

이염화망간을 투여한 흰쥐의 조직중 망간과 Malondialdehyde간의 관계

녹십자의료재단, 한양대학병원 산업보건센터¹⁾, 가톨릭대학교 의과대학 예방의학교실²⁾

문철진 · 이수진¹⁾ · 이세훈²⁾

— Abstract —

A Study of Relationship between Exposure to Manganese Chloride and Malondialdehyde in Rat Tissues

Chul-Jin Moon, Soo-Jin Lee¹⁾, Se-Hoon Lee²⁾

*Green Cross Reference Laboratory
Occupational Health Center, Hanyang University Hospital¹⁾
Department of Preventive Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea²⁾*

Objectives : This research was intended to investigate the relationship between manganese and malondialdehyde concentration in tissues of rats exposed to manganese chloride.

Methods : The study groups were 12 manganese treated rats and 9 control rats. Manganese treated rats were given intraperitoneally manganese chloride(Mn^{2+} , 4 mg/kg) daily for a period of 30 days except Sunday. Control rats were injected 1ml of saline. The plasma manganese concentrations of rats were determined by graphite furnace atomic absorption spectrometry. The tissue manganese concentration was determined by flame atomic absorption spectrometry. Malondialdehyde, the product of lipid peroxidation was determined by ultraviolet-visible spectrophotometry. The plasma malondialdehyde was determined by gas chromatography with mass-detector. Protein concentration was quantified by ultraviolet-visible spectrometry and was used for the compensation of tissue malondialdehyde and manganese concentration.

Results : Manganese concentrations of plasma, brain, liver, and pancreas were very significantly higher in the manganese-treated rats than in the control rats. Malondialdehyde concentration of plasma, brain, and pancreas were significantly higher in the manganese-treated rats than in the control rats. The concentration of malondialdehyde was correlated with manganese levels in plasma, brain and pancreas.

Conclusion : Based on the results obtained as above, it was concluded that the malondialdehyde, product of lipid peroxidation was related to the cell death due to dosing excess manganese.

Key Words : Malondialdehyde, Lipid peroxidation, Manganese

〈접수일 : 2000년 7월 10일, 채택일 : 2000년 8월 16일〉

교신저자 : 이 세 훈(Tel : 02-590-1236) E-mail : ashlee@cmc.cuk.ac.kr

서 론

망간은 철과 주석에 이어 가장 흔한 전이금속의 하나이다(Francois 등, 1988). 망간은 생체의 필수금속으로서 과당의 합성, 골형성, 콘드로이틴황산(chondroitin sulfate) 형성, 카테콜아민 대사와 멜라닌 세포의 정상적인 기능에 관여하고, 생체효소반응 중 pyruvate kinase, mitochondrial superoxide dismutase, glycosyl transferase 및 지방산 합성에 관련된 효소반응의 보조인자로서 작용한다(Klaassen 등, 1996). 망간과 그 화합물들은 합금과 건전지, 전기코일, 용접봉, 페인트, 농약 등의 제조에 사용되며(Klaassen 등, 1996), 직업적으로 장기간 노출되었을 경우 흔히 신경장애를 유발하는 것으로 알려져 있다(Huang 등, 1989). 산업위생의 인식과 작업환경의 개선에 따라 망간중독 사례는 드물지만 국내에서도 용접공에서 발생한 망간중독이 보고되면서 그 유해성에 대한 관심이 높아지고 있다(정호근, 1997). 분진 또는 흡의 형태로 고농도의 망간 화합물에 노출되면 화학적 폐간질염과 같은 호흡기 장애를 일으키고, 만성 노출시 전형적인 중독증상으로 추체외로(extrapyrmidal)계의 장애가 유발되는 것으로 알려져 있다(Robert 등, 1995).

현재까지 망간 중독증의 분자생물학적인 병리기전에 대해 명확히 알려져 있지 못한 실정이지만, 최근, 망간을 포함한 수은, 연, 카드뮴 등과 같은 중금속 중독의 발생과정에 산소유리기(free oxygen radical)가 중요한 역할을 담당한다는 가설에 관심이 증대되고 있다(Wendel 등, 1979; Knight와 Voorhees, 1990; Lin 등, 1994; Yiin 등, 1994, Yiin 등, 1996). 이 가설에 의하면 망간노출이 세포에서 산소유리기 농도를 증가시키고 정상적으로 생체내에 존재하는 항산화계(antioxydant system)의 제거능력을 초과하였을 때 세포막 등의 불포화지방산에서 과다한 지질과산화반응이 초래되어 세포의 구조적 손상, 기능장애 및 피사로 진행된다고 요약된다(Maestro, 1980; Murray 등, 1988). 이 기전은 동맥경화증(Ledwozyw 등, 1986), 노화(Pryor 등, 1985; Yen 등, 1994), 류마티스병(Humad 등, 1985), 암(Halliwell 등, 1984)뿐만 아니라, 유기용제(Sunderman 등, 1986), 약물(Burk와

Lane, 1979; Knight 등, 1988), 농약(Yasaka 등, 1981), 알콜(Uysal 등, 1986) 등 다양한 중독증의 발생기전에 관여한다. 실험동물을 대상으로한 과산화물의 급성독성평가에서 망간을 포함한 2가의 금속이온이 지질과산화반응에 관련된다는 연구결과가 많이 보고되고 있으나(Wendel 등, 1979; Shukla와 Chandra, 1981; Sunderman 등, 1989; Knight와 Voorhees, 1990; Lin 등, 1994; Lin 등, 1996), 금속이온이 지질과산화반응에 미치는 정확한 기전은 잘 알려져 있지 않다.

산화에 의한 세포손상을 평가하기 위해서 가장 널리 사용되는 방법은 지질과산화반응의 최종대사산물인 말론디알데하이드(malondialdehyde, 이하 MDA)를 정량하는 것이다(Placen 등, 1966; Jiankang 등, 1997). MDA는 일차 또는 이차 지질과산화반응산물의 분해를 통하여 형성되는 저분자량의 알데하이드로서 thiobarbituric acid(이하 TBA)와 특이적으로 반응하여 발색단을 만든다(Jiankan 등, 1997). 본 실험에서는 망간에 의한 지질과산화반응의 평가를 위하여 MDA-TBA adduct를 정량하였다.

이 연구의 목적은 망간을 1개월간 복강내 주사로 노출시켰을 때 망간의 주된 목표 장기를 확인하고 망간노출이 생체에서 지질과산화반응을 촉진시켜 MDA의 양을 증가시킨다는 가설을 검증하는 것이다.

대상 및 방법

1. 실험대상

생후 6주, 체중 200~250 g의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 실험 일주일 전부터 상업용 배합사료로 약 18~20℃가 유지되는 동물실에서 사육한 후 외견상 건강한 개체만을 실험대상으로 하였다. 사육 기간동안 사료와 물은 제한없이 공급하였다. 망간 처리군은 이염화망간(MgCl₂)을 4 mg/kg의 용량이 1 ml 이 되도록 생리식염수에 녹여 일요일을 제외하고 매일 복강내 주사하였고, 대조군은 생리식염수만 1 ml 씩 매일 복강내 주사하였다. 실험에 사용된 동물수는 망간 처리군이 12마리, 대조군이 9마리로 총 21마리였다. 망간 투여기간은 1개월이었으며 실험 전 하룻밤을 굶긴 후 urethane으로 마취시킨 후 복부를 절개하였다. 뇌, 간, 비장, 췌장, 콩팥을 채취한 뒤 각

각 2,6-*tert*-butyl-4-methylphenol(Sigma-Aldrich Co., St. Louis. MO, 이하 BHT)로 항산화처리한 후 분석시까지 -70℃에서 냉동보관하였다.

2. 실험방법

1) 조직의 망간농도 측정

균질화된 조직액 3 ml과 35 % (w/w) 질산 3 ml을 섞은 뒤 microwave(Q45, Enviroprep, Questron Co., Princeton, NJ, U.S.A.)를 이용하여 조직을 용해하였다. 산분해된 검체를 불꽃원자흡수분광광도계(PE3300, Perkin Elmer, Norwalk, CT, U.S.A.)에 주입하여 흡광도를 측정하였다. Microwave의 전처리 조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Operating conditions of microwave digestion.

Step	Power(watt)	Time(minute)
1	5	15
	10	15
	15	15
	20	15
2	25	10
	30	10
	35	10
	40	10

2) 혈장의 망간농도 측정

헤파린으로 항응고 처리된 혈액 0.1 ml을 매질 개신제(0.095 M (NH₄)₂HPO₄, 0.5 % Triton X-100)액 0.9 ml과 섞은 다음 Baldwin 등(1994)의 방법을 이용하여 원자흡수분광광도계에 장착된 graphite furnace에 10 μl 주입하여 분석하였다.

3) 조직의 MDA 농도 측정

조직내 MDA 농도는 TBA 반응에 의해 생성된 MDA-TBA adduct를 Shah(1983)의 방법으로 정량하였으며 요약하면 다음과 같다. 조직 약 2 g을 잘라내어 약 4℃의 potassium phosphate saline buffer(pH 7.3, 1.9 mM NaH₂PO₄, 8.1 mM Na₂HPO₄, 0.15 M NaCl, 5.2 mM KCl, 이하 PBS) 20 ml와 섞은 뒤 전동식 homogenizer(IKA-ULTRA-TURRAY, T25, Janke & Kunkel

GmbH & Co., Staufen, Germany)로 균질화하였다. 이 균질액을 ultrasonic cell membrane disruptor(Ultrasonic homogenizer 4710, Cole-Parmer Instrument Co., U.S.A)를 이용하여 7 watt의 power로 20초간 초음파처리한 다음 4℃, 20000 g에서 30분간 원심분리하였다. 원심분리된 상층액 1 ml을 취한 후 17.5 % trichloroacetic acid (이하 TCA) 1 ml을 첨가하였다. 1 ml의 0.6% TBA(pH 2.0)을 첨가한 후 15분간 끓여 유도체화시켰다. 실온에 두어 식힌 뒤 1 ml의 70% TCA를 첨가하고 20분간 얼음욕조에 두어 방치하였다. 10분간 3000 rpm에서 원심분리한 뒤 상층액을 534 nm의 파장하에 분광광도계(DU-65, Beckman, U.S.A.)로 흡광도를 측정하였다. 표준액의 준비는 malondialdehyde bis(diethyl acetal) 24 μl를 10 ml의 0.01 M 염산에 섞어 6시간동안 실온에 방치하여 얻었다.

4) 혈장의 MDA 농도 측정

혈장의 MDA 농도는 Jiankang 등(1997)의 방법으로 정량하였으며 요약하면 다음과 같다. 심장에서 채취한 혈액을 heparine tube에 넣은 뒤 원심분리하여 얻은 혈장 250 μl에 10 μM BHT 20 μl를 섞었다. 10 μl의 6.6 N 황산을 가하고, 10분간 실온에 방치하였다. 75 μl의 0.3 M sodium tungstate (Na₂WO₄)용액을 첨가한 다음, 14000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 상층액을 시험관에 옮긴 후, 150 μl의 0.5 M sodium dihydrogen phosphate (NaH₂PO₄) 용액을 가하였다. 10 mg/ml의 pentafluorophenylhydrazine을 가한 뒤 실온에서 1시간 동안 방치한 후, 10 μl의 9 N 황산용액을 가하였다. n-hexane을 500 μl 첨가한 다음, 12000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액 400 μl를 GC-MSD(Gas chromatograph-Mass detector 6890, Hewlett Packard, U.S.A)에 주입하여 분석하였다. 분석조건은 Table 2와 같다.

5) 조직의 단백질 농도 측정

조직의 망간농도와 MDA 농도를 보정하기 위하여 조직의 단백질 농도를 측정하였다. 단백질 농도는 Lowry (1951)의 방법을 이용하여 정량하였다. 균질화된 조직액 0.01 ml과 시약 D(0.5 N NaOH에 녹인 10 % Na₂CO₃ 15 ml, 1 % CuSO₄·5H₂O 0.7 ml, 2 % potassium tartrate 0.7 ml) 1 ml을 섞은

다음 실온에서 15분간 방치하였다. Folin 시약(2 N Folin-Ciocalteu-phenol 10 ml, 증류수 90 ml)을 3 ml 첨가한 다음 실온에서 45분간 방치하였다. 정량은 540 mm의 파장하에 분광광도계 (DU65, Beckman, U.S.A.)로 흡광도를 측정하였다. 표준액으로는 Bovine serum albumin 0.3 % 용액 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)을 사용하였다.

수집된 자료에 대한 통계분석은 윈도우용 SPSS 7.5 프로그램을 이용하였다. 대조군과 투여군의 크기가 작아 표본간의 유의성검정은 비모수검정인 Mann-Whitney test를 실시하였고, 조직중 망간농도와 MDA 농도간의 상관분석은 Spearman test로 실시하였다. 유의수준은 0.05로 하였다.

결 과

1. 조직내 망간농도

망간처리군의 혈장 망간농도는 $5.58 \pm 1.66 \mu\text{g/l}$ 로 대조군의 $1.17 \pm 0.50 \mu\text{g/l}$ 보다 통계학적으로 유의하게 높았다($p < 0.001$). 뇌와 췌장의 망간농도도 망간처리군이 대조군에 비하여 통계학적으로 유의하게 높았다($p < 0.001$). 뇌의 경우, 망간처리군과 대조군의 망간농도는 각각, $3.39 \pm 1.90 \text{ ng/g protein}$, $0.74 \pm 0.26 \text{ ng/g protein}$ 이었고, 췌장의 경우는 각각, $5.40 \pm 2.56 \text{ ng/g protein}$, $1.30 \pm 0.89 \text{ ng/g protein}$ 이었다. 간장의 망간농도는 망간처리군에서 $2.93 \pm 0.87 \text{ ng/g protein}$ 으로 대조군의 $1.60 \text{ ng/g protein}$ 보다 유의하게 높았다($p < 0.05$). 비장과 신장에서의 망간농도는 두 군간 유의한 차이가 없었다 (Table 3).

2. 조직내 MDA 농도

6) 통계분석

Table 2. Operating conditions of gas chromatography for determining the concentration of malondialdehyde.

Classification	Condition
Instrument	Hewlett Packard 6890 GC-MSD
Capillary column	HP-5MS(25 m×0.32 mm×0.25 μm)
Column temperature	initial 50°C for 1 min, rate 20°C/min, final 280°C for 1 min
Injector temperature	250°C
Flow rate	N ₂ 1 ml/min
Split ratio	10:1
Detector	Mass detector
Injection volumn	3 μl

Table 3. Manganese concentration between manganese-treated and control rats.

Tissues	Group*	Mean±SD**	Range	p†
Plasma	Treated rats	5.58 ± 1.66	2.5~8.0	<0.001
	Control rats	1.17 ± 0.50	0.01~1.5	
Brain	Treated rats	3.39 ± 1.90	1.01~6.68	<0.001
	Control rats	0.74 ± 0.26	0.40~1.25	
Pancreas	Treated rats	5.40 ± 2.56	1.96~8.96	<0.001
	Control rats	1.30 ± 0.89	0.36~2.84	
Kidney	Treated rats	3.13 ± 2.74	0.21~9.48	0.545
	Control rats	2.32 ± 1.85	0.15~5.68	
Liver	Treated rats	2.93 ± 0.87	1.92~4.65	<0.05
	Control rats	1.60 ± 1.07	0.26~3.63	
Spleen	Treated rats	2.44 ± 0.91	0.99~3.63	0.286
	Control rats	2.03 ± 0.61	1.33~2.93	

* N : treated rats=12, control rats=9

** Unit : blood- μg/l, tissue-ng/g protein.

† Wilcoxon rank-sum test for the comparison between manganese-treated rats and control rats.

망간처리군의 혈장내 MDA 농도는 0.44 ± 0.13 mM($0.22 \sim 0.63$ mM)로 대조군의 0.31 ± 0.08 ($0.13 \sim 0.39$ mM)보다 유의하게 높았다($p < 0.05$).

뇌의 경우, 망간처리군의 MDA 농도는 7.48 ± 2.58 μ mol/g protein으로 대조군의 4.68 ± 1.20 μ mol/g protein보다 통계학적으로 유의하게 높았으며($p < 0.05$), 췌장도 망간처리군이 31.28 ± 12.80 μ mol/g protein로서 대조군의 16.87 ± 6.66 μ mol/g protein보다 유의하게 높았다($p < 0.05$). 그러나 신장, 간장, 비장의 MDA 농도는 두 군간에 차이가 없었다(Table 4).

3. 조직내 망간농도와 MDA 농도간의 상관성

혈액내의 망간농도와 MDA 농도간의 상관계수는 0.5059 ($p < 0.05$)로 양적 상관관계가 있었다. 뇌조직은 0.8295 ($p < 0.001$), 췌장은 0.8299 ($p < 0.001$)로 높은 상관관계가 있었다. 그러나 간, 비장 그리고 신장은 두 변수간에 상관관계가 없었다(Table 5).

고 찰

동물실험의 결과에 의하면 일시적으로 망간에 노출된 경우 신속하게 간에서 혈액의 망간이 제거되어 담즙을 통해 대변으로 주로 배설되고, 만성적으로 폭로된 경우에 10~30%가 간에 축적되고 일부는 폐, 비장, 뼈 등에 축적되는 것으로 알려져 있다(Klaassen, 1974). 또다른 연구에서는 30일간의 투여에도 유의할 만한 망간의 증가가 보이지 않는다고 보고하였다(Scheuhammer와 Cherian, 1982). 본 실험에서는 혈장과 뇌, 췌장, 그리고 간의 조직에서 대조군과 유의한 차이를 보였다. 망간은 미토콘드리아(mitochondria)에 고농도로 축적되므로 다량의 미토콘드리아가 존재하는 뇌, 췌장, 간, 신장에 많이 존재하지만 본 실험에서는 신장에서 망간의 유의한 차이가 없었다. 신장에서 유의한 차이가 없는 것은 혈중 망간이 담즙을 통해 장관을 통하여 주로 대변으로 배설되기 때문일 것으로 고려된다.

망간은 화합물의 형태에 따라 축적되는 장기가 다르

Table 4. Malondialdehyde concentration between manganese-treated and control rats.

Tissues	Group*	Mean \pm SD**	Range	p [†]
Plasma	Treated rats	0.44 ± 0.13	$0.22 \sim 0.63$	0.016
	Control rats	0.31 ± 0.08	$0.13 \sim 0.39$	
Brain	Treated rats	7.48 ± 2.58	$3.54 \sim 11.76$	0.007
	Control rats	4.68 ± 1.20	$2.67 \sim 6.32$	
Pancreas	Treated rats	31.28 ± 12.80	$13.01 \sim 46.86$	0.013
	Control rats	16.87 ± 6.66	$7.00 \sim 24.90$	
Kidney	Treated rats	4.65 ± 0.90	$3.44 \sim 6.14$	0.943
	Control rats	4.95 ± 1.20	$3.35 \sim 7.13$	
Liver	Treated rats	0.28 ± 0.07	$0.18 \sim 0.44$	0.082
	Control rats	0.34 ± 0.11	$0.18 \sim 0.55$	
Spleen	Treated rats	9.96 ± 1.86	$7.36 \sim 14.33$	0.256
	Control rats	8.97 ± 2.25	$6.38 \sim 12.83$	

* N : treated rats=12, control rats=9

** Unit : plasma-mM, tissue- μ mol/g protein.

† Wilcoxon rank-sum test for the comparison between manganese-treated rats and control rats.

Table 5. Correlation coefficients between the manganese concentration and the malondialdehyde concentration in tissue. N=21

	Plasma	Brain	Pancreas	Kidney	Liver	Spleen
r	0.5059	0.8295	0.8299	-0.0741	0.0253	0.2584
p	0.019	<0.001	<0.001	0.749	0.913	0.258

다고 보고되고 있다. Komura와 Sakamoto(1992)는 $MnCO_3$, MnO_2 는 대뇌피질에 많이 축적되고, 특히 $MnCO_3$ 는 간과 비장에 특이하게 축적된다고 하였으나 본 실험에서 사용한 $MnCl_2$ 는 간과 비장에서 유의한 차이가 없었다. 또한 $MnCl_2$ 는 중뇌(mid brain)에 주로 축적된다고 보고하였으나 본 실험에서는 뇌를 부위별로 절개하여 망간농도를 측정하지 않아 비교할 수 없었다.

인체에 망간을 주사한 경우, 약 30 %의 망간은 생물학적 반감기가 4일인 단기 대사 경로를 거치고, 70 %는 생물학적 반감기가 39일인 대사 경로를 거치는 것으로 알려져 있으며 혈액-뇌 장벽을 쉽게 통과한다. 그러나 뇌 속에서의 반감기는 전신에서의 반감기보다 길다(Yiin 등, 1996). 뇌에서의 망간농도와 MDA 농도가 다른 조직보다 유의하게 나타난 것은 뇌에서의 생물학적 반감기가 길기 때문에 망간의 투여 중에 서서히 증가하고, 투여를 중지해도 감소가 늦기 때문으로 보인다. 혈중 망간량이 4 mg/kg의 투여량에 비하여 다른 연구의 결과보다 5배정도 낮게 나온 것은(Aono와 Sraki, 1988) 망간이 주로 적혈구에 결합하여 운반되지만 MDA 실험을 위해 최대의 혈장을 확보하기 위하여 적혈구와 혈장을 분리했기 때문일 것으로 보인다. 다음 연구에서는 침전시킨 혈구세포를 생리식염수에 다시 부유시켜 분석한다면 보다 나은 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

금속이온은 생체내의 많은 산화-환원반응을 매개한다. 이염화망간에 폭로된 쥐의 폐포의 대식세포에서 lipid peroxide 증가나(Sunderman 등, 1989) *in vitro* 실험에서 이염화망간에 기인한 lipid peroxidation의 증가(Knight와 Voorhees, 1990)가 그 예이다. 망간이온은 대부분의 호기성 세포, 특히 대식세포에서 O_2^- 를 비롯한 산소유리기의 생산에도 관여하고 있다. 만들어진 O_2^- 는 superoxide dismutase라는 효소에 의하여 과산화수소와 산소로 바뀌어진다. 과산화수소는 glutathione peroxidase와 catalase에 의해 물로 전환되나 산소는 지질과 반응하여 지질의 auto-oxidation을 일으킨다. 이 반응의 최종 대사산물로 ethane, pentane을 비롯한 MDA가 생성되는데 MDA는 다른 대사산물에 비하여 화학적으로 안정하여(Yiin 등, 1996) 지질과산화반응을 측정하기 위한 인자로 자주 사용된다.

지질과산화반응은 망간의 독성작용중 주요 기전중의 하나이고 연에 폭로된 근로자에게서도 지질과산화반응이 증가되었음이 보고되었다(Yiin과 Lin, 1994). 망간의 세포독성효과는 산소유리기의 생성을 통한 세포파괴에 있다고 생각된다. 이러한 지질과산화반응에 의한 독성작용은 비타민 E, 비타민 C, 셀레늄(selenium)같은 항산화제에 의하여 저해된다(Yiin 등, 1996).

망간은 지질과산화반응을 일으키는 인자로 보고되는 동시에 비타민 E, 비타민 C, 셀레늄처럼 이 반응을 저해시키는 항산화제로서도 보고되고 있다. 항산화제로서의 망간의 역할을 연구한 어떤 *in vitro*의 실험의 결과는 망간이 처리된 쥐의 뇌와 간에서 MDA의 형성이 감소되었다고 보고하였다(Ruthman과 Keller, 1972; Mariagrazia 등, 1992). 망간의 독성을 연구한 일부 보고에서는 망간을 처리한 쥐의 뇌를 대상으로 한 *in vivo*의 실험결과, 처리한 망간의 농도가 증가할수록 MDA의 농도가 감소한다고 보고하였다(Shukla와 Chaundra, 1981). 상이한 결과가 나온 연구의 실험가설은 이가의 망간이온이 peroxyl radical을 quenching하여 지질과산화반응을 억제한다는 것이었다($R-OO \cdot + Mn(II) + H^+ \rightarrow ROOH + Mn(III)$). 이 반응메카니즘은 2가의 망간이온이 산소라디칼과($Mn(II) + O_2 \rightarrow Mn(III) + O_2^{2-}$)과 hydroxyl radical($Mn(II) + H_2O_2 \rightarrow \cdot OH + OH + Mn(III)$)을 만들어 지질과산화반응을 유발한다는 본 실험의 가설과 차이가 있고 투여한 망간의 농도도 0.1mM로 100배정도 낮았다. 본 연구에서는 간을 제외하고 망간의 축적이 일어난 뇌와 췌장, 혈장에서의 망간과 MDA간에는 유의한 양적 상관관계가 있었다. 간에서 유의한 망간량에 비해 MDA의 유의한 차이가 없었던 이유는 담즙을 통한 망간의 배설과 망간에 대한 항상성 유지능력때문인 것으로 보인다.

이들 결과로서 조직에 축적된 망간이 고농도일수록 지질과산화반응이 촉진되어 MDA의 농도가 높아진다고 생각되며 향후 실험에서는 MDA와 더불어 지질과산화반응의 효과적인 평가를 위해 superoxide dismutase의 측정이 제안된다.

요 약

목적 : 이염화망간을 투여한 백쥐를 이용하여 망간

이 유의하게 축적된 장기와, 장기내 망간과 MDA의 상관관계로서 세포내 지질과산화반응을 평가하였다.

방 법 : 생후 6주, 체중 200~250 g의 수컷 흰쥐 (Sprague-Dawley) 12마리에게 이염화망간 (MgCl₂)을 4 mg/kg 농도로 한달간 복강내 주사하고, 동일 조건의 흰쥐 9마리에게 생리식염수를 1 ml씩 한달간 복강내 주사하였다. 혈액, 뇌, 간, 비장, 췌장, 콩팥을 채취한 뒤, 각 조직중의 망간농도와 malondialdehyde를 정량하였다.

결 과 : 망간의 농도가 대조군에 비해 유의하게 높았던 조직은 혈장, 뇌, 췌장 및 간장이었다. 대조군에 비해 실험군에서 조직중 malondialdehyde 농도가 유의하게 높았던 조직은 혈액, 뇌, 췌장이었다. 대조군에 비해 망간농도와 MDA농도가 모두 유의하게 높았던 혈장, 뇌, 췌장중의 두 변수간에는 유의한 상관관계가 있었다.

결 론 : 이상의 결과 고농도의 망간을 투여한 경우 뇌, 췌장에 특이하게 망간이 축적되며, 이들 장기에서 지질과산화반응이 촉진되어 그 최종 대사산물인 MDA의 농도가 증가한다는 결론을 얻었다.

참고문헌

정호근. 망간중독. 산업보건 1997;6:2-20.
Aono H, Araki S. Circadian rhythms in the urinary excretion of heavy metals and organic substances in metal workers in relation to renal excretory mechanism. Profile analysis. Int Arch Occup Environ 1988;60:1-6.
Baldwin S, Deaker M, Maher W. Low volume microwave digestion of marine biological tissues for the measurement of trace elements. Analyst 1994; 1701-4.
Burk RP, Lane JM. Ethane production and liver necrosis in rats after administration of drugs and other chemicals. Toxicol Appl Pharmacol 1979;50:467-78.
Francois B, Oliver G, Josiane A, Francis P. Determination of manganese in biological materials by electrothermal atomic absorption spectrometry, a review. Clinical Chem 1988;34:227-34.
Klaassen CD. Biliary excretion of manganese in rats, rabbits and dogs. Toxicol Appl Pharmacol 1974;29:458-68.

Klaassen CD, Amdur MO, Doull J. Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons. 3rd ed. New York(NY): Macmillan Publishing Company, 1996:717-18.
Knight JA, Pieper RK, Smith SE, Crockett HH. Increased urinary lipoperoxides in drug abusers. Ann Clin Lab Sci 1988;18:374-7.
Knight JA, Voorhees RP. Peroxidation of linolenic acid catalysis by transition metal ions. Anal Clin Lab Sci 1990;20:347-52.
Komura J, Sakamoto M. Effects of manganese forms on biogenic amines in the brain and behavioral alterations in the mouse: Long-term oral administration of several manganese compounds. Environ Res 1992;57:34-44.
Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem J 1984;219:1-14.
Heyes AW. Principles and method of toxicology. 3rd ed. New York: Raven Press, 1994:425-426.
Huang CC, Chu NS, Lu CS, Wang JD, Tsai JL, et al. Chronic manganese intoxication. Arch Neurol 1989;46:1104-6.
Humad S, Zarling EJ, Shosey JL. Lipid Peroxidation in rheumatoid arthritis: measurement of pentane in breath samples by gas chromatography. Clin Res 1985;33:919-23.
Jiankang L, Helen CY, Stephanie JD, Bruce NA. Assay of aldehyde from lipid peroxidation: gas chromatography-mass spectrometry compared to thiobarbituric acid. Anal Biochem 1997;245:161-6.
Ledwozyw A, Michalak J, Stepien A, Kadziolka A. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. Clinical Chim Acts 1986;155:275-84.
Lin SY, Yann MH, Yiin SJ, Lin TH, Shih TS. Biological monitoring of occupational manganese exposure. J Occup Safety Health 1994 ;2(3):57-70.
Lin TH, Chen JG, Liaw JM, Juang JG. Trace elements and lipid peroxidation in uremic patients on hemodialysis. Biol Trace Elem Res 1996;51(3):277-83.
Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin reagent. J Biol Chem 1951;193:265-275.
Maestro RFD. A approach to free radicals in med-

- icine and biology. *Acta Physiol Scand(Suppl)* 1980;492:153-68.
- Mariagrazia C, Fulvio U, Alberto B. Antioxidant effect of manganese. *Arch Biochem Biophys* 1992;299(2):330-2.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's biochemistry*. 21st ed. Norwalk(CT): Prentice-Hall. 1988:138-39.
- Placen ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation(malondialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966;16:359-61.
- Pryor WA. Free radical involvement in chronic diseases and aging: the toxicity of lipid hydroperoxides and their decomposition products(review). *Xenobiotic metabolism: nutritional effects*. Washington(DC): American Chemical Society 1985:77-96.
- Robert AG, Curtis DK, Michael PW. *Metal toxicology*. London: Academic Press, 1995: 221-3.
- Ruthman KJ, Keller AZ. The effect of joint exposure to alcohol and tobacco on risk of cancer of the mouth and pharynx. *J Chronic Dis* 1972;23:771-6.
- Scheuhammer AM, Cherian MG. Influence of chronic MnCl₂ and EDTA treatment on tissue levels and urinary excretion of trace metals in rats. *Arch Environ Contam Toxicol* 1982a;11:515-20.
- Shah. *Kidney International*. 1983;23:691-8.
- Shukla GS, Chandra SV. Manganese toxicity: lipid peroxidation in rat brain. *Acta Pharmacol Toxicol* 1981;48(2):95-100.
- Sunderman FW, Hopfer SM, Lin SM, Plowman MC, Stojanovic T, et al. Toxicity to alveolar macrophages in rats following parenteral injection of nickel chloride. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989;100:107-18.
- Uysal M, Bulur H, Endrine DS, Demiroglu C. Erythrocyte and plasma lipid peroxides in chronic alcoholic patients. *Drug Alcohol Depend* 1986;18:385-8.
- Wendel A, Feurstein S, Konz KH. Acute paracetamol intoxication of starved mice leads to lipid peroxidation in vivo. *Biochem Pharmacol* 1979;28:2051-5.
- Yasaka S, Ohya J, Matsumoto J, Shiramizu T, Sasaguri Y. Acceleration of lipid peroxidation in human paraquat poisoning. *Arch Intern Med* 1981;141:1169-71.
- Yen TC, King KL, Lee HC, Yeh SH, Wei YH. Age-dependent increase of mitochondrial DNA deletions together with lipid peroxides and superoxide dismutase in human liver mitochondria. *Free Radic Biol Med* 1994;16:207-14.
- Yiin SJ, Lin TH. Lipid peroxidation in workers exposed to lead. *Arch Environ Health* 1994;186:1-17.
- Yiin SJ, Lin TH, Shin TS. Lipid peroxidation in workers exposed to manganese. *Scand J Work Environ Health* 1996;22:381-386.