 반응을 돕는다(Ngo et al., 1994). GST는 해독능력을 증가시키고, 외인성 물질을 제거시키며, 외인성 물질의 활성을 감소시키면서 외인성 물질에 대한 저항력을 높인다. 주로 lipid, nucleic acid hydroperoxides와 다른 lipid peroxidation의 생성을 제거하는 기능도 하는 것으로 알려져 있다(Hayes et al., 1995).

효소의 유도는 특정한 오염물질에 대한 방어를 나타내며(Doyotte et al., 1997), 오염된 환경으로 인한 산화 스트레스의 biomarker로 이용되어져 왔다(Livingstone et al., 1992).

항산화 효소는 유해한 영향이 어류에 나타나기 이전에 환경적인 스트레스의 민감한 biomarker로 사용되어질 수 있으며, 물에 존재하고 있는 독성 물질의 예측을 가능하게 하는 중요한 지표이다(Heath., 1987;Geoffroyetal., 2004).

비소는 오염된 서식지에 사는 freshwater fish에 생물학적으로 이용 가능하다. 해양 무척추 동물과 척추동물에 관한 연구, 특히 해양 어종에 관한 연구는 많이 이루어져 있으며, 또한 외인성 물질에 대한 해양 생물의 감수성을 설명하기 위한 antioxidant에 대한 많은 연구가 진행되어왔다(Wenning et al., 1988; Livingstone et al., 1990; Di Giulio et al., 1993; Lemaire and Livingstone., 1993). 그러나 오염물질에 대한 민물어종의 항산화 반응에 대한 연구는 거의 이루어져 있지 않다. 비소의 기간별 농도와 온도 변화에 대한 항산화계 효소와 축적을 조사하기 위하여 만성 노출에 따른 freshwater fish인 틸라피아의 간과 아가미에서의 반응을 조사하였으며 조직 간 축적의 정도를 조사하여 비교하였다.

이 실험에서 사용한 틸라피아는 아프리카 동남부가 원산지인 민물고기로 현재 전 세계 100여 개국에서 사육이 이루어지고 있으며, 우리나라에는 1955년부터 내수면연구소를 통해 도입되었다. 환경 저항성이 강하고 성장이 빠르며 저급질의 사료로도 양식이 가능하여 해마다 생산량이 증가하고 있으며, 서식수온의 한계는 14~45℃이다. 틸라피아는 고도로 수질오염이 된 서식지에도 강한 저항성을 가지고 있으므로 환경오염을 생물학적으로 모니터링할 수 있는 잠재력을 가지고 있다. 이 연구의 목적은 독성 물질에 대한 freshwater fish의 항산화계의 변화와 금속의 축적을 조사함으로써의 수질오염의 지표로 사용될 수 있으며, 어종의 환경에 따른 기초자료로도 사용될 수 있다.

II. 재료 및 방법

1. 실험어 및 실험환경

본 실험에 사용한 실험어(*Oreochromis niloticus*, Tilapia)는 부경대학교 해양바이오신소재공학과에서 분양받은 전장 14.98 ± 1.78 cm, 체중 56.35 ± 8.77 g의 어류로, 항온실습실에서 4주간 순치시킨 후 외관상 질병의 증세가 없는 건강한 개체를 선별하여 실험에 사용하였다. 순치 후 $39 \times 54 \times 30$ 40L 유리 수조에 각 10마리씩 9구간으로 준비하고 일주일이상 순치시켰다. 틸라피아용 부상사료를 공급하였으며, 수돗물을 대형 수조에 받은 후, 하루 이상 폭기시켜 수온($25 \pm 1^\circ\text{C}$)을 일정하게 유지시킨 후에 환수하였다.

온도조절은 Electronic thermostat (MS701-H, Mink, Korea)를 이용하였으며, 순치시킨 온도에서 하루에 1°C 씩 하강 또는 상승시켜 20°C , 25°C 와 30°C 로 유지시킨 다음 실험을 진행하였다. 실험기간 중 수질은 Table 1에 나타내었다.

As의 표준용액은 Sodium Arsenite를 1000mg/l로 만들어 사용하였으며 노출 농도 구간은 급성독성실험(Hwang and Tsai, 1993)을 바탕으로 하여 각 온도의 농도 200ppb와 400ppb로 설정하였다. 실험 기간은 총 20일이었으며, 실험시작 후 10일과 20일에 시료 샘플을 채취하였다. 시료는 조직 내 생화학적인 변동 파악과 조직의 As 축적을 알아보기 위해서 실험어의 간과 아가미를 채취하였다.

Table 1. Chemical analysis of the freshwater used in bioassays.

item	value
Temperature(℃)	20±0.1, 25±0.4, 30±0.5
pH	7.5±0.5
Dissolved oxygen(mg/l)	8.1±0.2
Ammonia(μg/l)	7.9±0.3
Nitrite(μg/l)	1.1±0.4
Nitrate(μg/l)	6.2±0.2
Phosphate(μg/l)	4.1±0.4

2. 전혈

실험어는 Ethyl p-aminobenzoate(Sigma chemical, St. Louis, ,MO)으로 마취 시킨 뒤, heparine-Na(5,000 I.U., Choongwae pharm. co.)을 처리한 주사기를 사용하여 미부정맥에서 채혈하였다.

채혈한 혈액을 사용하여 적혈구 수(Red Blood Cell count), hemoglobin(Hb) 및 hematocrit(Ht)를 측정하였다. 적혈구 수는 Hendrick's diluting solution으로 혈액을 1:200으로 희석한 후, hemo-cytometer(Improved Neubauer, Germany)를 이용하여 광학 현미경하에서 계수하였다.

혈중 Hb농도는 시판되고 있는 임상용 kit(Sigma Co., USA)를 이용하여 Cyan-methemoglobin법으로 측정하였으며, Ht은 hematocrit 모세관으로 혈액을 채혈한 후, microgematocrit centrifuge (HAWKSLEY AND SONS Ltd., England)에서 12,000rpm으로 5분간 원심 분리하고, 판독관(Micro-Haematocrit reader, HAWKSLEY AND SONS, England)으로 측정하였다.

3. 혈청

채취한 혈액은 4℃, 6000rpm으로 5분간 원심분리하여(MICRO 22R, Hettich, Germany) 혈청을 분리하였다.

혈청의 무기성분인 칼슘(calcium)은 Arsenazo III법을, 마그네슘(magnesium) 측정은 Xylidyl blue-I 법을 사용하였다(Asan Pharm Co., Ltd). 혈청의 유기성분 변화를 관찰하기 위하여 총단백질(total protein)과 글루코스(glucose)의 변동을 조사하였으며 각각 Biuret법, GOD/POD법을 사용하는 임상용 키트(Asan Pharm. Co., Ltd)를 사용하여 측정하였다. 혈청 중 효소 활성의 변화를 보기 위하여 GOT(glutamic oxalate transaminase), GPT(glutamic pyruvate transaminase)를 측정하였다. GOT와 GPT는 Reitman-Frankel법으로 측정하였다.

4. Bioaccumulation

틸라피아의 간, 아가미조직을 적출하여 분석에 사용하였다. 조직 시료의 분해는 wet digestion method(APHA, 1992)를 이용하였다. 채취한 시료는 동결건조기를 이용하여 하루 이상 말린 후 건중량을 잴다. 건조된 시료는 각각 3ml의 HNO₃(suprapur grade, Merck Germany)와 섞고, 120℃에서 열을 가하여 여러 번 재건조시켰다. 질산에 녹인 후 다시 건조시킨 시료는 2% HNO₃ 20ml을 가하여 membrane filter(Advantec mfs, Ins. 0.2μm)을 이용해 필터링하여 보관하였다. As

의 측정은 유도결합 플라즈마 질량분석기(ICP-MS, Elan-DRc, Perkin-elmer Ltd.)를 이용하여 측정하였으며, As의 회수율을 알아보기 위한 CRMs(certified reference materials)로는 ERM-CE278 (European Commission)을 이용하였다. 조직 내 함량은 $\mu\text{g/g dry wt}$ 로 표현하였다.

5. 조직

간과 아가미 내의 효소 활성을 측정하기 위해 해부 후, washing buffer(0.1M KCl, pH 7.4)로 세척한 뒤, 각 무게를 측정하여 일정한 비율로 GSH는 5% 5-sulfosalicyclic acid(SSA)를 이용, GR, GPx와 GST는 homogenizing buffer(0.1M K_2HPO_4 , 0.15M KCl, 1mM DTT, 1mM EDTA and 0.1mM PMSF)를 이용하여 teflon-glass homogenizer(099CK4424, Glass-Co., Germany)로 균질화하였다. 균질화 된 조직은 GSH의 경우 4℃에서 8000g로 10분간 원심분리하였으며, 그 외의 분석은 조직을 12000g으로 25분간 원심 분리하여(Micro 22R, Hettich zentrifugen Ltd, Germany), 상등액을 실험 전 까지 -75℃(MDF-U53V, SANYO Electric Co. Ltd., Japan)에 보관하였다.

6. 생화학 분석

6-1. Glutathione level(GSH)

총 글루타치온(GSH)함량은 Baker 등(1990)의 방법에 의하여 측정되었다. 측정을 위한 시료는 GSH의 측정 시 방해가 되는 protein을 제거하기 위하여 5% 5-sulfosalicyclic acid(SSA)로 희석하여 사용하였다. 일정 시료에 혼합시액(100mM NaH_2PO_4 , 1mM EDTA, 0.15mM DTNB, 0.2mM NADPH 및 1U/mL glutathione reductase, pH 7.5)을 첨가하여 파장 405nm에서 5분 이상 측정하였다(Zenyn 200, Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria). GSH 함량 계산은 GSSG를 사용한 검량선을 바탕으로 계산하였으며, 단위는 $\mu\text{M/g tissue}$ 로 나타내었다.

6-2. Glutathione reductase(GR)

GR 효소는 Beutler(1984)의 방법을 통하여 측정하였다. 시료에 1mM EDTA가 포함된 potassium phosphate(pH 7.5), 2mM oxidized glutathione(GSSG) 및 3mM DTNB를 첨가한다. 반응은 당일 조제한 2mM NADPH의 첨가로 시작한다. NADPH가 산화형 글루타치온(GSSG)을 환원형 글루타치온(GSH)으로 환원시킨 후, DTNB에 의하여 발색된 용액을 분광흡광도 412nm에서 30초 단위로 4분 동안 측정하였고(Zenyn 200, Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria), 단위는 $\text{nmol/min/mg protein}$ 으로 표시하였다.

6-3. Glutathione peroxidase(GPx)

GPx 효소는 Bell 등(1985)의 방법으로 수정한 것으로 H_2O_2 를 기질로, sodium axide를 catalase 억제제로 사용하였다. 시료에 42mM GSH, 5mM NADPH, 10U GSH-reductase, 10mM sodium azide 및 0.5mM EDTA가 포함된 50mM Tris- HCl buffer(pH 8.0)를 시료에 가한 후 5분 동안 20℃에서 배양하였다. 반응은 2.5mM H_2O_2 를 넣는 동시에 시작되었다. NADPH가 산화되는 비율은 340nm에서 4분 동안 20초 단위로 분광광도계(Zenyn 200, Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria)를 이용하여 측정하였고, 단위는 nmol/min/mg protein으로 표시하였다.

6-4. Glutathione S-transferase(GST)

GST 효소 활성은 Habig(1974)의 방법을 응용하여 측정하였다. 일정량의 시료에 0.2M potassium phosphate(pH 6.5), 10mM GSH와 증류수를 넣어 혼합시킨 뒤 10mM CDNB를 첨가한다. 실온에서 1분 정도 반응시킨 후, 분광광도계(Zenyn 200, Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria)를 사용하여 파장 340nm에서 5분 동안 30초 단위로 측정하고 활성을 nmol/min/mg protein으로 표시하였다.

6-5. Protein

조직의 단백질 함량의 측정은 Bradford(1976) 방법으로 측정하였다. Bovine gamma globulin(Sigma, USA)을 사용하여 표준검량선을 작성하였다.

7. 유의성 검정

실험 결과의 통계 처리는 SPSS 통계프로그램(version 12.0 Michigan Avenue, Chicago, IL, USA, 1997)을 이용하여 ANOVA test를 실시한 후, 사후 검정은 다중 비교로 Duncan test를 사용하여 각 처리구 사이의 유의성(<0.05)을 비교하였다

Ⅲ. 결 과

1. Bioaccumulation

1-1. 간

20℃구간에서 대조구와 비교하여 모든 농도 구간에서 축적이 관찰되었다. 200ppb농도에서 10일 20일의 유의한 변화는 나타나지 않으나 400ppb에서 노출기간에 비례하여 10일보다 20일에 더 많은 축적을 나타냈다. 25℃구간에서도 대조구와 비교하여 모든 구간에서 축적의 유의한 증가가 관찰되었다. 200ppb와 400ppb구간에서 노출 기간에 비례하여 유의하게 증가하였다. 30℃에 노출시킨 간 내 축적의 변화도 다른 온도구간과 비슷한 양상이 나타났다. 10일과 20일 모든 구간에서 축적이 증가하였으며 농도와 비례하여 유의한 증가가 나타났다. 또한, 20℃와 25℃구간보다 30℃에서 가장 높은 축적이 관찰되었다.

1-2. 아가미

비소에 노출시킨 아가미 내 축적의 유의한 증가가 관찰되었다. 20℃에 노출시킨 틸라피아에서 10일과 20일에 유의한 증가하였다. 200ppb구간에서는 대조구와 비교하여 뚜렷하게 축적이 관찰되지 않았으나, 400ppb구간에서는 증가하였다. 25℃구간에서도 대조구와 비교하여 유의한 변화가 관찰되었다. 30℃에서도 축적이 관찰되었다. 200ppb구간에서는 대조구와

비교하여 증가를 보였으며 10일과 20일에 축적의 큰 차이는 보이지 않았다. 400ppb구간에서는 노출기간과 비례하여 증가하였다. 아가미에서는 모든 온도구간에서 축적이 나타났으며 20℃와 25℃구간에서는 축적의 차이가 보이지 않았으나 30℃구간에서 점차 많은 양의 비소가 어체 내에 축적이 되는 것이 관찰되었다.



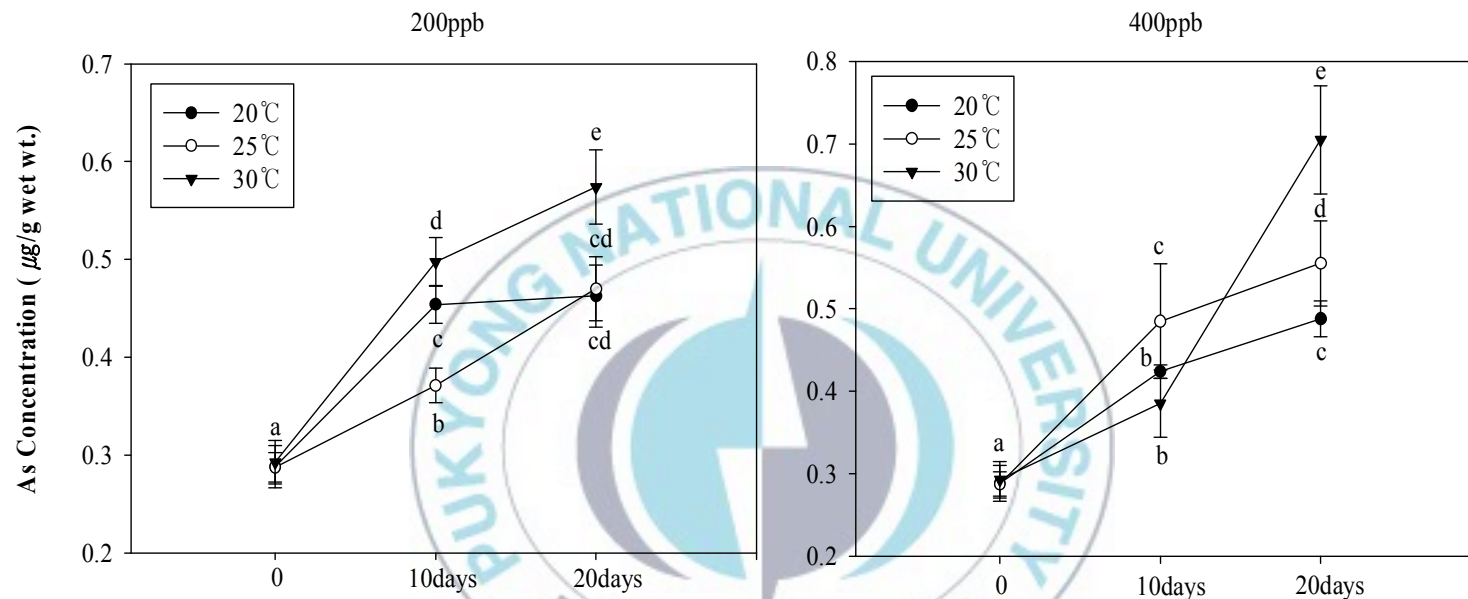


Figure 1. The accumulation of As in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to 200ppb and 400ppb of arsenic at 20°C, 25°C and 30°C in freshwater.

Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

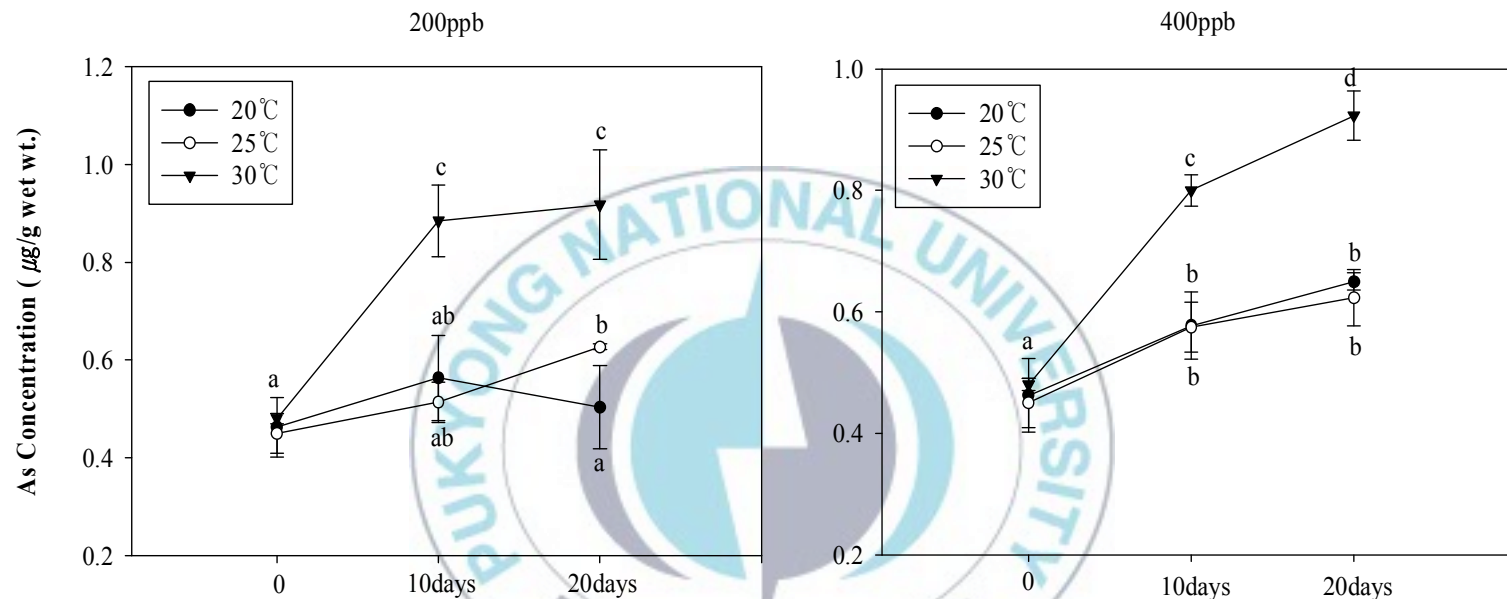


Figure 2. The accumulation of As in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to 200ppb and 400ppb of arsenic at 20°C, 25°C and 30°C in freshwater.

Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different (P < 0.05) as determined by Duncan's multiple range test.

2. 혈청 분석

2-1. 혈액 성분

Arsenic 노출시킨 혈액성상의 변화는 Ht(Hematocrit), RBC count(Red Blood Cells count)와 Hb(Hemoglobin)을 조사하였다(Table 2).

Ht와 RBC count는 20℃와 30℃에서 10일부터 유의하게 증가하였으며, 25℃에서는 20일에 유의한 증가를 나타냈다. 농도별로 200ppb보다 400ppb에서 더 큰 증가폭을 보였다.

Hb은 20℃와 25℃에서는 20일에 유의한 감소가 나타났으며, 30℃에서는 다른 온도와 다르게 10일과 20일에 유의한 증가를 보였다.

2-2. 혈청 무기성분

혈청 무기성분의 변화는 Table 3에 나타내었다. 혈청 내 칼슘(calcium)의 농도는 온도별 농도구간마다 유의성있게 증가하거나 감소하였으나 모든 구간에서 농도와 온도 간에 일정한 변화는 관찰되지 않았다.

마그네슘(magnesium)의 농도의 변화도 관찰되었다. 20일 동안 25℃에 노출시킨 티라피아의 혈청 내 마그네슘은 유의성있게 감소하였으나 다른 구간에서는 10일과 20일에 유의하게 증가하였다. 농도 간에 성분변화의 큰 차이는 나타나지 않았다.

2-3. 혈청유기성분

Arsenic 노출 결과 나타난 티라피아의 혈청유기성분 조사는 총 단백질(total protein)과 글루코즈(glucose)를 조사하였다. Table 4에 나타난 결과와 같이 TP은 모든 온도에서 10일과 20일에 유의한 증가를 보였으나 농도에 따른 차이는 나타나지 않았다.

글루코즈는 대조구와 비교하여 10일에 모든 농도 구간에서 유의하게 증가하였다. 그러나 20일에 400ppb에서 유의하게 감소하였으며 30℃구간에서는 모든 농도구간에서 감소가 나타났다.

2-4. 혈청효소성분

본 연구에서 실험한 티라피아의 혈청효소성분인 GOT(Glutamic oxaloacetic transaminase)와 GPT(Glutamic pyruvic transaminase)의 변화를 관찰하였다(Table 5).

GOT는 모든 구간에서 노출기간이 증가할수록 농도와 비례하여 증가하는 양상을 보였으며, 20일 동안 30℃에 노출시킨 실험어에서 가장 큰 증가폭이 나타났다.

혈청 내 GPT의 농도 또한 GOT와 비슷한 양상이 나타났다. 혈청효소 성분은 노출기간이 증가함에 따라 비례적으로 증가하였으며, 30℃에 노출시킨 티라피아의 GPT의 변화가 가장 크게 나타났다.

Table 2. Hematological data from tilapia exposed 200ppb and 400ppb at 20℃, 25℃ and 30℃ for 20days.

		10days			20days		
		control	200ppb	400ppb	control	200ppb	400ppb
20℃	Hematocrit(%)	17.50±2.08 ^a	30.75±1.50 ^c	23.60±1.81 ^b	19.20±4.20 ^{ab}	28.83±5.53 ^c	30.25±3.52 ^c
	RBC (×10 ⁴ /mm ³)	26.13±2.29 ^a	47.67±1.61 ^c	37.75±6.60 ^b	27.60±3.85 ^a	49.6±3.07 ^c	51.25±5.72 ^c
	Hemoglobin(g/dL)	3.20±0.36 ^b	3.47±0.28 ^b	3.23±0.20 ^b	3.27±0.24 ^b	2.65±0.25 ^a	2.66±0.25 ^a
25℃	Hematocrit(%)	28.33± 0.58 ^a	29.40±1.14 ^a	31.68±3.21 ^{ab}	29.0±1.41 ^a	31.0±2.64 ^{ab}	33.33±1.52 ^b
	RBC (×10 ⁴ /mm ³)	43.40±8.44 ^{bc}	30.75±6.73 ^a	32.38±4.50 ^{ab}	42.30±2.17 ^{bc}	48.10±11.78 ^c	51.60±8.93 ^c
	Hemoglobin(g/dL)	3.14±0.06 ^b	2.86±0.25 ^b	2.71±0.19 ^{ab}	3.18±0.03 ^b	2.72±0.19 ^{ab}	2.28±0.71 ^a
30℃	Hematocrit(%)	18.5±1.29 ^a	25.0±1.73 ^b	32.67±4.50 ^c	18.0±0.82 ^a	37.50±3.11 ^d	38.67±2.08 ^d
	RBC (×10 ⁴ /mm ³)	47.60±4.03 ^{ab}	46.00±2.65 ^a	58.25±5.87 ^{bc}	49.67±4.04 ^{ab}	65.80±6.30 ^{cd}	70.00±12.73 ^d
	Hemoglobin(g/dL)	2.94±0.24 ^a	4.01±0.67 ^b	3.96±0.72 ^b	2.82±0.10 ^a	4.69±0.68 ^b	4.09±0.43 ^b

Values are means±S.E.(n=5). Values with different superscript are significantly different(P<0.05) as determined by Duncan's

Table 3. Changes of plasma calcium and magnesium in tilapia exposed to arsenic for 20days.

		10days			20days		
		control	200ppb	400ppb	control	200ppb	400ppb
20°C	Calcium (mg/dL)	11.85±0.10 ^a	14.71±1.81 ^{ab}	16.30±2.19 ^c	12.18±0.58 ^a	13.84±2.03 ^{ab}	12.31±0.98 ^a
	Magnesium (mg/dL)	5.53±0.38 ^a	7.12±0.34 ^b	6.60±0.82 ^b	5.66±0.29 ^a	6.52±0.35 ^b	6.60±0.69 ^b
25°C	Calcium (mg/dL)	11.11±0.97 ^a	12.08±0.62 ^{ab}	13.15±0.57 ^b	10.86±1.46 ^a	15.08±0.99 ^b	12.20±0.43 ^{ab}
	Magnesium (mg/dL)	6.86±0.16 ^b	6.81±0.36 ^b	7.22±0.41 ^b	7.08±0.39 ^b	6.04±0.17 ^a	6.11±0.46 ^a
30°C	Calcium (mg/dL)	11.07±1.87 ^a	15.35±0.83 ^c	13.25±0.83 ^{bc}	11.77±0.93 ^{ab}	13.74±0.48 ^{bc}	14.92±1.85 ^c
	Magnesium (mg/dL)	5.64±0.35 ^a	6.97±0.40 ^{cd}	7.05±0.17 ^d	5.52±0.25 ^a	6.21±0.37 ^b	6.57±0.23 ^{bc}

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

Table 4. Changes of plasma total protein and glucose in tilapia exposed to arsenic for 20days.

		10days			20days		
		control	200ppb	400ppb	control	200ppb	400ppb
20°C	Total protein (g/dL)	3.64±0.26 ^a	4.14±0.11 ^{ab}	4.14±0.29 ^{ab}	3.72±0.23 ^a	4.39±0.11 ^b	4.94±0.61 ^c
	glucose (g/dL)	85.73±13.0 ^{ab}	80.28±15.26 ^{ab}	88.68±5.17 ^b	82.76±8.60 ^{ab}	90.39±5.60 ^b	68.53±5.37 ^a
25°C	Total protein (g/dL)	3.73±0.14 ^{ab}	3.89±0.10 ^{bc}	3.95±0.28 ^c	3.63±0.14 ^a	4.21±0.07 ^d	4.34±0.08 ^d
	glucose (g/dL)	65.50±7.87 ^a	97.94±20.53 ^b	96.96±13.33 ^b	61.78±9.82 ^a	104.84±19.53 ^b	63.79±5.79 ^a
30°C	Total protein (g/dL)	3.72±0.12 ^a	4.18±0.16 ^b	4.12±0.25 ^b	3.72±0.14 ^a	4.41±0.24 ^b	4.12±0.25 ^b
	glucose (g/dL)	83.78±7.94 ^a	111.67±11.97 ^a	112.71±28.16 ^a	84.67±6.38 ^a	60.52±8.62 ^a	60.06±9.02 ^a

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

Table 5. Changes of plasma GOT and GPT in tilapia exposed to arsenic for 20days.

		10days			20days		
		control	200ppb	400ppb	control	200ppb	400ppb
20℃	GOT (karmen unit)	38.52±2.00 ^a	61.47±11.90 ^b	71.98±17.06 ^b	37.29±1.64 ^a	67.53±0.94 ^b	90.13±7.59 ^c
	GPT (karmen unit)	26.77±1.19 ^a	32.09±2.40 ^b	31.33±2.30 ^b	25.26±3.65 ^a	36.18±2.68 ^c	44.51±1.37 ^d
25℃	GOT (karmen unit)	54.68±10.17 ^a	53.68±2.30 ^a	53.28±4.33 ^a	49.34±4.69 ^a	85.80±10.96 ^b	87.80±2.31 ^b
	GPT (karmen unit)	23.19±1.96 ^a	26.75±2.26 ^b	29.20±1.06 ^b	22.79±1.74 ^a	45.15±3.17 ^c	57.96±1.88 ^d
30℃	GOT (karmen unit)	38.82±3.80 ^a	40.08±5.88 ^a	61.96±0.31 ^b	40.83±4.15 ^a	72.71±20.34 ^b	115.99±19.86 ^c
	GPT (karmen unit)	19.17±2.92 ^a	29.29±3.51 ^b	42.08±3.99 ^c	20.77±3.40 ^a	42.99±4.61 ^c	51.71±5.50 ^d

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

3. 생화학 분석

3-1. 총 글루타치온(GSH) 함량

Arsenic에 노출시킨 틸라피아의 간 내 non-protein antioxidant인 glutathione의 함량을 조사하였다. 20℃에 노출 시킨 group에서 10일에 대조구와 비교하여 큰 변화는 보이지 않았으나, 20일에 크게 감소하였으며 농도별로 큰 차이는 없었다(Fig. 3). 25℃구간에서 10일에 200ppn와 400ppb구간에서 글루타치온함량이 증가하였으며, 20일에는 대조구와 비교하여 크게 감소하였다(Fig. 4). 30℃구간에서 20일에 노출시킨 틸라피아의 간에서도 유의한 감소가 나타났다(Fig. 5). 20일에 농도 간 감소치의 차이는 나타나지 않았으나, 상대적으로 다른 온도 구간보다 30℃에서 가장 큰 감소가 관찰되었다.

아가미에서도 간과 비슷한 결과가 관찰되었다.

20℃에 노출시킨 어류의 경우 모든 노출 기간 동안 유의한 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 6). 이와 다르게 25℃구간에서 10일에 유의한 변화는 나타나지 않았으나 20일에 대조구와 비교하여 유의한 감소를 보였으며, 농도 간 큰 변화의 차이는 없었다(Fig. 7).

30℃에 노출시킨 틸라피아의 아가미에서도 25℃와 같이 10일에 유의한 감소나 증가는 보이지 않았으나 20일에 유의하게 감소하였다(Fig. 8).

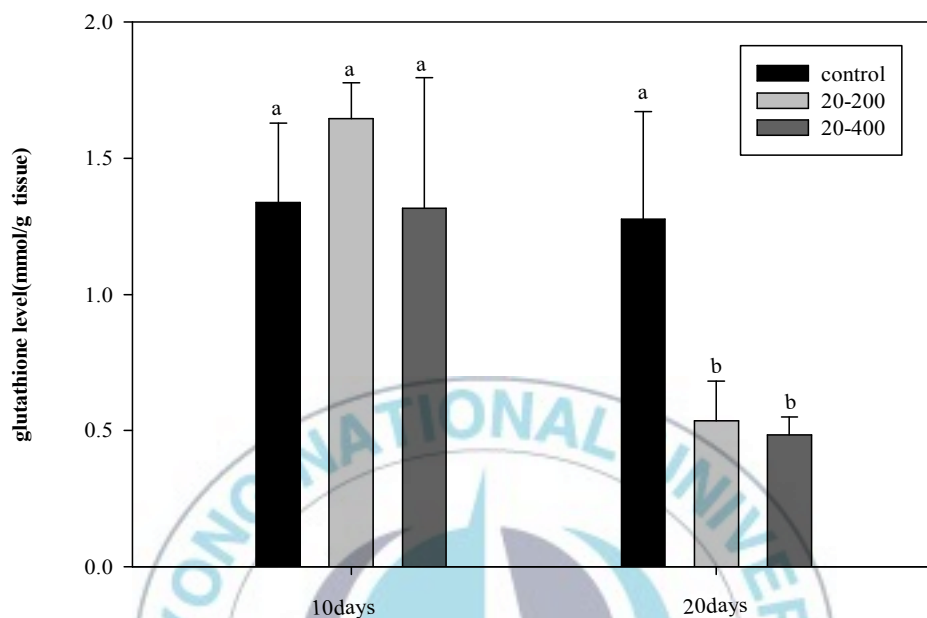


Figure 3. Glutathione level in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 20°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

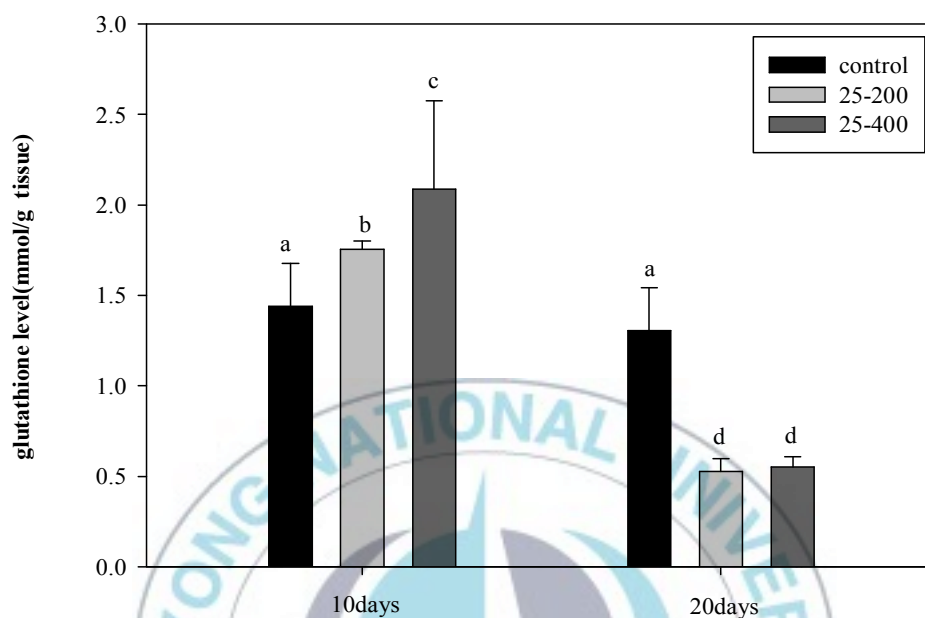


Figure 4. Glutathione level in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 25°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

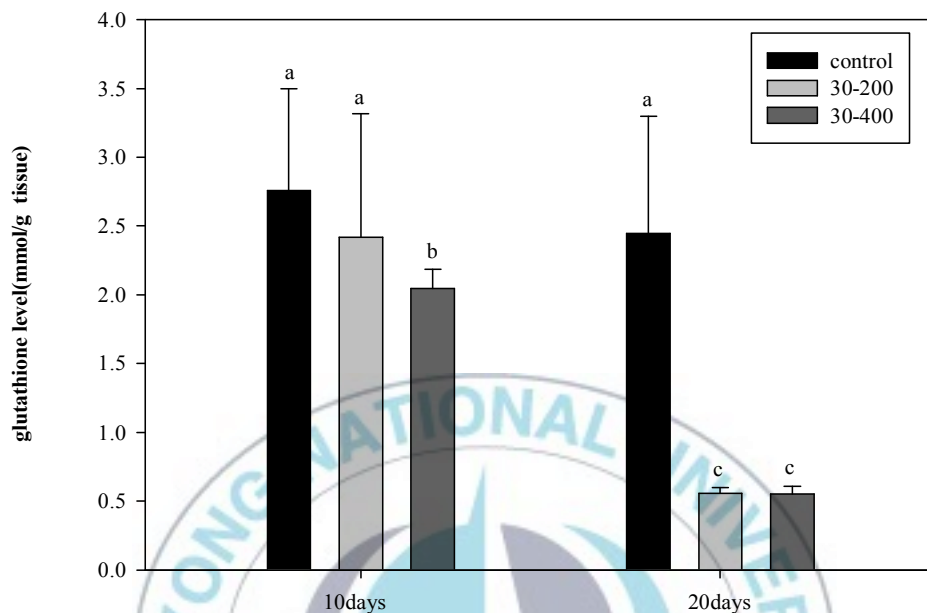


Figure 5. Glutathione level in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 30°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

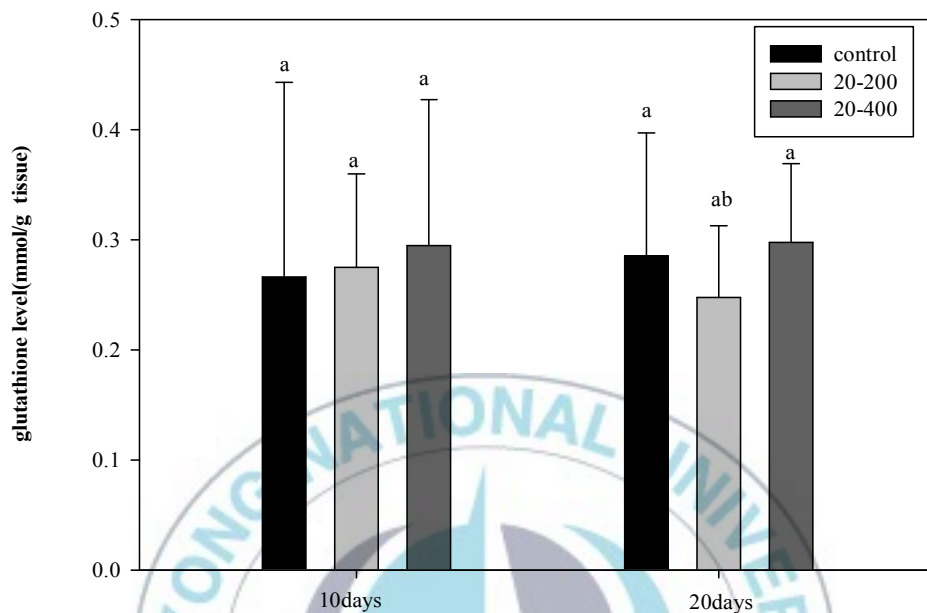


Figure 6. Glutathione level in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 20°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

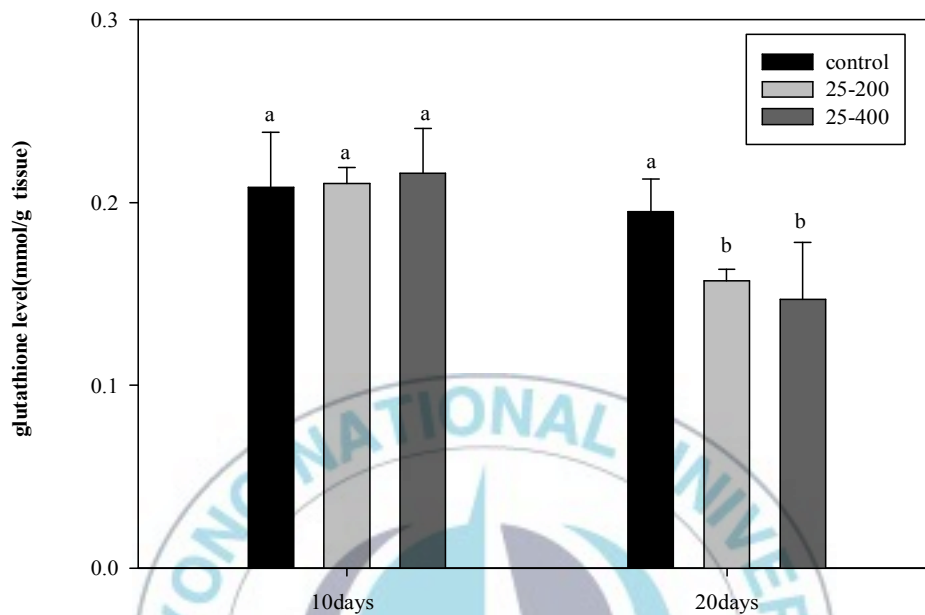


Figure 7. Glutathione level in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 25°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

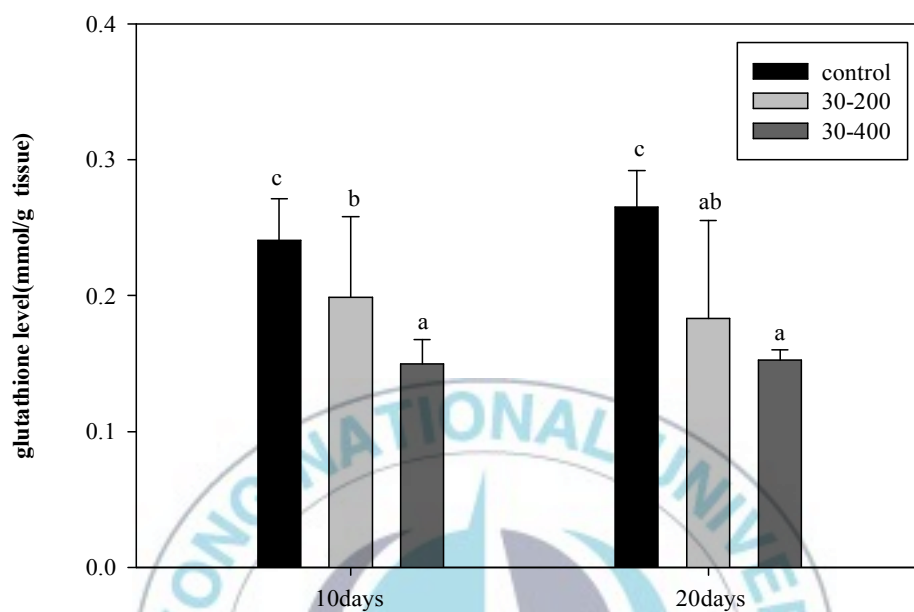


Figure 8. Glutathione level in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 30°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

3-2. glutathione reductase의 활성

비소에 노출시킨 틸라피아의 간 내 GR효소의 변화를 관찰하였다. 20℃구간에서는 10일에 200ppb에서 유의하게 증가하였고 20일에서는 유의하게 감소하였다. 400ppb의 농도에서는 10일과 20일에 유의하게 감소하였다(Fig. 9). 25℃에 노출시킨 실험어에서 10일에 대조구와 GR의 활성을 비교하였을 때 농도가 높아질수록 유의하게 감소하는 경향이 나타났다. 20일에도 대조구보다 유의하게 감소하였으나 농도 간 변화는 없었다(Fig. 10). 30℃의 온도구간에서도 25℃와 같은 경향을 보였다(Fig. 11). 10일에 농도가 증가할수록 GR의 활성이 유의하게 감소하는 경향을 보였으며 20일에서도 농도 간 유의한 차이가 있었다. 노출 기간과 비례하여 감소하는 경향이 나타났으며, 30℃에서 노출시킨 간 내 GR활성의 변화가 가장 크게 나타났다.

틸라피아의 아가미에서도 GR의 변화가 관찰되었다. 20℃에 노출시킨 실험어의 아가미에서는 10일에 농도 간 유의한 차이를 보이며 감소하였다. 20일에 대조구와 GR의 활성의 변화를 비교하였을 때 농도 간 큰 차이를 보이지 않으며 감소하였다(Fig. 12). 25℃에서는 10일과 20일에 대조구와 비교하여 감소하는 양상을 보였고 노출 기간의 차이는 보이지 않았으며, 모든 구간에서 감소하는 경향이 나타났다(Fig. 13). 30℃의 구간에서도 25℃와 비슷한 경향이 관찰되었다(Fig. 14).

3-3. Glutathione peroxidase(GPx)의 활성

20℃구간에서 10일에 간 내 GPx의 활성은 대조구와 비교하여 10일과 20일에 농도와 비례하여 유의하게 감소하였으며 20일에 더 큰 감소치를 보였다(Fig. 15). 25℃구간에서 10일에 GPx의 활성은 유의하게 감소하였으며 200ppb보다 400ppb에서 더 크게 감소하였다. 20일에서의 효소활성은 대조구와 비교하여 큰 폭으로 감소하였으나 농도 간 유의적인 차이는 보이지 않았다(Fig. 16). 30℃구간에서 10일에 GPx 활성은 농도에 비례하여 유의적으로 감소하였다. 20일에서는 농도 간 차이를 보이지 않으며 유의적으로 감소하였다(Fig. 17).

실험어의 아가미 내 GPx활성의 변화의 경우 20℃구간에서 10일에 유의한 변화가 관찰되지 않았으나 20일에서는 대조구와 비교하여 유의하게 감소하였다. 또한, 농도 구간과의 유의한 차이는 보이지 않았다(Fig. 18). 25℃에서도 20℃의 온도구간과 같은 변화를 보였다(Fig. 19). 30℃구간에서 10일에 400ppb에서 유의한 감소가 나타났으며, 20일에는 농도 그룹간의 차이를 보이며 유의하게 감소했다. 30℃에서는 노출 기간이 증가함에 따라 이와 비례하여 각 농도구간에서 유의한 감소가 나타났다(Fig. 20).

3-4. Glutathione S-Transferase(GST)의 활성

20℃구간에서 간 내 GST활성의 변화를 관찰 한 결과, 10일에 대조구와 비교하여 유의하게 감소하였고, 20일에도 대조구와 비교하여 유의하게 감소하였다. 농도 간 그리고 노출 기간에서의 변화는 나타나지 않았다(Fig. 21).

25℃에서도 10일에 유의한 감소가 나타났으며, 농도 간 차이는 관찰되지 않았다. 20일에서도 대조구와 비교하여 유의한 감소가 나타났으며 농도 구간과의 차이는 보이지 않았다(Fig. 22). 30℃의 구간에서도 다른 온도 구간과 같은 경향이 나타났다.

아가미에서는 간 내 효소활성과 다른 결과를 보였다(Fig. 23).

아가미는 20℃구간에서 10일에 대조구와 비교하여 농도 간 유의한 차이를 보이며 증가하였다. 20일에도 대조구와 비교하여 농도 간 유의한 차이를 보이며 증가하였다(Fig. 24). 25℃구간에서 10일에 대조구와 비교하여 200ppb와 400ppb에서 증가하는 경향을 보였으며 20일에서도 농도 간 유의한 증가가 관찰되었다. 노출 기간 동안 10일에서 증가한 효소의 활성은 오히려 20일에 유의하게 감소하는 경향이 나타났으나 대조구와 비교하였을 때 여전히 활성이 증가하였다(Fig. 25). 30℃구간에서 활성의 변화는 10일에 대조구와 비교하여 증가하는 양상을 보였으며, 농도 간 큰 차이는 보이지 않았다. 20일에서도 대조구와 비교하여 증가하였으며 농도 간 유의한 차이를 나타냈다. 10일과 20일 모두 노출기간에 비례하여 200ppb와 400ppb에서 증가를 보였다(Fig. 26).

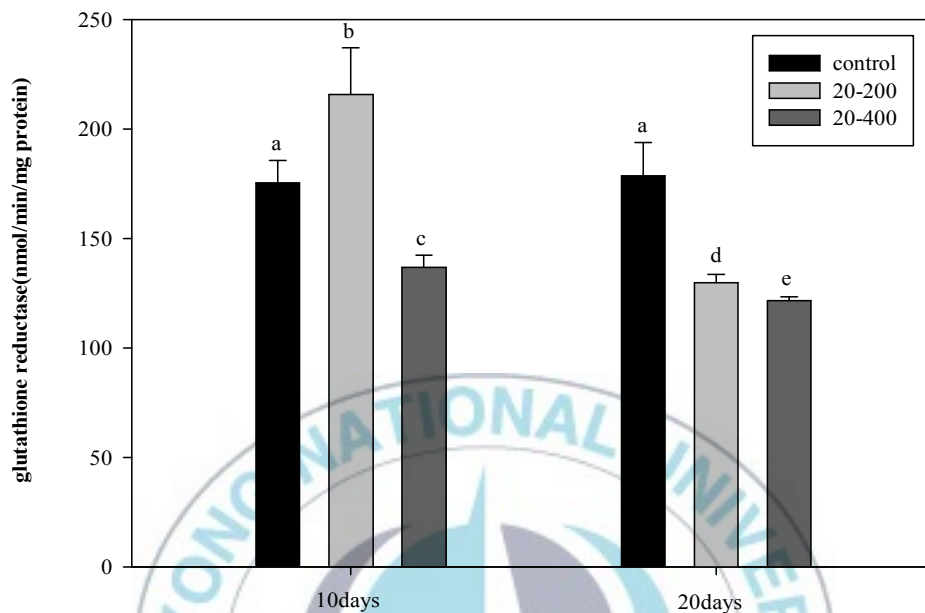


Figure 9. Glutathione reductase activity in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 20°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

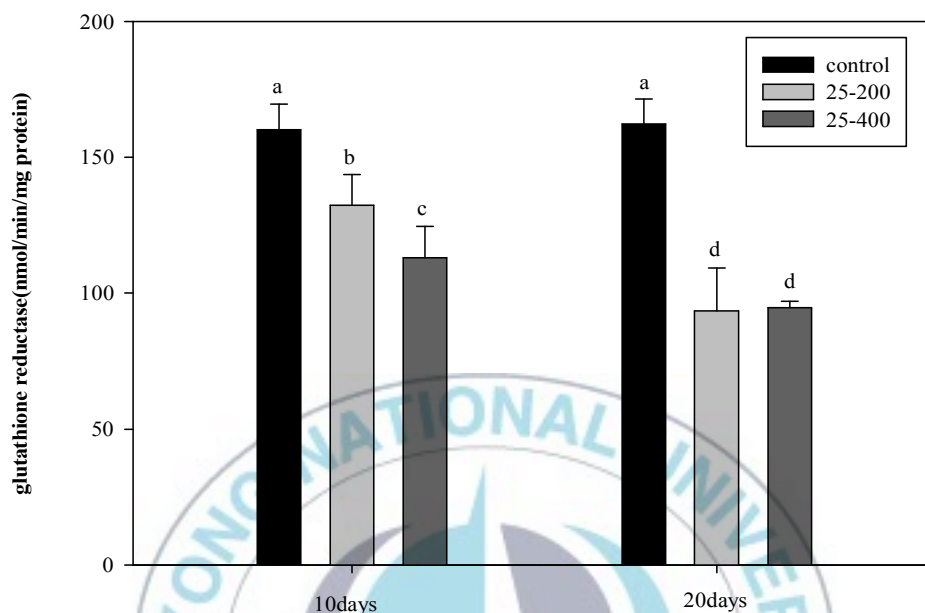


Figure 10. Glutathione reductase activity in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 25°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

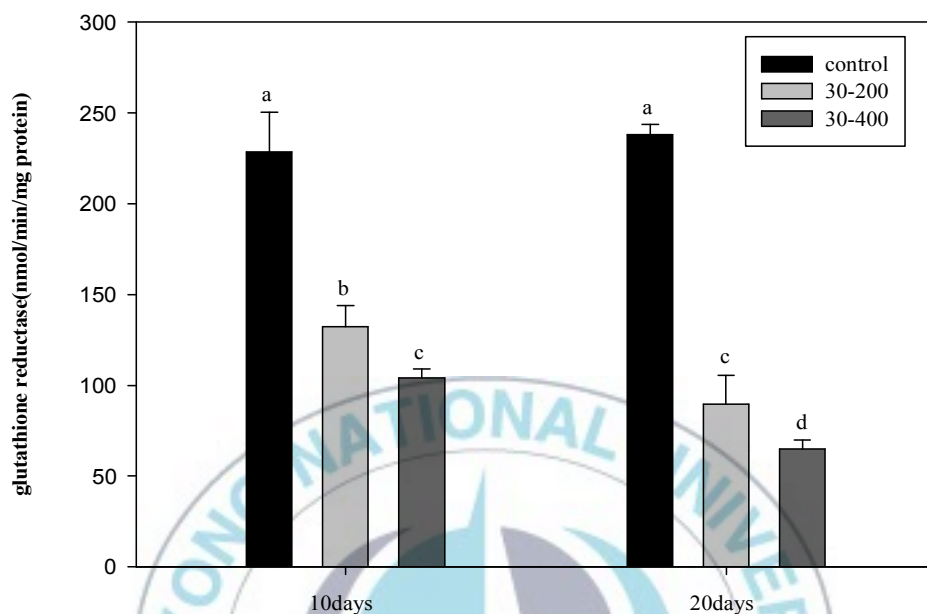


Figure 11. Glutathione reductase activity in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 30°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

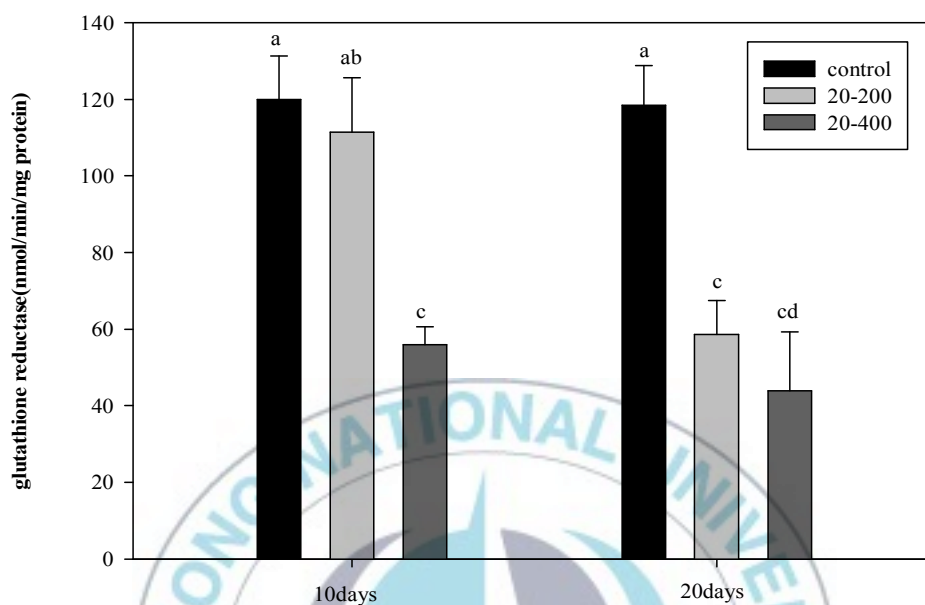


Figure 12. Glutathione reductase activity in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 20°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

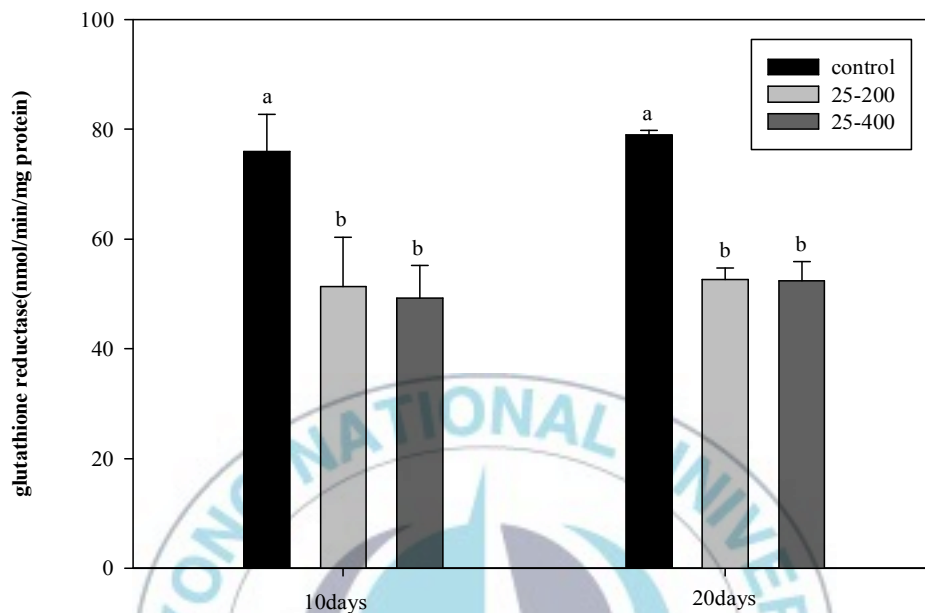


Figure 13. Glutathione reductase activity in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 25°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

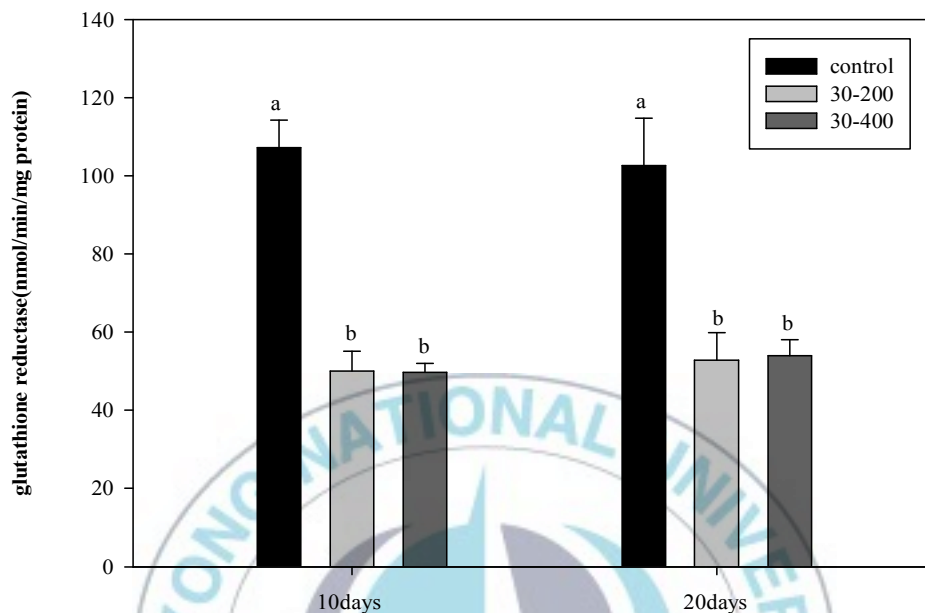


Figure 14. Glutathione reductase activity in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 30°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

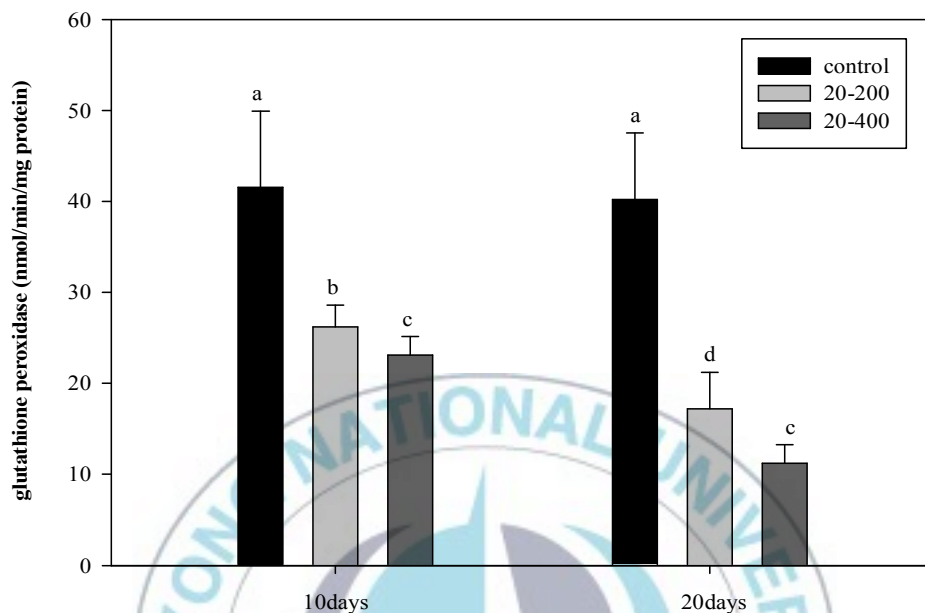


Figure 15. Glutathione peroxidase activity in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 20°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

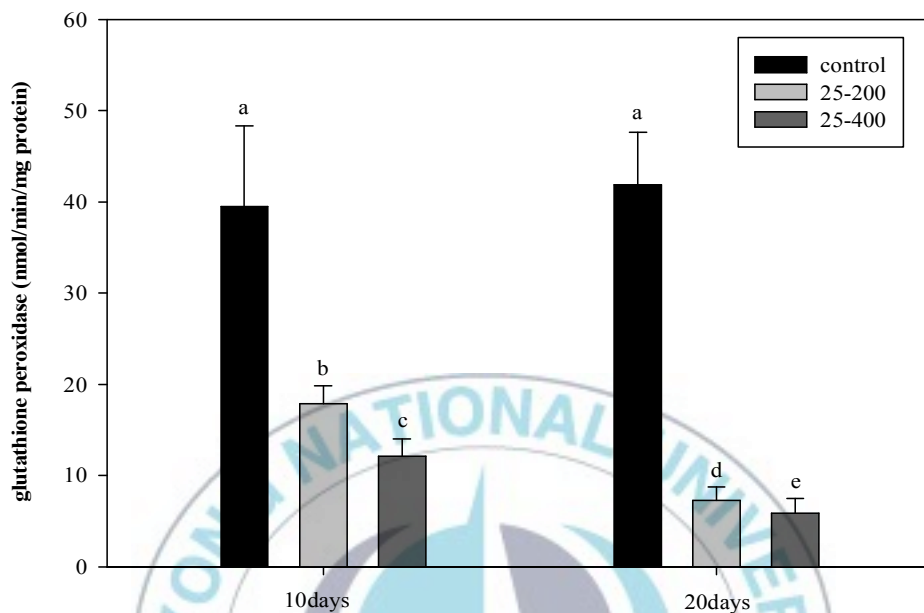


Figure 16. Glutathione peroxidase activity in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 25°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

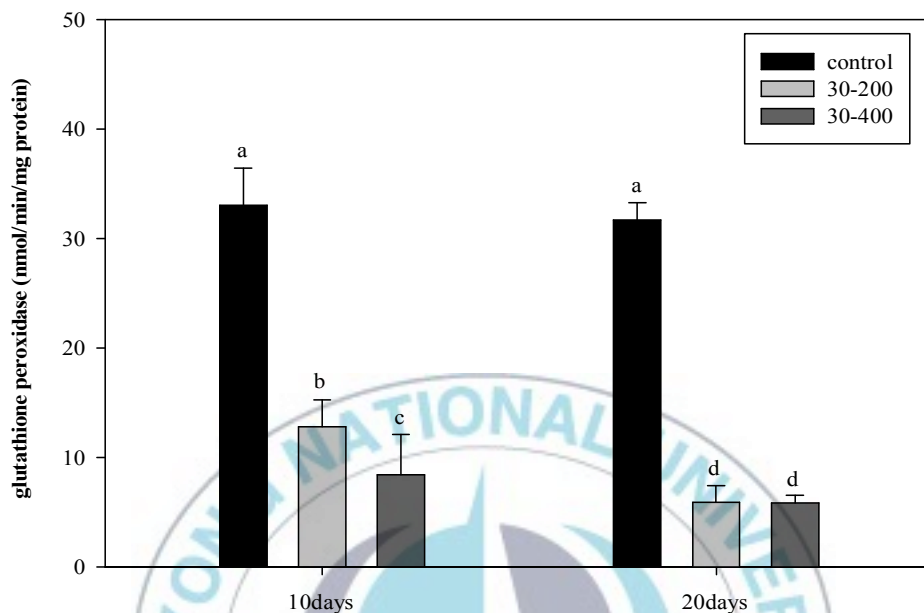


Figure 17. Glutathione peroxidase activity in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 30°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

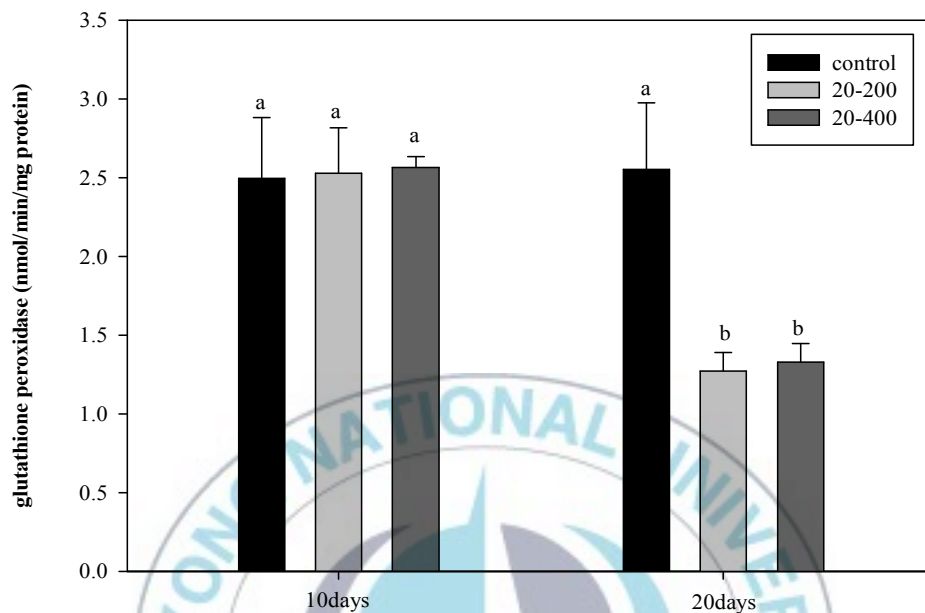


Figure 18. Glutathione peroxidase activity in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 20°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

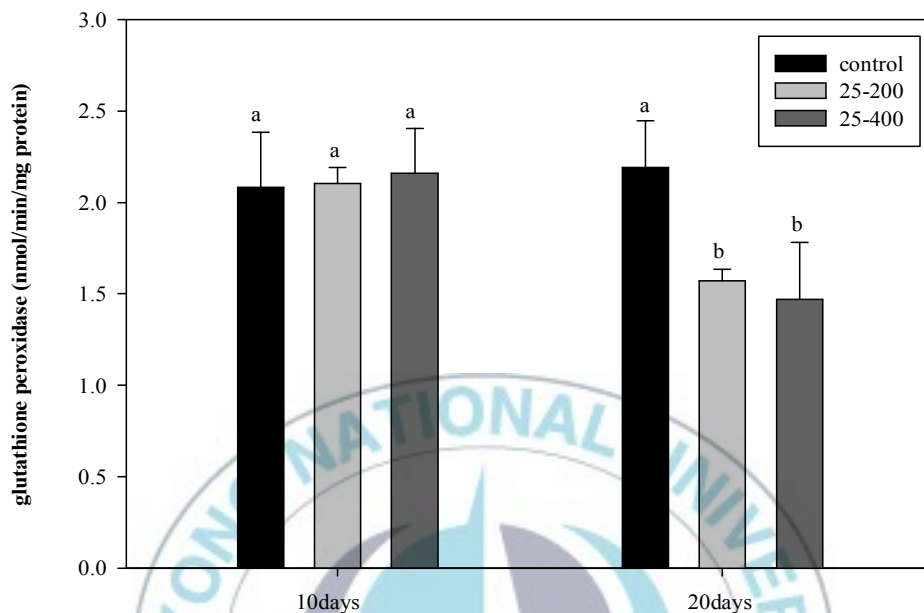


Figure 19. Glutathione peroxidase activity in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 25°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

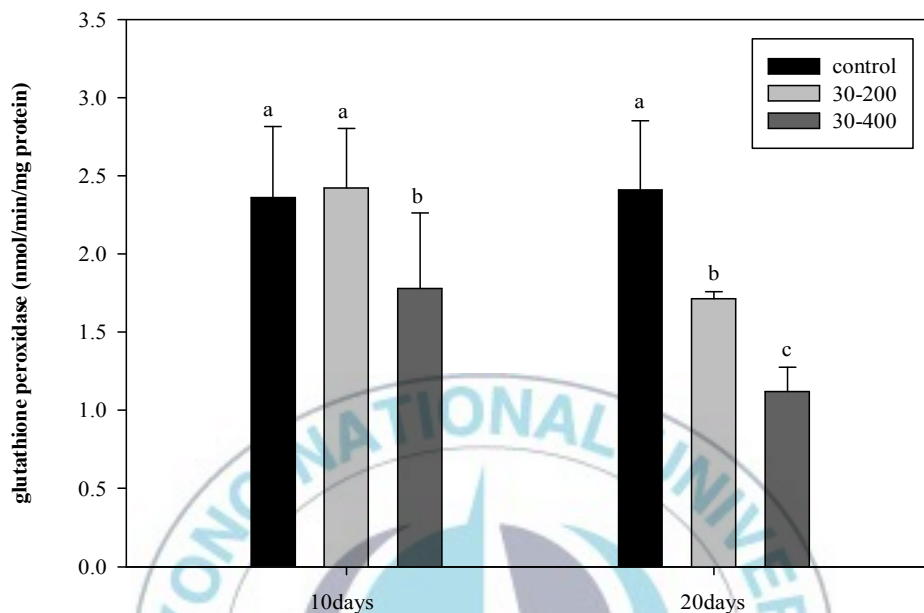


Figure 20. Glutathione peroxidase activity in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 30°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

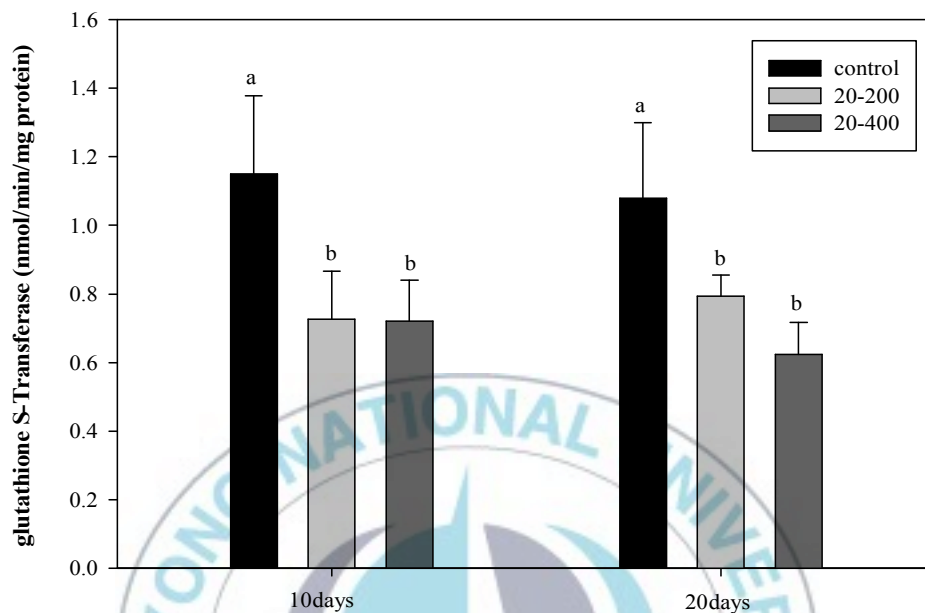


Figure 21. Glutathione S-Transferase activity in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 20°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

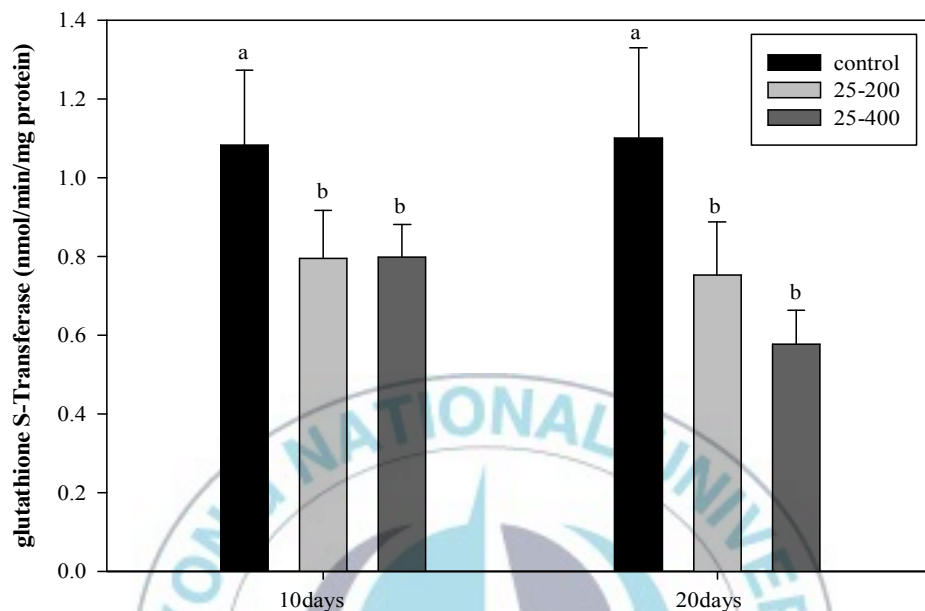


Figure 22. Glutathione S-Transferase activity in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 25°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

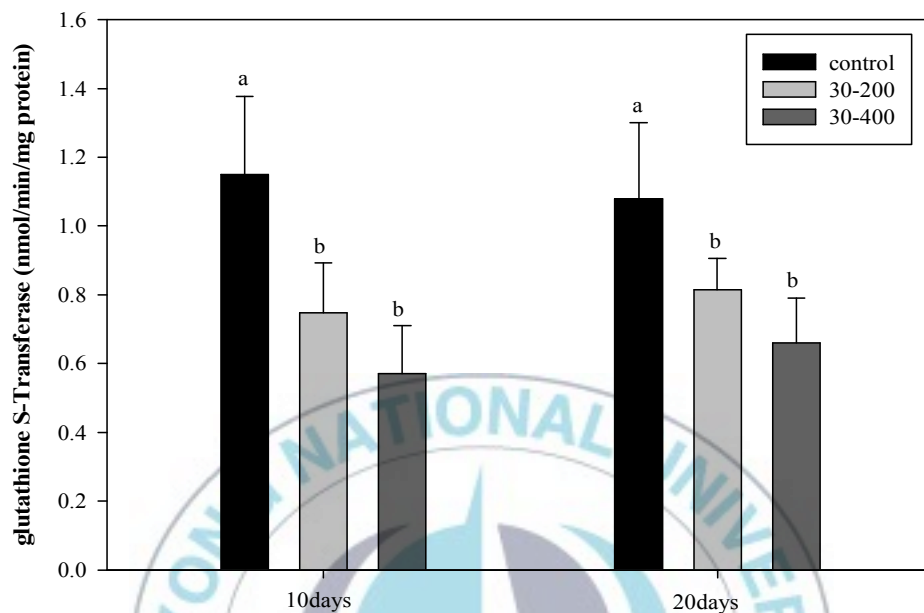


Figure 23. Glutathione S-Transferase activity in the liver of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 30°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

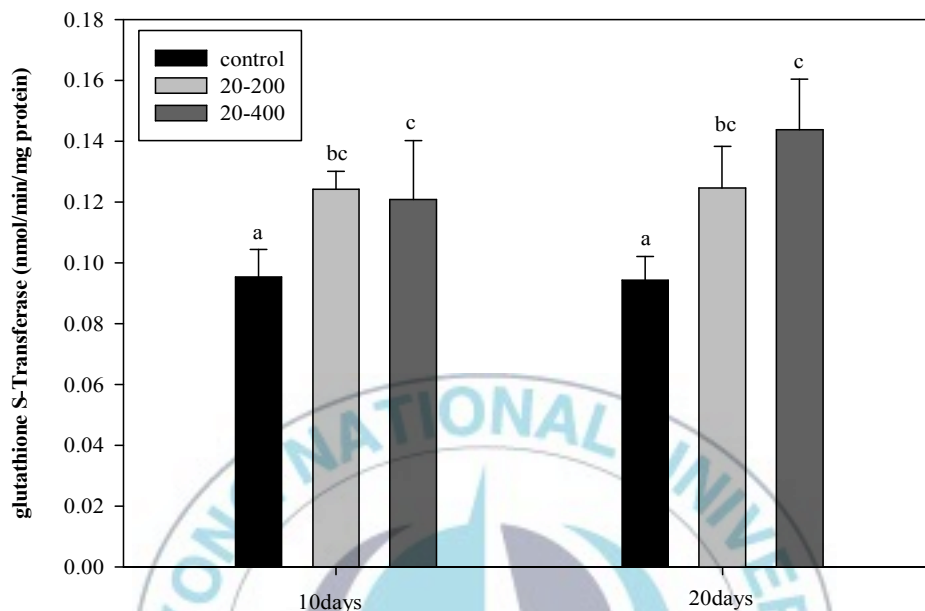


Figure 24. Glutathione S-Transferase activity in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 20°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

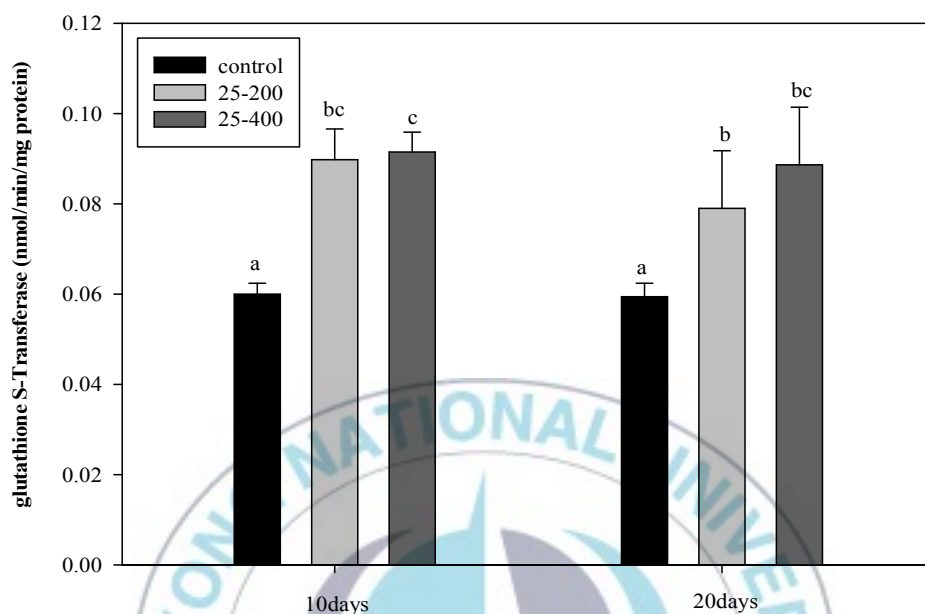


Figure 25. Glutathione S-Transferase activity in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 25°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

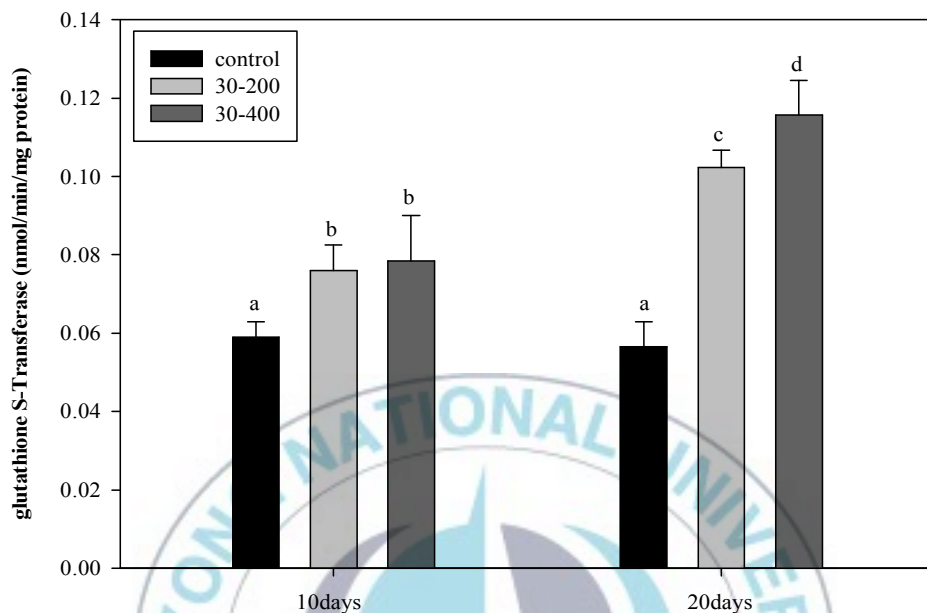


Figure 26. Glutathione S-Transferase activity in the gill of tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to the different concentrations of arsenic at 30°C in freshwater. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

IV. 고 찰

비소(As, 원자번호33)는 흔히 존재하는 요소다. 수계에 존재하는 비소의 양은 그 주위의 환경에 따라서 다양하게 나타나며, 여러 나라의 하천에서 다양한 농도의 비소가 조사되었다. 무기비소에 만성적으로 노출 될 경우 이는 피부, 폐, 방광 그리고 간에 암을 유발한다(Aposhian et al., 2003).

본 연구에서는 틸라피아 *Oreochromis niloticus*를 온도 20℃, 25℃, 30℃의 각 온도당 200ppb와 400ppb에 노출시킨 후 반응을 연구하였다. 그에 따른 간과 아가미 내의 효소변화와 조직간 비소축적의 변화를 조사하였다. 비소 농도는 이전 연구(Hwang et al., 1993)를 바탕으로 틸라피아의 치사량에 영향을 주지 않는 범위로 설정하였다. 만성 노출에 의한 변화를 관찰하기 위하여 비소 노출 기간을 20일로 정하였고, 기간별 변화를 살펴보기 위하여 노출 후 10일과 20일 두 번 샘플링하였다.

실험에 사용된 틸라피아는 광범위한 스트레스 환경, anoxia와 hyperoxia의 환경, 큰 온도 변화에서도 살아남을 수 있는 저항력이 높은 어류이다(Y. Sun et al., 2008).

축적은 생물학적 요인에 따라서 영향을 받는다(Heath., 1987; Joseph R et al., 2007). 과거 어류 조직 내의 비소 축적에 관한 연구는 농도, 기간, 노출 경로, 온도와 같은 물의 특징 그리고 최근에는 비소 중분화에 중점을 두고 연구되어왔다. 간은 대사기전의 가장 중요한 역할을 하며 이는 오염원의 축적, 생체 변환 그리고 배출의 주요 기관(해독작용)이며 이러한 이유로 간에서의 비소축적은 중요한 의미를 가진

다(P. Pereira et al., 2010; Sorensen., 1991). 또한, waterborne 노출 시 아가미는 대부분의 freshwater fish에서 독성 물질이 어체 내로 들어오는 주요 장소이다(J. Cairns JR et al., 1975). 본 연구에서 보여진 조직에서의 축적은 모든 구간에서 노출기간에 비례하여 증가하였으며 400ppb에서 가장 큰 증가폭을 나타냈다. 또한, 노출 후 10일에 비소의 농도는 모든 온도구간에서 큰 차이를 보이지 않았고 노출 후 20일에 20℃와 25℃의 두 온도구간에서도 큰 차이는 나타나지 않았다. 그러나 30℃에 노출시킨 틸라피아의 간과 아가미에서는 다른 온도구간보다 더 많은 양의 비소가 축적되었다. 이는 온도가 상승할수록 산소 소비가 증가하고 모든 호흡지표(아가미 환기, 호흡빈도증가, 호흡박출량)는 아가미를 통하여 비소의 섭취를 증가시킴으로써 비소의 흡수를 촉진시킬 수 있다. 그러므로 30℃구간에서 아가미와 간 내 축적이 가장 높게 나타난 것으로 사료된다. P. Pereira et al, (2010)의 계절 간 온도 차이에 따른 축적연구에서 고온상태에서의 Mn, Cr, Pb, Cd의 금속이 상대적으로 더 많은 농도로 축적된 것을 알 수 있으며 이와 같은 결과는 V.K. Mubiana and R. Blust. (2007)에서도 보고되어 있다. 그러나 Cd에 노출시킨 oyster의 간과 아가미 내 축적은 온도가 증가함에 따라 비례적으로 증가하였으나(A.S. Cherkasov et al., 2007), Lannig et al. (2006)의 연구에서는 이와 반대로 Cd에 노출시킨 oyster와 다른 bivalve의 경우 온도와 축적은 크게 관계가 없다고 나타났다. 온도와 축적에 관한 연구 시 이러한 관계를 확립은 time-dependent와 높은 중금속 농도에의 노출 후에 가능하며, 또한 organ-specific와 실험 시 설정한 온도의 범위에 따라서 달라질 수 있다(A.S. Cherkasov et al., 2007; C.M. Liao et al., 2005). 본 연구에서는 조직간 축적의 차이를 관찰한 결과 간보다 아가미에 더 많은 양의

비소가 축적되었다. 아가미 내 높은 As 축적은 물과의 지속적인 접촉과 호흡, 배출 그리고 삼투조절을 하는 역할과 연관이 있을 것으로 생각된다(Oladimeji et al., 1984). 또한 아가미에서 간으로 비소가 수송되므로 상대적으로 아가미에 더 높은 농도의 비소가 축적될 수 있다(J. Cairns JR et al., 1975). 수계의 높은 농도의 금속에 노출된 어류의 아가미에서 다른 조직보다 더 높은 축적을 보인다는 연구 결과도 보고되어있다(Reynders et al., 2008). 이전 연구에서도 7일 동안 1ppm의 비소에 waterborne으로 노출시킨 틸라피아의 아가미에서 간보다 더 많은 양의 비소축적이 나타났다. 다양한 금속물질 중에 수은이 rainbow trout의 아가미에 결합하는 경우를 제외하고는 비소가 tilapia의 아가미에 가장 강한 결합력을 가진다는 보고가 있다(Tsai and Liao., 2005). 이와 같이 조직내 축적의 차이는 비소의 흡수, 분포, 생체 내 변환, 배출지수를 포함하는 해독, 대사기전에 따라 다양하게 나타날 수 있다(Soundararajan et al., 2009).

어떠한 환경적 방해인자는 스트레스의 잠재적인 요인으로 고려되며 이론적으로 plasma substrate 농도의 변화와 적혈구 지표의 변화로 감지할 수 있다. 어류에서 유기·무기효소의 활성과 농도를 포함하는 혈액학적 지표는 일반적으로 좋은 stress indicator이자 어류에서 다양한 요인으로 영향을 받는다(Kang J.C. and Min E.Y., 2008). 어류에서 높은 농도의 비소는 혈액학적 지표를 변화시킬 수 있으며, 이는 어체의 발달을 저지한다(Ishaque et al., 2004). 혈액학적 지표는 많은 어류에서 독성 물질에 노출되었을 때 생리학적 변화와 어체의 구조적·기능적인 상태를 측정하기 위하여 사용되었으며(Suvetha et al., 2010), Hb, RBC count와 Ht등이 다소 증가하는 경향이 관찰된다(Mattsson et al., 2001). RBC는 영양소, 산소, 노폐물과 carbonic acid

gas를 수송하고 배출하며 이는 빈혈과 혈액 생성기능을 판단하는데 좋은 지표이다.

본 연구에서 비소에 노출된 실험어의 헤마토크릿과 적혈구수는 노출 기간에 따라 증가하는 양상을 나타내었다. 그러나 헤모글로빈의 경우 20℃와 25℃노출시킨 어류에서 20일에 감소하였으나, 30℃구간에서는 증가하였다. Hematocrit은 유기 물질에 노출 후 감소하는 경향이 있으나 독성 금속 노출 후에는 증가하는 경향이 있다(Wilson and Taylor., 1993). 중금속 노출에 의한 혈액성상의 변화는 여러 논문에서 본 연구와 비슷한 결과를 나타낸다(A. Larsson et al., 1980; J. Drastichova et al., 2004; H.D. Smet and R. Blust., 2001; C.A. Oliverira R. et al., 2006; Heather B., 2006; G. Federici et al., 2007). 본 연구에서 hematocrit, RBC count와 hemoglobin의 변화는 비소가 아가미의 손상을 야기시켜 어류의 호흡 능력에 영향을 미친 것으로 생각된다. 어류의 아가미손상은 아가미 기능을 저해시키고 이로 인하여 가스 교환기작이 영향을 받아 혈액 내 산소 결핍을 유도하며, 이에 대한 red blood cell system에서의 compensatory response으로 부족한 산소를 전달하기 위해 혈액 내 산소전달 능력을 증가시킨 결과로 사료된다. 또한 비소는 스트레스의 반응으로 RBC의 swelling의 증가에 영향을 끼치며(Nemcsok and Boross., 1982), 이러한 원인도 헤마토크릿의 증가에 영향을 끼친 것으로 생각된다. 본 연구에서 보여진 비소에 의한 헤모글로빈의 변화는 증가와 감소 두 가지로 관찰되었다. 헤모글로빈의 증가는 arsenic에 의한 독성영향으로 변성된 헤모글로빈의 replacement와 조직에 산소를 공급하기 위하여 증가된 것으로 보인다. 반대로 헤모글로빈의 감소는 비소로 인한 haemopoietic processes의 장애로 나타날 수 있다. 헤모글로빈의 감소는 빈혈을 나

타내는 지표의 하나이다. 같은 중금속에 노출시킨 어류의 경우일지라도 혈액학적 지표는 노출 농도와 기간 그리고 어류의 적응 상태에 따라서 다르게 나타난다(H.D. Smet and R. Blust., 2001). 일반적으로 비소 독성은 많은 freshwater fish species에서 빈혈을 유도한다고 보고되어 있다(Oladimeji et al., 1984; Cockell et al., 1992). 만성적으로 비소에 노출 시 아가미 손상으로 적절한 산소 가스교환이 이루어지지 않아 hypoxia를 유도하며, hypoxia의 상황이 지속된다면 보상 기전 또한 영향을 받아 혈액 성상의 감소로 나타나 이차적인 반응으로 빈혈을 유도할 수 있다(Z.H. Li et al., 2011). 본 연구에서의 실험 결과를 근거로 비소노출기간이 길어지면 어체 내 빈혈이 유도될 수 있다고 사료된다.

비소에 노출시킨 실험어의 혈장 내 무기성분은 control group와 비교하여 10과 20일에 증가하는 경향을 보였다. 칼슘(calcium)과 마그네슘(magnesium)은 혈장 내 삼투압을 일정하게 유지시켜 주는 역할을 하는데, 비소의 노출 후 칼슘과 마그네슘 농도의 변화는 혈액 내 삼투압에 영향을 끼쳤다는 것을 추측할 수 있다.

본 실험에서 틸라피아의 혈액 내 총단백질(total protein)은 농도 간 차이는 보이지 않았으나 비소에 노출시킨 group의 경우 증가하였다. 혈중 단백질의 총량은 전반적인 건강상태의 지표로서, 총단백량이 정상치보다 낮거나 높은 경우에는 단백질 합성, 분해, 흡수에 이상이 있을 수 있다. A. Figueiredo et al. (2005)에서도 제초제에 노출시킨 tilapia 실험에서 단백질량의 증가가 관찰되었다. Z.H. Li et al. (2011)에서 혈장내 단백질의 증가는 아마도 스트레스 상황을 극복하기 위한 생리학적 적응을 나타낸다고 가정하였다. 혈액 내 글루코즈의 증가는 스트레스의 반응으로 인한 증상일 수 있으며, 순환하는 글루코즈의

양의 증가는 스트레스로 인한 카테콜라민이나 코르티스테로이드농도의 증가와 연관이 있다(Kang J.C. and Min E.Y., 2008). 또한, 스트레스를 극복하기 위하여 에너지 대사와 이동이 발생하는데 에너지 대사에 필요한 글루코스 공급을 위하여 혈중 내 글루코즈가 증가한다(Wendelaar bonga., 1997). 그리고 신장에서의 비소축적은 신장의 손상을 유도하며 이는 스트레스 환경에서 글루코즈 농도를 변화시킬 수 있다(S. Lavanya et al., 2011). 노출 기간이 길어질수록 plasma glucose의 감소는 비소로 인하여 저장된 탄수화물의 과도한 이용의 결과로 생각된다(Bhattacharya et al., 1987).

GOT와 GPT는 비소로 인한 간세포독성의 지표로 사용되어졌으며, 이러한 효소의 증가는 간 손상이나 상처의 결과로 볼 수 있다(Yang et al., 2003). 본 연구에서 혈액 내 GOT와 GPT는 10일과 20일에 꾸준히 증가하였다. 본 실험에서 간세포 내에 존재하는 효소의 혈액 내 증가는 비소 축적으로 인한 간 손상의 결과로 생각된다(S. Lavanya et al., 2011). 일반적으로 GOT가 더 많이 증가하지만 만성 간세포 손상의 경우에는 GPT가 더 높은 경우가 흔하다. GOT와 GPT효소의 증가 후 감소현상은 일반적으로 스트레스로 인한 반응으로 볼 수 있으며(Roy et al., 2005), 비소노출에 의한 간세포의 사멸을 유도하는 간의 생리병리학적인 상황을 반영한다(Limuro et al., 1998).

비소 노출에 의한 독성은 산화 스트레스를 유발하는 pro-oxidant와 antioxidant 항상성의 불균형과 연관이 있다(Shila et al., 2005). 중금속 노출을 포함한 여러 독성물질에 의한 free radical과 oxidative stress의 반응은 experimental rats와 freshwater teleost, *Oreochromis mossambicus*, tilapia와 goldfish(*Carassius auratus gibelio* Bloch)등에서 연구되어 졌다(Soundararajan et al., 2009). 여

러 연구에서 보여주듯이 arsenic compounds는 reactive oxygen species(ROS) 즉, superoxide anion radical, hydroxyl radical와 peroxy radical의 생성을 촉진함으로써 세포에 손상을 준다고 보고되어 있다(Burdon et al., 1987; Blair et al., 1990). Sakurai et al. (2005)와 Sculiga et al. (2002)에서 연구되었듯이 arsenic 노출 시 산화 스트레스에 대한 세포의 저항성은 GR와 GST와 같은 GSH-related enzymes의 활성의 변화와 GSH의 농도와 연관되어 있다. GSH는 환원제로서 비소의 생체 내 변화에 중요한 역할을 한다(J. Ventura-Lima et al., 2011). GSH level은 생물체내에서 중금속 노출 시 해독능력을 나타내는 중요한 지표이다. 항산화제이자 free radical scavenger인 GSH는 두가지 기전을 나타낸다. GST의 촉매 작용아래에 GSH는 친전자기성 중간물질과 결합하며 GSH를 산화시키는 과정을 통해서 직접적으로 free radicals와 반응한다(Y. Sun et al., 2008). 이와 같이 GSH는 redox reaction을 유지하고 ROS와 외인성 물질을 방어하는데 중요한 역할을 한다(White et al., 2003).

본 연구에서 10일에 간과 아가미 내 GSH함량의 변화는 관찰되지 않았으나 20일에 모든 온도구간에서 상당한 양의 GSH감소를 보였다. 이는 20일에 비소의 독성이 증가된 것으로 해석되며 비소에 의한 일반적인 oxidative stress 대사기전의 변화가능성을 나타낸다. 오염원에 노출 시 어류에서 GSH의 감소가 보고되어 있으며(Afonso et al., 1996; Yuanyuan S. et al., 2005; Federici et al., 2007) 비필수금속에 노출 시에도 GSH농도의 감소가 보고된 바 있다(Stohs and Bagchi., 1995; Valko et al., 2005). 만성 노출과 높은 농도의 비소에 급성 노출 시 일반적으로 GSH양의 감소를 유도한다(Bhattacharya A. and Bhattacharya S., 2007). 급성 노출 시 GSH가 증가한 보고도 있으며

이는 화학물질로 인하여 생성된 활성산소 종을 제거하기 위하여 충분한 양의 GSH생성을 촉진한 결과로 생각된다. 오랜 노출기간 동안 독성물질은 다양한 조직에 축적될 수 있으며 이는 효소 활성의 변화를 유도할 수 있다(S. Lavanya et al., 2011). 외인성 물질의 만성 노출기간이 길어지면 심한 스트레스 반응으로 adaptive mechanism이 무너져 여체 내에서 사용되는 GSH양과 GSH생성의 불균형이 발생하고 이로 인하여 GSH함량이 감소될 수 있다(Kang J.C. et al., 2010). 또한 비소에 장기간 노출 시 산소섭취를 감소시켜 ATP생성기전에 손상을 준다. 이는 GSH의 합성을 저해시키고 산화 손상을 촉진시켜 GSH활성을 감소시킬 수 있다(M. Soundararajan., 2009). 감소된 GSH는 장기간 노출 시 많은 양의 oxyradical의 생성과 free radicals를 제거하는 능력을 저하시키며 oxidative stress-related damage를 유도한다(Elia et al., 2003;P. Kabitha and J. Venkateswara R., 2009). GSH system은 oxidative damage를 방어하는 redox cycling을 유도한다. 그러나 비소에 장기간 노출 시 redox cycling을 유도하는 cell signaling을 저해시키며 redox status에 영향을 끼쳐 세포 기능의 변화를 가져온다. 또한, 조직 내 necrosis와 apoptosis에 의한 세포사를 유도한다(Ramos et al., 1995;Skurai et al., 2004).

본 연구에서 GSH함량의 감소는 여체 내 증가된 비소와의 결합과 비소 축적으로 인한 심한 산화스트레스를 줄이기 위하여 저장했던 GSH가 소진된 것으로 보인다. GSH농도는 조직 내에 증가한 비소와 GSH결합으로 인하여 변화할 수 있다(Y. Sun et al., 2008). 또한, 만성적인 비소 노출로 redox cycling의 방어 작용이 붕괴되어 사용되는 GSH양과 GSH생성의 불균형이 나타나 GSH농도가 감소된 것으로 사료된다. Allen et al. (2004)은 장기간 비소에 노출되는 동안 감소된

glutathione은 적응 기전의 특징을 드러내는 것이라고 나타냈으나, Y. Sun et al. (2008)에서는 GSH의 감소가 스트레스반응에 의한 적응 기전의 소실로 보고하였다. 본 연구에서는 GSH와 GSH-related enzymes의 변화로 미루어 보아 비소로 인한 방어 작용의 붕괴로 생각되어 진다. 이는 본 실험에서 연구된 GPx와 GR의 활성 감소로 뒷받침될 수 있다. GSH는 GPx 효소 활성의 기질로 작용하며 낮은 GSH양은 GPx효소의 활성에 영향을 준다는 연구가 보고되었다(C.B.G. Ruas et al., 2008). 또한, GSH의 합성 역할을 하는 GR의 활성감소는 GSH 감소의 원인이 될 수 있다(G. Atli and M. Canli., 2010). 또한, 같은 시기에 감소된 세포내 GSH의 농도와 GR활성은 산화불균형과 산화과정을 유도할 수 있다(P. Kavitha and J. Venkateswara R., 2009). 본 연구에서 연구된 glutathione reductase(GR)은 스트레스 환경 내에서 세포내 GSH/GSSG 항상성을 유지하기 위하여 GSSG를 환원시키는 중요한 역할을 한다.

Glutathione peroxidase는 H_2O_2 를 분해하여 H_2O 와 O_2 로 만든다. GPx가 활성을 발현하기 위해서는 GSH가 필요하다. GSH는 GPx가 과산화수소를 분해하는 과정에서 GSSG로 변화되었다가 GR에 의해서 다시 환원되어 GSH로 만들어지는 cycle을 이룬다(J.S. Lee et al., 2008). 본 실험에서 간 내 GR활성은 $20^{\circ}C$ 를 제외한 모든 온도 구간에서 10일과 20일에 감소하였으며 아가미 내에서도 10일에 유의적으로 감소하였다. GPx의 활성 또한 GR과 비슷한 양상을 보였다. GPx는 간 내에서 10일부터 감소하였으며 아가미 내에서도 10일과 20일에 감소하였다.

비소는 항산화 방어효소인 GR와 GPx그리고 GST의 활성의 감소를 유도하며, 이는 노출 양과 시간 그리고 조직에 따라 다르게 나타난다

(Maiti S. and Chatterjee A. K., 2000). Arsenite는 sulfhydryl groups 과 반응하여 단백질의 구조적 변형을 유도하고(Wang et al., 2004) 이것은 많은 효소를 불활성시킨다(Akter et al., 2005). 또한, 비소의 축적과 산화스트레스가 증가할수록 항산화 효소 활성은 감소할 수 있다(A.A. Rageb R and B. Matkovics., 1988;J. Ventura- Lima et al., 2007). 저농도의 비소에 *Clarias batrachus*를 노출 시 GR활성이 감소되었으며(Battacharya A. and S. Blattacharya., 2007), 오수에서 포획한 틸라피아의 간과 아가미에서 상당한 양의 GR활성의 감소가 보고되었다(Afonso et al., 1996). 또한, cadmium에 만성노출 시킨 틸라피아에서도 같은 경향이 보고되었다(X. Zirong and B. Shijun., 2007). 오염물질에 노출된 어류에서 GPx 활성이 낮아지는 현상은 여러 연구에서 보고되었으며 특히, Ahmad et al. (2004)은 뱀장어 *Anguilla anguilla* L.이 오염물질에 단기간 노출되었을 때 GPx활성이 증가하였지만 장기간 노출되면 GPx활성이 감소했다고 보고하였다. 급성 노출 시에는 GR과 GPx활성의 증가를 관찰 할 수 있으며, 이는 노출된 어류가 화학적인 스트레스 요인에 대한 방어 작용을 하고 있다는 것을 의미한다. GSH level, GR 그리고 GPx의 증가는 상호작용하여 산화스트레스로부터 보호한다. 하지만 본 연구에서 나타난 GSH level, GR 그리고 GPx활성의 감소는 compensatory enzyme 유도가 일어나지 않아 산화스트레스로부터 어체내를 보호할 수 없는 상황 즉, 어체내 항상성의 소실을 의미할 수 있다. GSH농도의 변화는 20℃와 25℃ 구간 보다 30℃구간에서 가장 크게 나타났다. 또한, GR과 GPx활성의 변화도 GSH와 같은 양상을 보였다. 상대적으로 수온이 증가하면 호흡 빈도가 증가하고 이로 인하여 비소 흡수를 가속화 시킬 수 있다. Copper의 경우 저온(20℃)보다 고온(30℃)에서 증가된 산소 소비로

인하여 독성이 증가하였다는 연구가 보고된 바 있으며(C.S. Carvalho and M.N. Fernades., 2005), 온도와 비소농도가 증가할수록 폐사율이 증가하였다는 연구도 보고되어있다(Bryant V. et al., 1985). 본 연구에서 나타난 GSH농도와 GR과 GPx활성의 변화는 온도와 비소축적과 연관성이 있을 것으로 사료되며, 비소독성과 온도와의 관계에 대해서 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

GST는 multifunctional molecules이며, phase II xenobiotic metabolizing enzyme이다. 금속과 GSH의 결합을 촉매시키는 역할을 함으로써 세포를 보호한다(Townsend and Tew., 2003;Pellerin M., 1994). J. Ventura-Lima et al. (2009b)의 연구에서 비소에 노출된 common carp(*Cyprinus carpio*)에서 조직간 다른 항산화제에 변화를 나타내었다. 본 연구에서의 GST변화는 간과 아가미 내에서 다른 경향을 보였다. 간에서는 10일과 20일에 꾸준히 감소하는 경향을 나타냈으며, 아가미에서는 모든 온도구간에서 10일과 20일에 증가하였다. 이는 비소 독성으로부터 조직을 보호하기 위한 각 항산화제 전략으로 인한 것으로 보이며(J. Ventura-Lima et al., 2011), 아가미보다 간이 oxidative damage에 민감한 기관으로 사료된다. A. Figueiredo et al. (2005)의 연구에서 paraquat에 노출시킨 tilapia의 간 내 GST감소가 관찰되었으며 Y. Sun et al. (2005)에서도 같은 결과가 보고되었다.

GST의 조절은 독성 물질에 대한 감수성에 현저하게 영향을 준다(Eaton et al., 1994;Hayes et al., 1996;Hayes et al., 1993). GST는 많은 어종에서 외인성화합물에 노출되었을 때 증가할 수 있으며 이는 화학적 스트레스에 대한 적응 반응으로 볼 수 있다(Hayes and Pulford., 1995). 그러나 GST의 활성감소는 오염물질에 의한 활성산소종 증가의 결과로 볼 수 있으며, 산화 스트레스의 정도가 심하지 않

을 경우에는 보상기전으로 인하여 항산화제가 방어 작용으로써 효소를 유도하지만, 노출 기간이 늘어날수록 심각한 oxidative stress는 산화 손상과 보상 반응의 loss로 인하여 효소의 활성이 억제될 수 있다(Y. Sun et al., 2005; Livingstone., 2001). 축적과 항산화효소 특히, GST와의 연관성에 대한 논문은 많이 보고되어 있으며(J. Ventura-Lima et al., 2009a; J. Ventura-Lima et al., 2009b; Sanchez et al., 2005), 금속에 노출된 organism에서 GSH함량의 감소는 다양한 GST활성의 변화를 수반한다(G. Atli and M. Canli., 2010). 이와 같이 GSH와 GST의 상호관계에 관한 연구는 많이 이루어져있다(Y. Sun et al., 2008). O.V. Lushchak et al. (2009)의 연구에서 chromium에 노출시킨 goldfish에서 GSH 함량과 GST의 감소가 관찰되었으며, 카드뮴에 노출시킨 틸라피아의 간 내 GSH와 GST의 감소도 보고되어 있다(X. Zirong and B. Shinjun., 2007). 또한, Regoli et al. (1998)의 연구에서도 GSH함량과 GST활성의 감소가 관찰되었다. 그러나 mercury와 copper에 노출된 mussel에서 GSH농도의 감소와 GST의 활성이 증가된 보고가 있으며(Canesi et al., 1999), P. Kavitha and J.V. Rao. (2009)에서도 틸라피아의 아가미 내 GSH의 감소와 GST효소 활성의 증가가 관찰되었다.

본 연구에서 비소는 어류의 hematological, biochemical와 enzymological profile에 깊은 영향을 끼친다는 것을 알 수 있다. 또한, 비소는 산화스트레스를 유도하고 이는 조직에 따라 다른 양상으로 나타난다. 본 연구로 온도에 따른 축적의 농도와 항산화계의 변화를 살펴보았으며 이는 비소에 노출된 어류의 산화스트레스를 판단 가능했다. 또한 생물학적 지표는 field에서 환경적인 모니터링 시 담수 어종의 비소독성의 잠재적인 biomarker로서의 사용이 가능하다고 사

료된다. 또한, GSH와 GR, GPx 그리고 GST의 상호관계에 관한 연구는 많이 이루어져 있으나 보다 확실한 상호작용의 기전의 정립을 위해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.



V. 요약

비소는 다양한 형태의 화합물로 환경 중에 널리 분포하는 금속물질로 강한 독성을 가지고 있는 주요 환경오염물질이다.

비소는 모든 freshwater에 존재하기 쉬운 금속이며 인간과 동물에 유해한 영향을 끼친다. freshwater fish에 온도와 비소가 미치는 산화스트레스의 반응을 조사하기 위하여 비소에 20일 동안 20°C, 25°C 그리고 30°C에 노출시킨 틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 혈액학적 성상 및 간과 아가미의 항산화 효소의 변화와 축적을 분석하였다. 비소는 어류의 여러 조직에 축적되며 이는 단백질의 sulfhydryl group와 상호작용하며 독성영향을 나타낸다. 모든 구간에서 간과 아가미의 비소축적의 증가를 보였으며 온도가 증가할수록 더 많은 양의 비소축적을 나타냈다.

혈중 내 적혈구수와 헤마토크릿수는 전체적으로 증가하였으며, 헤모글로빈은 30°C를 제외한 모든 온도에서 감소를 보였다. 혈청 내 무기성분은 전체적으로 유의하게 증가하는 양상을 보였으며, 혈청 내 총 단백질량과 글루코즈의 변화도 관찰되었다.

그리고 혈청 내 효소성분인 GOT와 GPT는 모든 농도와 온도구간에 서 증가하였으며 이는 비소가 중요한 해독기간인 간에 심각한 손상을 주었음을 유추할 수 있다.

간과 아가미에서의 항산화작용을 하는 GSH, GPx, GR의 활성은 유의하게 감소하였으며, GST는 간에서는 유의하게 감소하였으나 아가미에서 증가하였다.

VI. 감사의 글

별써 2년간의 석사 과정을 끝내고 논문을 마무리하면서 석사 과정에 도움을 주신 여러분들께 감사의 마음을 전합니다. 2년 동안 논문을 지도해주시고 부족한 저를 잘 이끌어 주신 지도교수님인 강주찬 교수님께 감사를 드리며, 논문이 나오기까지 교정 및 심사를 하시느라 고생하신 정준기 교수님, 허민도 교수님께도 감사하다는 말씀을 전하고 싶습니다. 그리고 학교생활동안 저에게 많은 학문을 가르쳐 주신 박수일 교수님과 김기홍 교수님께도 진심으로 감사의 말씀을 드립니다.

2년이라는 시간 동안 힘들고 지쳤을 때 언제나 저를 격려해주고 도와준 수권 환경학 실험실원들에게 진심으로 감사를 드립니다. 제가 처음 실험실 생활을 시작할 때 실험실에 잘 적응하도록 도와주고 고민을 잘 들어주는 이쁜 후배 수경이와 실험 때 힘들 때 마다 절 도와주고 나의 푸념도 잘 들어주는 귀여운 후배 태영이, 그리고 제가 귀찮게 실험을 물어볼 때 마다 친절하게 가르쳐 주신 영주 선배와 회주 선배, 실험실에서 하나밖에 없는 동기 동재, 지금은 휴학 중이지만 실험실에서 언제나 웃음을 주는 민영이, 믿음직한 학과회장 형준이, 저를 도와준 용석 선배, 그리고 다시 공부하기 위해서 돌아온 민수에게 진심으로 감사한 마음을 전합니다. 저와 같이 석사 생활을 한 예방방의 효진이, 언제나 힘들 때 마다 저를 위로해주고 정신적으로 많은 도움을 준 친구에게 고맙다는 말을 전하고 싶습니다. 또한, 논문 쓸 때 저에게 도움을 준 졸업 동기 기택이와 다른 실험실 선배들께도 감사하다는 마음을 전합니다. 제가 어렵고 힘들어 할 때 마다 언제나 저를 즐겁게 해주고 위로해주고 투정을 받아주고 게을러질 때는 충고까지 서슴없이 하는 항상 밝은 쾌활한 내 친구들, 지예, 지혜, 혜진이, 은혜 그리고 미주양께도 고맙다는 말을 전합니다(늘푸른가인^^vㅎㅎ).

마지막으로 저를 항상 믿어주시고 공부할 수 있게 도와주시며 저를 사랑해주는 제가 켈 사랑하는 부모님께 진심으로 감사하다는 말을 전하고 싶습니다. 또한, 매일 까칠한(?)동생 투정받아주는 존경하는 우리 언니와 믿음직한 제 동생 우석이에게도 고맙다는 말 전하며 이 논문을 바칩니다.

VII. 참고문헌

- Afonso C.D., B Erika S., Paulo S., M Carvalho, Virginia B.C.J. 1996. Oxidative stress in gill, erythrocyte, liver and kidney of Nile tilapia(*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aqua. Toxicol.* 34, 151-162.
- A. Firueiredo-F., A. Fontainhas-F., F. Peixoto., E. Rocha M.A. Reis-H. 2006. Effects of gender and temperature on oxidative stress enzymes in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to paraquat. *biochem. physiol.* 85, 97-103.
- Ahmad I.M.P and M. A 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.
- Akter K.F., Owens G., Davey D.E., Naidu R. 2005. Arsenic speciation and toxicity in biological systems. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 184, 97-149.
- Allen T., Singhal R., Rana S.V. 2004. Resistance to Oxidative Stress in a Freshwater Fish *Channa punctatus* After Exposure to Inorganic Arsenic. *Biol. Stress. Elem. Res.* 98, 63 - 72.
- A. Larsson., K.J. Lehtinen., C. Haux. 1980. Biochemical and hematological effects of a titanium dioxide industrial effluent on fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25, 427-435.
- ATSDR. 2002. Interaction Profiles for Toxic Substances. Agency

for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta,
GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
<http://www.atsdr.cdc.gov/iphome.html>.

- B. Fernandez., J.A. Campillo., C. Martinez-G., J. Benidicto. 2010. Antioxidant response in gills of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) as biomarkers of environmental stress along the Spanish Mediterranean coast. *Aqua. Toxicol.* 99, 186-197.
- Bhattacharya T., Ray A.K., Bhattacharya S. 1987. Blood glucose and hepatic glycogen. Interrelationship in *Channa punctatus* (Bloch). A parameter of non-lethal toxicity bioassay with industrial pollutants. *Indian J. Exp. Biol.* 25, 539-541.
- Bhattacharya A. and S. Battacharya. 2007. Induction of oxidative stress by As in *Clarias batrachus*: involvement of peroxisomes, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66, 178-187.
- Blair P.C., Thompson, M. B., Bechtold M., Wilson R. E., Moorman M.P., Fowler B.A. 1990. Evidence for oxidative damage to red blood cells in mice induced by arsine gas. *Toxicology.* 63, 25-34.
- Burdon R. H., Gill V.M., Rice-Evan C. 1987. Oxidative stress and heat shock protein induction in human cells. *Free Radical Research Communications* 3, 129-139.
- Bryant V., Newbery D.M., Mclusky D.S., Campbell R. 1985. Effect of temperature and salinity on the toxicity of arsenic to three estuarine invertebrates (*Corophium volutator*, *Mcomba balthica*,

- Tubifex costatus*). Mar. Ecol. 24, 129-137.
- C.A. Oliverira R., F.F. Neto., M. Mela., P.H. Silva., M.A.F. Randi., I.S. Rabitto., S.R.M. Alves Costa., E. Pelletier. 2006. Hematological findings in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead, and tributyltin chloride. Environ. Research. 101, 74-80.
- C.B.G Ruas., C.S. Carvalho., H.D.D Araujo., E.L.G Espindola., M.N Fernandes. 2008. Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species from a metal-contaminated river. Ecotoxicol. Environ. Saf. 71, 86-93.
- Chang Y.J., Hur J.W., Lim H.K., Lee, J.K. 2001. Stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) and fat cod (*Hexagrammos otakii*) by the sudden drop and rise of water temperature. J. Korean.
- Chappell W.L., Abernathy C.O., Calderon R.L. (Eds.). 1995. Arsenic Exposure and Health Effects IV. Elsevier Science, London, 323 - 337.
- C.M. Liao., H.M. Liang., B.C. Chen., S. Singh., J.W. Tsai., Y.H. Chou., W.T. Lin. 2005. Dynamical coupling of PBPK/PD and AUC-based toxicity models for arsenic in tilapia *Oreochromis mossambicus* from blackfoot disease area in Taiwan. Environ. Pollut. 135, 221-233.
- Cockell K.A., Hilton J.W., Bettger W.J. 1991. Chronic toxicity of dietary disodium arsenate heptahydrate to juvenile rainbow

- trout (*Oncorhynchus mykiss*) Arch. Environ. Contam. Toxicol. 21(4), 518–527.
- Cockell K.A., Hilton J.W., Bettger W.J. 1992. Hepatobiliary and hematological effects of dietary di sodium arsenate heptahydrate in juvenile rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*). Comp. Biochem. Physiol. C 103, 453–458.
- C.S. Carvalho., M.N. Fernades. 2005. Effects of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. Aquaculture. 251, 109–117.
- Doyotte A., Cossu C., Jacquin M.C., Babut M., Vasseur P. 1997. Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*. Aquat. Toxicol. 39, 93–110.
- Eaton D.L and Gallagher E.P.1994.. Mechanisms of Aflatoxin Carcinogenesis. Pharmacol. Toxicol. 34, 135–172.
- Eisler R. 1988. Arsenic hazards to fish, wild life and invertebrates:a synoptic review. U.S. Fish. Wildl. Serv. Biol. 85, 1–12.
- Elia A.C., Galarini R., Taticchi M.I., Dorr A.J.M., Mantilacci L. 2003. Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. Eco toxicol. Environ. Saf. 55, 162–167.
- E. O. Ngo., L.M. Nutter. 1994. Status of glutathione and glutathione-metabolizing enzymes in menadione-resistant

- human cancer cells. *Biochem. Pharm.* 47, 421-424.
- Francesco R., Giovanni P. 1995. Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquat. Toxicol.*, 31, 143-164.
- G. Atli and M. Canli. 2010. Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal(Cd, Cu, Cr, Zn, Fe)exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73, 1884-1889.
- G. Federici., Benjamin J.S., Richard D.H. 2007. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*):Gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aqua. Toxicol.* 84, 415-430.
- Geoffroy L., Frankart C., Eullaffroy P. 2004. Comparison of different physiological parameter responses in *Lemna minor* and *Scenedesmus obliquus* exposed to herbicide flumioxazin. *Environ. Pollut.* 131, 233 - 241.
- Grisham, J.W., Brenner, D.A.. 1998. NF κ B prevents apoptosis and liver dysfunction during liver regeneration. *J. Clin. Invest.* 101, 802 - 811.
- Hall, L.W. Jr, Burton D.T. 1982. Effect of power plant coal pile and coal waste runoff and leachate on aquatic biota: an overview with research recommendations. Boca Raton, FL:CRC Press. 287-297.

- Hayes, J. D., Judah, D. J., Neal, G. E. 1993. Resistance to Aflatoxin B1 Is Associated with the Expression of a Novel Aldo-Keto Reductase Which Has Catalytic Activity towards a Cytotoxic Aldehyde-containing Metabolite of the Toxin Cancer Res. 53, 3887-3894.
- Hayes J. D., Pulford D.J. 1995. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 30, 445-600.
- Hayes, J. D., Pulford, D. J. 1996 .Regulation and activity of glutathione S-transferases. Biochem. Mol. Biol., 30, 445-600.
- H.D. Smet and R. Blust. 2001. Stress Responses and Changes in Protein Metabolism in Carp *Cyprinus carpio* during Cadmium Exposure. Ecotoxicol. Environ. Saf. 48, 255-262.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 1989. Free Radicals in Biology and Medicine(2), 543.
- Heath A.G. 1987. Water pollution and Fish Physiology. CRC Press, 245.
- Heather B., Jeff G. R., Patricia M. S. 2005. Arsenic exposure alters hepatic arsenic species composition and stress-mediated gene expression in the common killifish(*Fundulus heteroclitus*). Aquat. Toxicol. 77, 257-266.
- Ishaque A.B., Tchounwou P.B., Wilson B.A., Washington T. 2004. Developmental arrest in Japanese medaka(*Oryzias latipes*) embryos exposed to sublethal concentrations of atrazine and

- arsenic trioxide. J. Environ. Biol. 25, 1-6.
- J. Carins JR., A.G. Heath., B.C. Parker. 1975. The effects of temperature upon the toxicity of chemicals to aquatic organisms. Hydrobiologia. 47(1). 135-171.
- J. Drastichova, Z. Svobodova., V. Luskova., J. Machova. 2004. Effects of Cadmium on Hematological Indices of Common Carp (Cyprinus carpio L.)
- J.H. Doroshov. 1995. Glutathione peroxidase and oxidative stress. Toxicol. Lett. 83. 395-398.
- J. Ventura-Lima., Castro M.R., Acosta D., Fattorini D., Regoli F., Carvalho L.M., Bohrer D., Geracitano L.A., Barros D.M., Silva R.S., Bonan C.D.,Bogo,M.R., Monserrat Pi. J., Qu W., Reece J.M., Kumagai Y., Waalkes M.P., 2003. Transcription factor Nrf2 activation by inorganic arsenic in cultured keratinocytes: involvement of hydrogen peroxide. Exp. Cell Res. 290, 234 - 245.
- J. Ventura-Lima., Sandrini J.Z., Ferreira-Cravo M., Piedras F.R., Moraes T.B., Fattorini D., Notti A., Regoli F., Geracitano L.A., Marins L.F., Monserrat J.M. 2007. Toxicological responses in *Laeonereis acuta* (Annelida, Polychaeta) after arsenic exposure. Environ. Int. 33, 559 - 564.
- J. Ventura-Lima., D. Fattorini, F. Regoli., José M. Monserrat. 2009a. Effects of different inorganic arsenic species in *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) tissues after short-time exposure: Bioaccumulation, biotransformation and biological

- responses. Environ. pollut. 159, 3479-3484.
- J. Ventura-Lima., M.R. Castroa., D. Acosta., D. Fattorini., F. Regoli., L. M. Carvalho., D. Bohrer., L. A. Geracitano., D. M. Barrosa., Luis F., F. Marinsa., R. S. Silva., C. D. Bonane., M.R. Bogoe., José M. M. 2009b. Effects of arsenic(As) exposure on the antioxidant status of gills of the zebrafish *Danio rerio* (Cyprinidae). Comp. Biochem. Physiol. 149C, 538 - 543.
- J. Ventura-Lima et al. 2011. Accumulation, biotransformation, and biochemical responses after exposure to arsenite and arsenate in the estuarine polychaete *Laeonereis acuta* (Nereididae). Ecotoxicol. Environ. Saf. 74, 211 - 218.
- J.W. Tsai and C.M. Liao. 2005. A Dose-Based Modeling Approach for Accumulation and Toxicity of Arsenic in Tilapia *Oreochromis mossambicus*. Environ. Toxicol.. 21, 8-21.
- Karagaw M.R., Stukel T.A., Tosteson T.D. 2002. Assessment of cancer risk and environmental levels of arsenic in New Hampshire. Environ. Health 205, 85-94.
- Kang J.C., Hoon J.H., Koo J.G., Keum Y.H., Jo S.G., Park K.H. 2010. Anti-oxidative status and hepatic enzymes following acute administration of diethyl phthalate in olive flounder *Paralichthys olivaceus*, a marine culture fish. Ecotoxicol. Environ. Safe. 73, 1449-1455.
- K.D. Teur. 1994. Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance. Cancer Res. 54, 4313-4320.

- Kobayashi Y., X. Cui., S. Hirano. 2005. Stability of As metabolites As triglutathione(As(GS)3) and methyl As diglutathione (CH3As(GS)2), in rat bile, Toxicol. 211, 115-123.
- K. Mekhail-Ishak, N. Hudson, M.S. Tsao. 1989. Implications for therapy of drug metabolizing enzymes in human colon cancer, Cancer Res. 49, 4866-4869.
- Larsen, E.H., Fransesconi, K.A. 2003. Arsenic concentrations correlate with salinity for fish taken from the North Sea and Baltic Waters. J. Mar. Biol. 83, 283-284.
- Lannig G., Flores J.F., Sokolova I.M., 2006. Temperature-dependent stress response in oysters, *Crassostrea virginica*: pollution reduces temperature tolerance in oysters. Aqua. Toxicol. 79, 278-287.
- Liao C.N., Chen B.C., Singh S., Lin M.C., Liu C.W., Han B.C. 2003. Acute toxicity and bioaccumulation of arsenic in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) from an blackfoot disease area in Taiwan. Environ. Toxicol. 18, 252-259.
- Livingstone, D.R., Archibald, S., Chipman, K.L. 1992. Antioxidant enzymes in liver of dab *Limanda* from the North Sea. Mar. Ecol. 91, 97-104.
- Livingstone D.R. 1998. The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. Comp. Biochem. Physiol. A, 120, 42-49.
- Livingstone D. R. 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen

- species production and oxidative damage in aquatic organism. Mar. Pollut. Bull. 42, 656-666.
- Limuro Y., Nishiura T., Hellerbrand C., Behrns K.E., Schoonhoven R., Grisham J.W., Brenner D.A. 1998. NF κ B prevents apoptosis and liver dysfunction during liver regeneration. J. Clin. Invest. 101, 802-811.
- Linde A.R., Sanchez-Galan S., Izquierdo J.I., Arribas P., Maranon E., Garcia- Vazquez E. 1998. Brown trout as biomonitor of heavy metal pollution: effect of age on the reliability of the assessment. Ecotoxicol. Environ. Saf. 40, 120 - 125.
- Mattsson K., Lehtinen K. J., Tana J. 2001. Effect of pulpmill effluents and restricted diet on growth and phygiology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Exotoxicol. Environ. Saf. 49, 144-154.
- Maiti S and Chatterjee A. K. 2000. Differential response of cellular antioxidant mechanism of liver and kidney to arsenic exposure and its relation to dietary protein deficiency. Environ. Toxicol. Pharmacol. 8, 227-235
- M. Soundararajan., G. Veerayan., S. Sankar S. 2009. Arsenic-induced oxidative stress in freshwater catfish. *Channa punctatus*. J. Phytol Sec. Gen. Sci. 267-276.
- Meister A. 1989. On the biochemistry of glutathione. In: Glutathione Centennial. Molecular Perspectives and Clinical Implications. Academic Press. 3-22.
- Mukherjee A., Sengupta M.K., Hossain M.A. Ahamed S., Das,B.,

- Nayak B., Lodh D., Rahman M.M., Chakraborti D. 2006. Arsenic contamination in groundwater: a global perspective with emphasis on the Asian scenario. *Health Popul. Nutr.* 24, 142-163.
- N. Avissar., J.C. Whitin., P.Z. Allen. 1989. Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase: cell of origin and secretion. *Biol. Chem.* 264, 15850-15855.
- Nemcsok J., Boross L. 1982. Comparative studies on the sensitivity of different fish species to metal pollution. *Acta Biol. Hung.* 33, 23-27.
- Oladimeji A.A., Quadri S.U., Defeitas A.S.W. 1984. Long-term effects of arsenic accumulation in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 32, 732-741.
- Oladimeji A.A., Quadri S.U., deFreitas A.S.W. 1984. Measuring the elimination of arsenic by the gills of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by using a two compartment respirometer. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 32, 661 - 668.
- Oladimeji A.A. 1985. An arsenic-binding protein in rainbow trout. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 9, 1-5.
- O.V. Lushchak., O.I. Kubrak., O.V. Lozinsky., J.M. Storey., K.B. Storey., V.I. Lushchak. 2009. Chromium(III) induces oxidative in goldfish liver and kidney. *Aqua. Toxicol.* 93, 45-52.
- Philips D.W.H. 1994. The chemical forms of arsenic in aquatic organisms and their interrelationships. *Arsenic in the Environment. Part I. Cycling and Characteristics.* 263-288.

- Pellerin M. 1994. Oxidative processes as indicators for chemical stress in marine bivalves. *J. Aqua. Ecosyst. Health.* 3, 101-111.
- P. Kabitha and J. Venkateswara. R. 2009. Sub-lethal effects of profenofos on tissue-specific antioxidative responses in a Euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 1727-1733.
- P. Pereira., H. Pablo., M. Pacheco., C. Vale. 2010. The relevance of temporal and organ specific factors on metals accumulation and biochemical effects in feral fish (*Liza aurata*) under a moderate contamination scenario. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73, 805-816.
- Ramos O., Carrizales L., Yanez L., Mejia J., Batres L., Ortiz D., Diaz-Barriga, F. 1995. *Environ. Health Perspect.* 103, 85-88.
- Reynders H., Bervoets L., Gelders M., De Coen W.M., Blust R. 2008. Accumulation and effects of metals in caged carp and resident roach along a metal pollution gradient. *Sci. Total Environ.* 391, 82 - 95.
- Ria M.E Vos., Peter J., Van Bladeren. 1990. Glutathione S-transferases in relation to their role in the biotransformation of xenobiotics. *Chemico-Biological Interactions*, 75, 241-265.
- Riemer K.J., Koch I., Ollson C.A., Cullen W.R., Granchinho S., Andrews P., Jamieson H., Walker S.R. 2002. Arsenic Report #72. *Environ. sci.*
- Regoli F., Nigro M., Orlando E. 1998. Lysosomal and antioxidant

- responses to metals in the Antarctic scallop *Adanussium colbecki*. Aqua. Toxicol. 40, 375-392.
- Roy S., Bhattacharya S. 2006. Arsenic-induced histopathology and synthesis of stress proteins in liver and kidney of *Channa punctatus*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 65, 218 - 229.
- Rodriguez-Ariza A., J. Peinado, C. Peuyo and J. Lopez-Barea. 1993. Biochemical indicators of oxidative stress in fish from polluted littoral areas. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 50, 2568-2573.
- Sakurai T., Ochiai M., Kojima C., Ohta T., Sakurai M.H., Takada N.O., Qu W., Wallkes M.P., Himeno S., Fujiwara K. 2005. Preventive mechanism of cellular glutathione in monomethylarsonic acid-induced cytolethality. Toxicol. Appl. Pharmacol. 206, 54 - 65.
- Sakurai T., Kojima C., Ochiai M., Ohta T., Sakurai M.H., Waalkes M.P., Fujiwara K., 2004. Cellular glutathione prevents cytolethality of monomethylarsonic acid. Toxicol. Appl. Pharmacol. 195, 129 - 141.
- Sanchez W., Palluel O., Meunier L., Couquery M., Porcher J.M., Ait-Aissa S. 2005. Copper-induced oxidative stress in three-spined stickleback: relationship with hepatic metal levels. Environ. Toxicol. Pharmacol. 19, 177-183.
- Schuliga M., Chouchane S., Snow E.T. 2002. Up-regulation of glutathione-related genes and enzyme activities in cultured human cells by sub-lethal concentrations of inorganic arsenic. Toxicol. Sci. 70, 183 - 192.

- Seelig G., Meister A. 1985. Glutathione biosynthesis; gamma-glutamylcysteine synthetase from rat kidney. *Methods. Enzymol.* 113, 379-390.
- Smet H.D. and Blust R. 2001. Stress responses and changes in protein metabolism in carp, *Cyprinus carpio* during cadmium exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 48, 255-262.
- Sorenson E.M., Henry R.E., Ramirez-Mitchell R. 1979. Time-dependent localization of arsenic in subcellular liver fractions. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 21, 162-169.
- Sorensen, E.M.B. 1991. Arsenic, Metal Poisoning in Fish. 61 - 69.
- Stohs S.J., Bagchi D. 1995. Mechanism in the toxicity of metal ions. *Free Rad. Biol. Med.* 18, 321-336.
- Sugendrayatna Ohki A., Nakasima T., Maeda S. 2002a. Studies on the accumulation and transformation of arsenic in freshwater organisms I. Accumulation, transformation and toxicity of arsenic compounds on the Japanese Medaka, *Oryzias latipes*. *Chemosphere* 46(2), 319-324.
- Sugendrayatna Ohki A., Nakasima T., Maeda S. 2002b. Studies on the accumulation and transformation of arsenic in freshwater organisms II. Accumulation and transformation of arsenic compounds by *Tilapia mossambica*. *Chemosphere* 46(2), 325-331.
- Suvetha L., Ramesh M., Saravanan M. 2010. Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na^+/K^+ -ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus Carpio*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 29(1), 44-49.

- Tripathi S., Sahu D.B., Kumar R., Kuma, A. 2003. Effect of acute exposure of sodium arsenite (Na_2AsO_3) on some hematological parameters of *Clarias batrachus* (common Indian catfish) in vivo. Environ. Health 45, 183 - 188.
- Thomas P., M. Bally., J.M. Neff. 1982. Ascorbic acid status of mullet, *Mugil cephalus* Linn., exposed to cadmium, J Fish Biol. 20(2), 183-196.
- Townsend D.M., Tew K.D. 2003. The role of glutathione-S-transferase in anticancer drug resistance. Oncogenes 22, 7369 - 7375.
- Valko M., Morris H., Cronin M.T. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. Curr. Med. Chem. 12, 1161-1208.
- Waring C.P., Stagg R.M. and Poxton M.G. 1992. The effects of handling on flounder (*Platichthys flesus* L.) and atlantic salmon (*Salmo salar* L.). J .Fish. Bi. ,41, 131-144.
- Wang Y.C., Chaung R.T., Tung L.C. 2004. Comparison of the cytotoxicity induced by different exposure to sodium arsenite in two fish cell lines. Aqua. Toxicol. 69,67-69.
- White C.C., Viernes H., Krejsa C.M., Botta D., Kavanagh T.J., 2003. Fluorescence- based microtiter plate assay for glutamate-cysteine ligase activity. Anal. Biochem. 318, 175 - 180.
- Wendelaar bonga S.E. 1997. The stress response in fish. Physiol.. 77, 591-625.
- Yang J.L., Chen H.C. 2003. Serum metabolic enzyme activities and

- hepatocyte ultrastructure of common carp after gallium exposure. Zool. Stud. 42, 455-461.
- X. Zirong and B. Shinju. ,2007. Effects fo waterborne Cd exposure on glutathione metabolism in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver. Ecotoxicol. Environ. Saf. 67, 89-94.
- Yuanyuan S., Hongxia Y., Jingfei Z., Ying Y., Hua S. ,Hongline L., Xiaorong W. 2005. Bioaccumulation and antioxidant responses in goldfish *Carassius auratus* under HC Orange No.1 exposure. Ecotoxicol. Environ. Safe. 63, 430-437.
- Yuanyuan S., Ying Y., Jingfei Z., Hongxia Y., Xiaorong W., Jichun W., Yuqun X. 2008. Hydroxyl radical generation and oxidative stress in *Carassius auratus* liver, exposed to pyrene. Exotoxicol. Environ. Saf. 71, 446-153.
- Y. Yamamoto and K. Takahashi. 1993. Glutathione peroxidase isolated from plasma reduces phospholipid hydroperoxides, Arch. Biochem. Biophys. 305, 541.
- 이지선. 정지현. 한창희. 심원준. 전중균. 2008. 시화호에서 채집한 폴 망둑 *Acanthogobisu hasta*의 간장 약물대사효소계 및 항산화계 반응. Korean J. Environ. Biol. 26, 9.