

시험관내 및 생체내로 투여한 카드뮴이 랫트의 간, 신 및 고환조직 내의 Superoxide Radical, Superoxide Dismutase, Catalase 및 ATPase 활성도에 미치는 영향

중앙대학교 의과대학 예방의학교실

김 성 무 · 정 규 철

= Abstract =

Effects of Cadmium on Superoxide Radical, Superoxide Dismutase, Catalase and ATPase Activity in Liver, Kidney and Testicle of Rats *in Vitro* and *in Vivo*

Sung-Moo Kim and Kyou-Chull Chung

Department of Preventive Medicine and Community Health,
College of Medicine, Chung-Ang University

Production of free radicals of superoxide anion in tissues by cadmium, activities of superoxide dismutase and catalase to protect tissue damages caused by the free radicals and ATPase that plays an important role in energy metabolism at cellular level were investigated.

Experiments *in vitro* were conducted with liver, kidney and testicle tissue homogenates of rats adding 0.05~0.50 mM cadmium chloride, and *in vivo* experiments administering single dose of 5 mg of cadmium/kg of body weight in 0.1 % cadmium chloride solution intraperitoneally 48 hours prior to evisceration.

Production of superoxide radicals in liver and testicle increased with addition of cadmium *in vitro*, but not in kidney. *In vivo* experiments, however, superoxide radicals slightly increased in liver and kidney but not in testicle. Superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD and Mn-SOD), catalase and ATPase (total, Mg^{++} & Na^+ , K^{+-}) activity decreased in the presence of cadmium in dose dependent manner. Reduction of these enzyme activities varied not only with dosage of cadmium but also with type of tissue and between *in vitro* and *in vivo* experiment.

Key Word: Superoxide radical, Superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD & Mn-SOD), Catalase, ATPase (total, Mg^{++} & Na^+ , K^{+-})

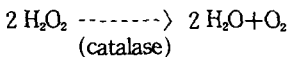
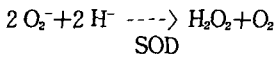
I. 머리말

카드뮴으로 오염되면 오염된 토양에서 재배된 농작물 또는 먹이연쇄로 농축된 어패류를 섭취하거나 흡연 등으로 인하여 하루에 50~60 μg 의 카드뮴이 체내로 들어가

이 논문은 1988년도 중앙대학교 교내연구 보조비로 이루어진 것입니다.

축적됨으로 직접적으로 카드뮴에 폭로되지 않았을 경우에도 연령이 증가함에 따라 체내의 카드뮴 축적량이 증가된다 (Schroeder & Balassa, 1961; Nandi 등, 1969; Fassett, 1975). 체내에 흡수된 카드뮴은 일차적으로 간장과 신장에 침착되고, 급만성장애를 일으켜 단백질, 당뇨 등의 신기능장애, 신경장애, 고혈압 등의 기능적인 장애 뿐만 아니라 폐기종, 빈혈, 뼈의 장애 등을 일으키며 (Schroeder, 1964; Adams 등, 1969; Morgan 등, 1971; Itokawa 등, 1973; Wong & Klaassen, 1982), 간장, 신장 및 고환 등의 조직과 (Meek, 1959; Axelsson & Piscator, 1966; 문익주, 1971; 김상규와 조규상, 1986; 정규철 등, 1988) 췌장, 비장 및 심장 조직에 손상을 일으킨다 (Lucis 등, 1969; Yoshikawa, 1974; Yoshiki 등, 1975; Suzuki, 1980).

최근 카드뮴이 superoxide anion (O_2^-)의 생성을 촉진시킨다는 보고가 있다 (Amoruso 등, 1982). 카드뮴이 체내에 흡수되면 조직세포에서 superoxide anion 및 과산화수소의 생성이 증가하고 (Sajiki 등, 1983) 지질의 과산화작용이 촉진되는 점 (Klimczak 등, 1984; Jamall & Smith, 1985)으로 미루어 카드뮴에 의한 조직손상의 한 기전으로 oxygen radical의 작용에 관심을 모으고 있다 (Goldberg & Stern, 1977; Simon 등, 1981; Moody & Hassan, 1982; Rowley & Halliwell, 1983; Junqueiraet 등, 1986). 그러나 조직세포에는 금속을 함유하는 효소인 superoxide dismutase (SOD)와 catalase 등이 있어서 (Hassan & Moody, 1982; Schwartz 등, 1983; Gutteridge 등, 1983) 이러한 조직손상을 방어한다 (Crapo & Tierney, 1974; Dryer 등, 1980; Jeon 등, 1986). 즉, superoxide dismutase는 superoxide radical을 과산화수소로 변환하고, 과산화수소는 다시 catalase에 의해서 물로 변환한다 (Lehlinger, 1982).



Superoxide dismutase에는 두가지가 있어서 그중의 하나는 구리 (Cu)와 아연 (Zn)을 함유하는 것으로 세포질 내에 있고, 다른 하나는 망간 (Mn)을 함유하는 것으로 mitochondria에 존재한다 (McCord & Fridovich, 1969; Weisiger & Fridovich, 1973; 이증연 등, 1983).

한편 중금속에 중독되었을 때 기능적인 장애와 조직 병리화적인 변화를 일으키는 것은 세포막이 손상되어 야기되는 것이므로 세포막에 존재하는 ATPase활성도의 변화를 측정하는 것은 비록 특이적인 방법은 아닐지라도 카드뮴 중독을 조기에 진단하는 하나의 민감한 척도가 될 수 있을 것임으로 (Mustafa 등, 1971) ATPase 활성도에 미치는 카드뮴의 영향에 대해서 많은 연구가 이루어졌다 (Nechay & Saunders, 1977; Takada & Hayashi, 1978; Akerman 등, 1985).

이러한 점으로 미루어 볼 때 시험관 내에서 카드뮴이 조직균질액과 작용하였을 때의 superoxide radical의 생성량과 이로 인한 조직손상을 막기 위하여 생성되는 superoxide dismutase 및 catalase의 활성도, 그리고 에너지대사에 중요한 역할을 하는 ATPase 활성도의 변화를 관찰하는 한편 복강내로 일정량의 카드뮴을 투여하였을 때에 생체 내에서 생성되는 SOD, catalase 및 ATPase 량을 비교하는 것은 카드뮴 중독때에 일어나는 조직손상 기전을 규명하고 이에 대한 예방대책을 강구하는데 필수적이라고 생각되기에 이 실험을 시도하였다.

II. 연구 방법

1. 실험동물과 카드뮴의 투여방법

이번 연구에서 사용한 동물은 체중이 200g 내외되는 Sprague-Dawley 계의 수컷 랫트이며, 실험실에서 시판 고형사료로 1주일 이상 사육하여 특별한 이상조건이 없고, 건강하게 보이는 것을 택하였다. *In vitro* 실험에서는 시험관 내에 각종 농도 (mM)의 염화카드뮴 용액을 첨가하여 시료와 반응시켰으며, *in vivo* 실험에서는 5 mg/kg body wt의 0.1% 염화카드뮴 식염수용액을 복강내로 1회 주사한 다음 48시간 후에 실험하였다. 대조실험에서는 각각 염화카드뮴 대신에 동량의 생리적 식염수를 실험군과 같은 방법으로 투여하였다. *In vivo* 실험에서는 랫트 5마리 씩을 1군으로 하였고, 대조실험에서는 랫트 10마리를 사용하였다.

2. 시약

Cytochrome C, xanthine, xanthine oxidase, tris (hydroxymethyl) aminomethane, ouabain, adenosine 5'triphosphate 및 bovine serum albumin은 Sigma Chemical Co. (U.S.

A)제를 사용하였고, sodium chloride, magnesium chloride 및 potassium chloride는 Fluka A. G. (Switzerland)제를, EDTA는 BDH Chem., Ltd. (England)제를, cadmium chloride는 Wako Pure Chem. Indust. (Japan)제를, 그리고 원자흡광분석용 cadmium 표준용액은 Hayashi Pure Chem. Indust. (Japan)제를 사용하였다. 그 밖의 일반시약은 분석용 특급시약을 사용하였다.

3. 시료

A. *In vitro* 실험용 시료

가) Superoxide radical, superoxide dismutase 및 catalase 측정용 시료

랏트를 절두법으로 희생시키고 곧 회복하여 간장, 신장 및 고환을 적출하여 4℃ 이하로 냉각시킨 생리적 식염수로 4~5회 씻어 혈액을 제거하였다.

조직균질액: 적출한 조직을 torsion balance (Sartorius Co. 제, 감도 0.05 mg)로 평량하고, 잘게 썰어서 polytron 조직분쇄기 (Janke & Kunkel, Ultra-Turrax T25)에 넣고, 10 mM tris-HCl 완충용액 (pH 7.4)을 4배 용량 첨가하여 20초씩 2회 균질화하고, Beckman 냉동원심분리기 (Model J-21B)로 600 x g에서 10분 동안 원심분리하여 얻은 상층액을 superoxide radical 및 catalase 활성도를 측정하는 시료로 사용하였다.

세포분획: 이와 같이 하여 얻은 상층액을 다시 14,000 x g에서 15분 동안 냉동원심분리하여 세포질 분획과 mitochondria 분획으로 분리하였다. Mitochondria 분획을 4배 용량의 10 mM tris-HCl 완충액 (pH 7.8)에 부유시키고 15,000 x g에서 15분 동안 냉동원심분리하여 상층액을 제거하였다. 이러한 과정을 2회 반복하여 mitochondria를 정제하였고, 여기서 다시 4배 용량의 50 mM tris-HCl 완충액 (pH 7.8)을 첨가하여 부유시키고 2회 얼렸다 녹힌 다음, Sonifier (Model W185D, Heat systems, Ultrasonics, Inc.)로 55 watts에서 4분씩 3회 반복하여 sonicate 하고, 다시 20,000 x g에서 60분 동안 냉동원심분리하여 그 상층액을 취하여 각각을 세포질 내에 들어 있는 구리와 아연을 함유하는 superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD)와 mitochondria 내에 들어있는 망간을 함유하는 superoxide dismutase (Mn-SOD)의 활성도를 측정하는 조효소로 사용하였다 (Weisiger & Fridovich, 1973).

나) ATPase 측정용 microsome의 추출

정상 랏트의 간장, 신장 및 고환조직의 microsome은

Koch (1969)의 방법에 따라 분획원심분리 (differential centrifugation)하여 추출하였다. 즉, 앞서 기술한 바와 같이 각 조직을 잘게 썰어서 polytron 조직분쇄기 (Janke & Kunkel, Ultra-Turrax, T25)에 넣고, 0.25 M sucrose와 5 mM EDTA를 함유하는 10 mM tris-HCl 완충용액 (pH 7.4)을 10배 용량 첨가하고, 20초씩 2회 균질화하였다. 핵과 섬유질을 제거하기 위하여 1,000 x g에서 Beckman 냉동원심분리기 (Model J-21B)로 10분간 원심분리하여 그 상층액을 취하였다. 상층액을 다시 10,000 x g에서 30분 동안 냉동원심분리하여 mitochondria, lysosome, microbody 등을 제거하였다. 여기에서 얻은 상층액을 다시 Beckman Ultracentrifuge (L5-75B)로 100,000 x g에서 60분 동안 원심분리하여 그 상층액을 제거하고, 침전물을 0.25 M sucrose를 함유하는 50 mM tris-HCl용액 (pH 7.4)에 부유시킨 microsome 분획을 ATPase 활성치를 측정하는 시료로 사용하였다. 위의 모든 조작은 0~4℃에서 시행하였다.

B. *In vivo* 실험용 시료

In vitro 실험 때와 똑같으나 superoxide radical, superoxide dismutase 및 catalase의 활성도를 측정하기 위한 시료를 만들 때에 사용한 10 mM 및 50 mM tris-HCl 완충액에 0.1 mM EDTA를 첨가한 것만이 다르다.

4. 세포질내 superoxide dismutase의 확인

Cu, Zn-SOD는 cyanide에 의해서 그 활성치가 억제되나, Mn-SOD의 활성치는 억제되지 않는 성상 (Beauchamp & Fridovich, 1973)을 이용하여 랏트의 간장, 신장 및 고환조직의 세포질 분획과 mitochondria 분획에 Cu, Zn-SOD와 Mn-SOD가 각각 분리 추출되었는지를 확인하였다. 즉, 0.05~3 mM의 cyanide를 첨가하였을 때 세포질 내의 SOD의 활성도는 cyanide 농도 1 mM에서 77.2%가 억제되었고, 2 mM에서 97.2%가 억제되었으며, 3 mM에서는 100% 억제되었다. 이는 1 mM cyanide에 의해서 90.5%가 억제되었다는 Salin 등(1978)의 보고, 1 mM cyanide에 의해서 92%, 그리고 3 mM에서 100% 억제되었다는 Lee 등(1981)의 보고, 그리고 2 mM·cyanide에 의해서 94% 억제되었다는 Geller & Winge (1982)의 보고와 일치하고 있다. 따라서 세포질분획 중의 Cu, Zn-SOD는 Mn-SOD의 오염없이 비교적 잘 분리 추출되었다고 볼 수 있다. Mitochondria 분획에 Cu, Zn-SOD가 잔존해 있을 가능성을 배제하기 위하여 Mn-SOD의

활성치를 측정할 때는 2 mM cyanide를 첨가하였다.

5. 측정방법

A. Superoxide radical의 측정

간장, 신장 및 고환조직의 균질액에서 생성되는 superoxide radical은 ferricytochrome C의 환원속도 변화에 따라 정량하였다 (McCord & Fridovich, 1969; Badwey & Karnovsky, 1979). 즉, 50 mM tris-HCl 완충액 (pH 7.8)과 시료의 균질액에 농도별로 카드뮴을 첨가한 혼합액을 25 °C의 물중탕에서 5분 동안 preincubation하고, 0.1 mM cytochrome C 용액을 첨가하여 3 ml가 되게하여 Beckman spectrophotometer (Model 35)를 이용하여 550 nm에서 흡광도의 변화를 2분간 관찰하였다. 이때 환원되는 cytochrome C의 양은 분자흡광계수 $E.C.=19,500/\text{min}/\text{cm}$ 로 계산하여 (Badwey & Karnovsky, 1979) nmol/mg protein으로 표시하였다.

B. Catalase의 활성치 측정

간장, 신장 및 고환 조직 균질액의 catalase 활성치는 Aebi (1974)의 방법으로 측정하였다. 즉 *in vitro* 실험에서는 50 mM tris-HCl 완충액 (pH 7.0), 그리고 *in vivo* 실험에서는 0.1 mM EDTA를 함유한 tris-HCl 완충액과 균질액에 농도별로 카드뮴을 첨가한 혼합액을 25 °C 물중탕에서 약 5분 동안 preincubation하고, 30 mM H_2O_2 를 1 ml 첨가하여 혼합액의 H_2O_2 농도가 10 mM에서 반응이 시작되게 하였다. 이때 시료에 의해 분해되는 H_2O_2 의 양을 Beckman spectrophotometer (Model 35)를 사용하여 240 nm에서 측정하고, 경과시간에 따라 H_2O_2 의 흡광도가 감소되는 것에 따라 catalase의 활성치를 분자흡광계수 ($E.C.=39.43/\text{min}/\text{cm}$)에 의하여 계산하고, unit/mg protein으로 표시하였다.

C. Superoxide dismutase의 활성치 측정

간장, 신장 및 고환조직 중의 superoxide dismutase의 활성치는 xanthine과 xanthine oxidase의 존재하에서 생성되는 ferricytochrome C가 환원되는 것을 억제시키는 원리를 이용한 McCord & Fridovich (1969)의 방법으로 측정하였다. 즉 *in vitro* 실험에서는 50 mM tris-HCl 완충액 (pH 7.8), *in vivo* 실험에서는 0.1 mM EDTA를 함유한 tris-HCl 완충액과 0.5 mM xanthine, 0.1 mM ferricytochrome C의 반응액에 간장, 신장 및 고환의 세포질에서 추출한 SOD와 농도별 카드뮴 용액을 첨가하고, 25

°C 물중탕에서 5분 동안 preincubation한 후, xanthine oxidase를 첨가하여 550 nm에서 흡광도가 증가하는 속도를 측정하였다. 이때 세포질의 SOD와 카드뮴을 첨가하지 않은 반응액을 공시험으로 하여 흡광도의 증가속도를 0.020/min이 되게 xanthine oxidase의 농도를 조절하였다.

Mitochondria에서 추출한 superoxide dismutase의 활성치를 측정할 때에는 세포질의 활성치를 억제하기 위하여 위와 같은 반응조건을 0.033% sodium dioxcholate, 2 mM potassium cyanide로 조정하여 측정하여 (Dryer 등, 1980; Geller & Winge, 1982) unit/mg protein으로 표시하였다. SOD의 활성치 1 unit는 ferricytochrome C의 환원속도를 50% 억제시키는 효소량을 말한다.

D. ATPase의 활성치 측정

Kang & Lee (1976)와 Phillips & Hayes (1977)의 방법으로 측정하였다. 즉, 반응액은 125 mM tris-HCl 완충액 (pH 7.4)에 NaCl 100 mM, KCl 20 mM, MgCl_2 5 mM이 되도록 조정한 다음, 1 ml를 간장, 신장 및 고환에서 추출한 일정량의 microsome 분획 및 0.05~3.0 mM 범위의 각 농도별 카드뮴 용액과 잘 섞어서 37 °C 물중탕에서 10분 동안 preincubation하여 첨가한 카드뮴을 시료 중의 ATPase와 반응토록 하였다. *In vivo* 실험에서는 microsome 분획만을 넣고 preincubation하였다. Preincubation한 다음, ATP를 3 mM 농도가 되도록 첨가하고 37 °C 물중탕에서 정확히 10분 동안 반응시키고, 반응액에 11.67% HClO 0.4 ml와 미리 냉각시킨 증류수 1 ml를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응이 끝난 시료를 3,000 rpm으로 10분 동안 원심분리하여 상층액을 취하여 유리된 무기인 (Pi)을 Fiske & Subbarow (1925)의 방법으로 측정하여 $\mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 를 산출하여 총 ATPase 활성치로 하였다. 이상의 조작과정에서 반응액을 preincubation 하기 전에 ouabain 2 mM을 첨가하였을 때 생성된 무기인 (Pi)을 측정하는 것을 ouabain-insensitive (Mg^{++} -) ATPase의 활성치로 하였고, 총 활성치에서 ouabain-insensitive (Mg^{++} -) ATPase의 활성치를 뺀 값을 구하여 ouabain에 의해서 억제되는 ATPase 활성치 즉, ouabain-sensitive (Na^+ , K^+ -) ATPase의 활성치로 하였다. ATPase의 활성치는 3회 측정된 평균값을 표시하였다.

6. 단백질의 정량

간장, 신장 및 고환조직의 microsome 분획에 함유된 단백질량은 Lowry 등 (1951)의 방법으로 정량하였으며, bovine serum albumin을 표준단백질로 사용하였다.

7. 자료의 정리

자료의 정리 및 통계처리는 Dbase III Plus, Lotus 123 등 package programs을 써서 IBM PC로 하였다.

III. 연구 결과

1. Superoxide radical (O_2^-)의 생성

랫트의 간장, 신장 및 고환의 정상조직 균질액에 0.05 ~ 0.50 mM의 카드뮴을 첨가하였을 때 첨가한 카드뮴의 농도에 따라 각조직에서 생성된 superoxide radical은 Fig. 1과 같다. 즉, 정상랫트의 간장 균질액에서의 superoxide radical의 생성은 1.75 ± 0.72 nmol / mg protein / min였고, 시험관 내에 카드뮴 0.05 mM을 첨가하면 3.85 ± 0.31 nmol /

mg protein / min, 0.1 mM을 첨가하면 7.69 ± 0.61 nmol / mg protein / min, 0.2 mM을 첨가하면 16.76 ± 0.92 nmol / mg protein / min로 급격하게 증가하나 0.3 mM을 첨가하면 그 증가율은 둔화되어 18.56 ± 1.31 nmol / mg protein / min로 최고치를 나타내어 대조군에 비해서 약 10.6배로 증가하였다.

정상 랫트의 신장 균질액에서의 superoxide radical의 생산량은 4.55 ± 0.46 nmol / mg protein / min였고, 카드뮴을 첨가하면 0.05 mM에서 5.15 ± 0.36 nmol / mg protein / min, 그리고 0.20 mM에서 6.01 ± 0.71 nmol / mg protein / min로 대조군에 비하여 1.3배의 증가에 지나지 않았고, 카드뮴 첨가량에 따른 superoxide radical의 생산량은 큰 변화가 없었다.

정상 랫트의 고환조직 균질액의 superoxide radical은 7.79 ± 0.56 nmol / mg protein / min였으나 카드뮴을 첨가하면 간 조직에서와 마찬가지로 0.05 mM에서 9.15 ± 0.66 nmol / mg protein / min, 0.1 mM에서 11.70 ± 0.56 nmol / mg protein / min, 0.2 mM에서 16.69 ± 0.90 nmol / mg protein / min, 0.3 mM에서 19.61 ± 1.18 nmol / mg protein / min로 급격한 증가를 나타냈고, 0.50 mM에서 그 증가율

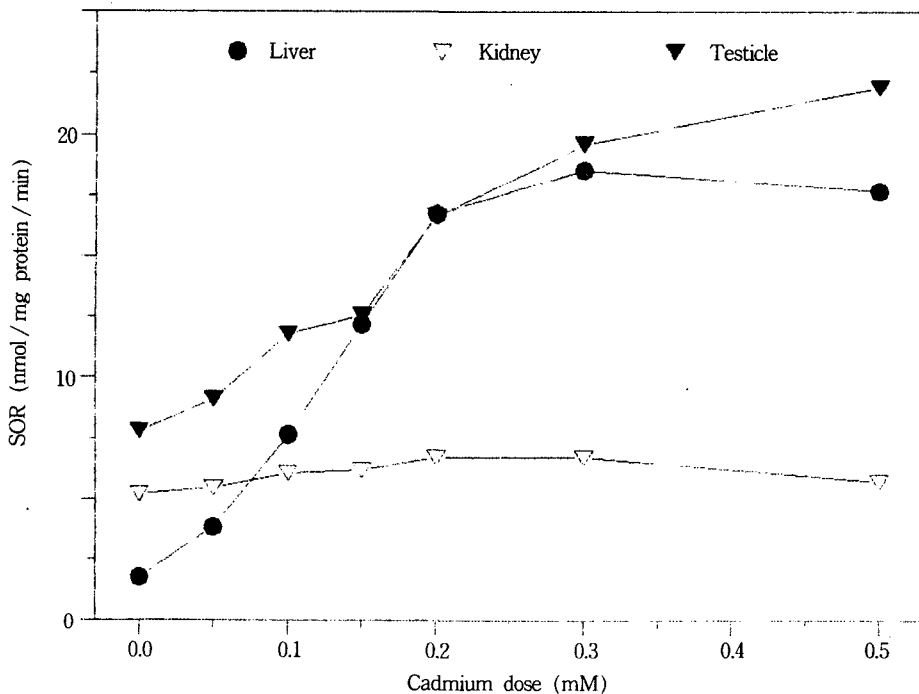


Fig. 1. Concentration of superoxide radical (nmol / mg protein / min) in liver, kidney and testicle of rats treated with different concentrations of cadmium chloride solution *in vitro*.

은 감소하였으나, 21.92 ± 0.57 nmol/mg protein/min로써 최고치를 나타내었다. 그러나 그 증가율은 대조군에 비해서 2.8배에 지나지 않았다.

염화카드뮴 0.1% 식염수 용액으로 체중 kg당 5mg씩의 카드뮴을 복강내로 주사하고, 48시간 후에 측정된 *in vivo* 실험에서 간장, 신장 및 고환 조직에서 superoxide radical의 생산량은 Fig. 2와 같다. 즉, 간장 조직에서는 7.74 ± 1.18 nmol/mg protein/min, 신장 조직에서는 7.46 ± 0.97 nmol/mg protein/min로 모두 대조군보다 약간 증가하였으나 고환 조직의 superoxide radical은 대조군에서 5.00 ± 0.77 nmol/mg protein/min이던 것이 전혀 검출되지 않았다.

2. Superoxide dismutase의 활성도

A. 세포질 내의 superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD)의 활성도

정상 랫트의 간장, 신장 및 고환 조직의 균질액에 0.05~0.30 mM의 카드뮴을 첨가하였을 때 세포질 내에 있는 Cu, Zn-SOD의 활성도는 Fig. 3과 같다. 즉 정상 랫트의 간장에서 6.22 ± 0.37 units/mg protein, 신장에서 6.54 ± 0.36 units/mg protein으로 비슷하였고, 고환에서

는 4.31 ± 0.56 units/mg protein였다. 카드뮴 0.05 mM을 첨가하면 간장에서 3.86 ± 0.44 units/mg protein으로 약 38% 억제되었고, 신장에서 4.85 ± 0.58 units/mg protein으로 약 25%가 억제되었으며, 고환에서는 1.93 ± 0.17 units/mg protein으로 약 55%가 억제되었다. 카드뮴 0.10 mM을 첨가하면 간장에서 2.88 ± 0.51 units/mg protein으로 약 54%, 신장에서 4.01 ± 0.27 units/mg protein으로 약 47%, 그리고 고환에서 1.39 ± 0.39 units/mg protein으로 약 68% 대조군에 비해서 억제되었다. 0.20 mM을 첨가하면 간장에서 0.04 ± 0.08 units/mg protein으로 약 99%, 신장에서 2.60 ± 0.30 units/mg protein으로 약 60%가 억제되었으며, 고환에서는 0.25 ± 0.20 units/mg protein으로 94%가 억제되었다. 카드뮴을 0.30 mM 첨가하면 간장에서는 Cu, Zn-SOD가 전혀 검출되지 않았으며, 신장에서 1.52 ± 0.39 units/mg protein으로 약 87%가 억제되었고, 고환에서 0.12 ± 0.27 units/mg protein으로 거의 100% 억제되었다.

카드뮴 5 mg/kg body wt를 *in vivo*로 주사하였을 때의 세포질 내의 Cu, Zn-SOD의 활성도는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 간장에서 6.27 ± 0.81 units/mg protein으로 대조군의 5.99 ± 0.78 units/mg protein과 차이가 없

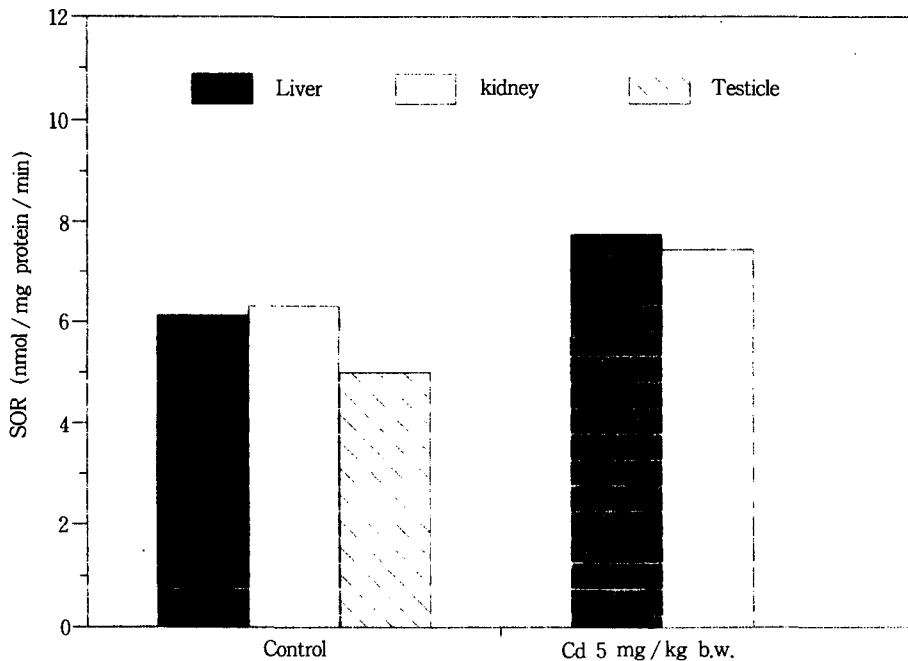


Fig. 2. Concentration of superoxide radical (nmol/mg protein/min) in liver, kidney and testicle of rats treated with cadmium 5 mg/kg body weight 48 hours prior to experiment *in vivo*.

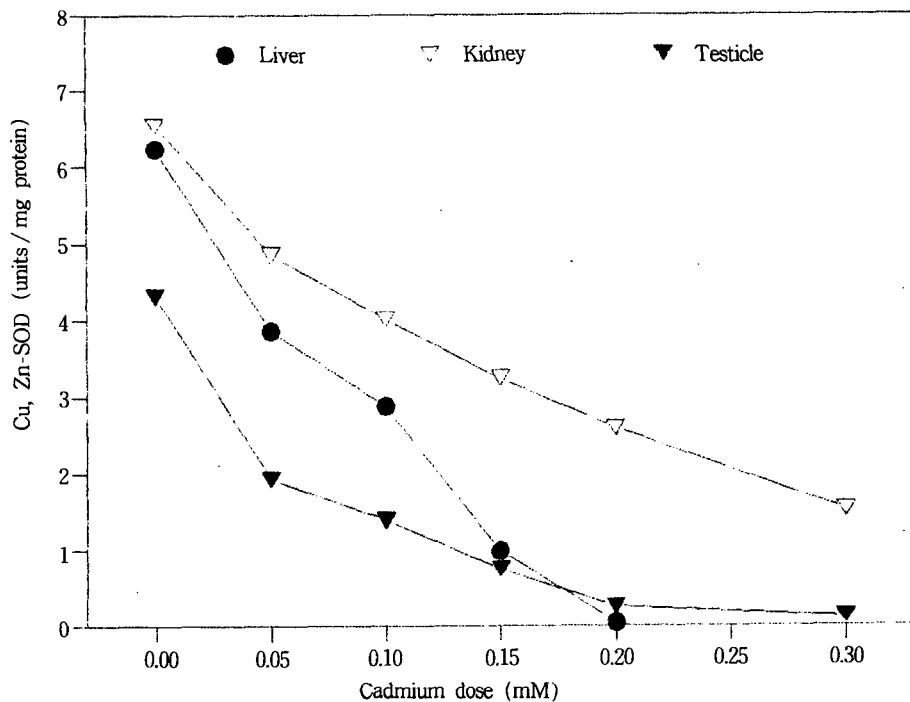


Fig. 3. Cytosolic superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) activity (units/mg protein) in liver, kidney and testicle of rats treated with different concentrations of cadmium chloride solution *in vitro*.

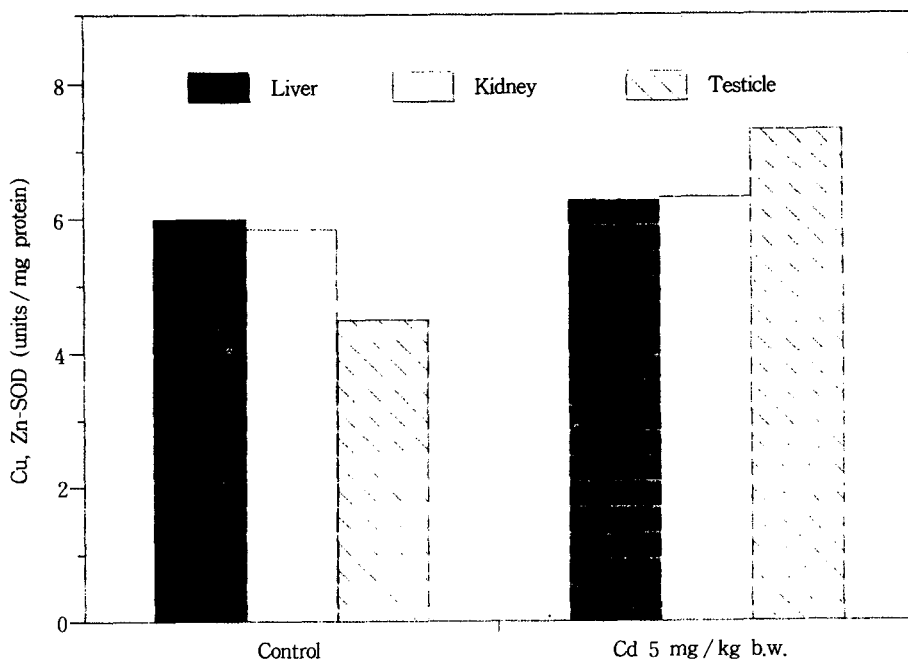


Fig. 4. Cytosolic superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) activity (units/mg protein) in liver, kidney and testicle of rats treated with cadmium 5 mg/kg body weight prior to experiment *in vivo*.

었고, 신장에서는 6.30 ± 0.52 units/mg protein으로 간에
서와 마찬가지로 대조군에서의 5.88 ± 0.55 units/mg protein
과 차이가 없었다. 그리고 고환 세포질 내의 Cu, Zn-SOD
활성도는 7.30 ± 0.83 units/mg protein으로 대조군에서
의 4.50 ± 0.58 units/mg protein보다 오히려 약 60%가
증가하였다.

B. Mitochondria 내의 superoxide dismutase (Mn-SOD) 활성도

정상 랫트의 간장, 신장 및 고환세포에서 추출한 mitochondria
에 0.1~1.2 mM의 카드뮴을 첨가하였을 때의 Mn-SOD
의 활성도는 각각 2.99 ± 0.10 units/mg protein, $2.26 \pm 0.$
 05 units/mg protein, 그리고 2.37 ± 0.07 units/mg protein
였다 (Fig. 5). 이때 카드뮴 0.1 mM을 첨가하면 간장에
서는 Mn-SOD 활성도가 3.61 ± 0.31 units/mg protein로
약간 증가하는 듯 하였으나 그 이상의 카드뮴을 첨가하
면 Mn-SOD는 억제되어 1.2 mM 농도에서 0.56 ± 0.08
units/mg protein으로 약 81%가 대조군에 비해서 억
제되었다. *In vivo* 실험 (Fig. 6)에서 간장의 Mn-SOD
활성도는 2.63 ± 0.57 units/mg protein으로 대조군에서

의 2.49 ± 0.52 units/mg protein과 차이가 없었고, 신장
에서는 2.47 ± 0.53 units/mg protein으로 간장에서와 마
찬가지로 대조군에서의 2.49 ± 0.36 units/mg protein과
차이가 없었으며, 고환에서의 Mn-SOD의 활성도는 1.66
 ± 0.57 units/mg protein으로 대조군의 2.53 ± 0.45 units/
mg protein에 비해서 그 활성도가 약 35% 억제되었다.

3. Catalase의 활성도

랫트의 간장, 신장 및 고환조직의 균질액에 0.1~50.
0 mM의 카드뮴을 첨가하면 각 조직 균질액 내의 catalase
활성도는 카드뮴 첨가량의 증가에 따라 억제되는 경향을
나타내었다 (Fig. 7).

정상 랫트의 간장 및 신장 균질액에서의 catalase 활
성도는 196.53 ± 11.30 units/mg protein과 213.85 ± 7.36
units/mg protein인데 비하여 고환조직 균질액에서의
catalase 활성도는 5.98 ± 0.57 units/mg protein로써 월
등하게 낮았다. 간장의 균질액에서 0.10 mM의 카드뮴을
첨가하면 catalase의 활성도는 183.43 ± 8.36 units/mg
protein, 0.50 mM을 첨가하면 151.36 ± 3.57 units/mg protein,
1.00 mM을 첨가하면 141.87 ± 2.48 units/mg protein, 5.

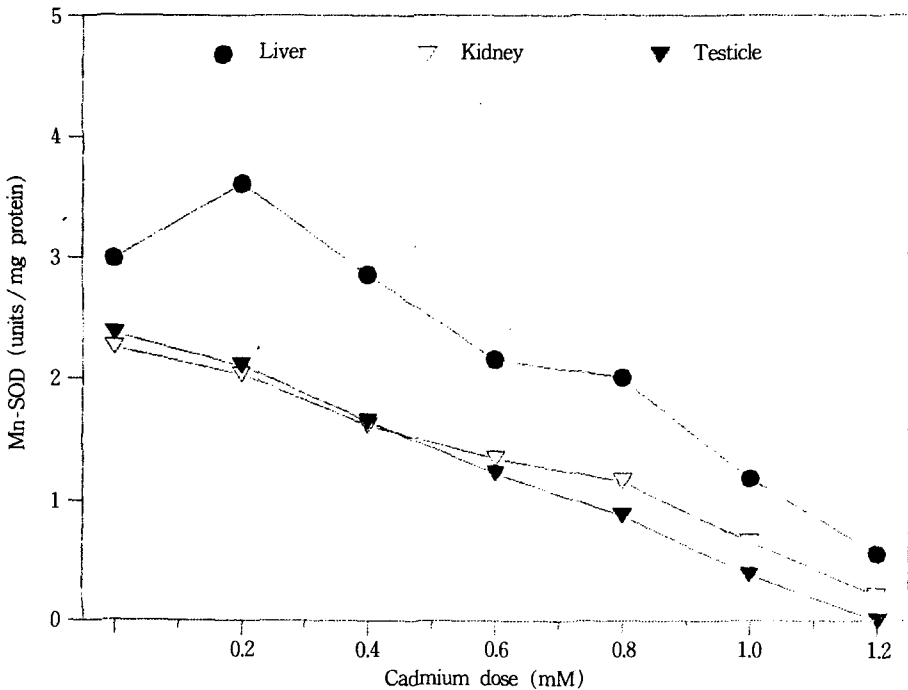


Fig. 5. Mitochondrial superoxide dismutase (Mn-SOD) activity (units/mg protein) in liver, kidney and testicle of rats treated with different concentrations of cadmium chloride solution *in vitro*.

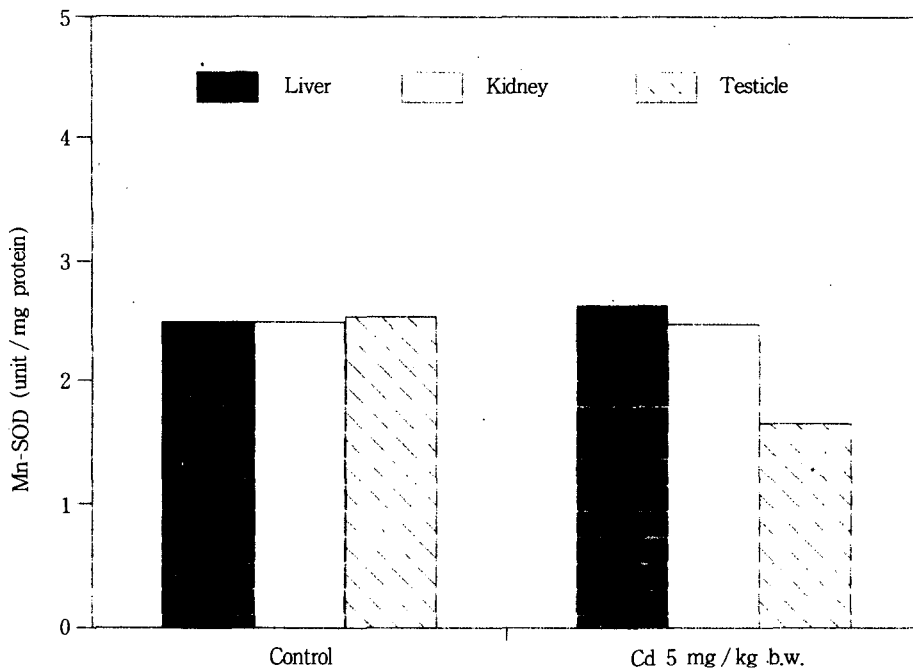


Fig. 6. Mitochondrial superoxide dismutase (Mn-SOD) activity (units/mg protein) in liver, kidney and testicle of rats treated with cadmium 5 mg/kg body weight 48 hours prior to experiment *in vivo*.

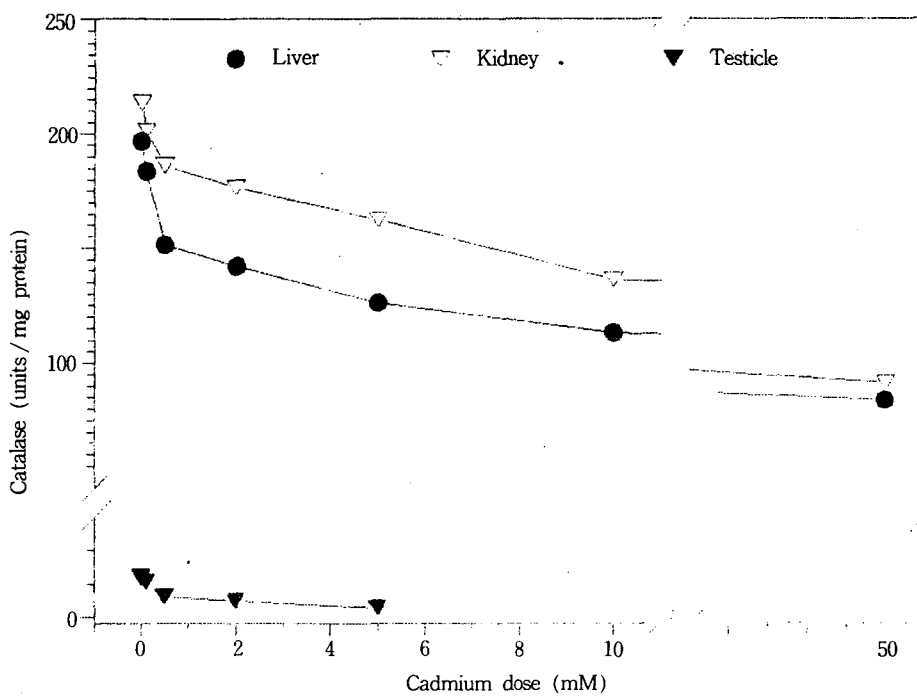


Fig. 7. Catalase activity (units/mg protein) in liver, kidney and testicle of rats treated with different concentrations of cadmium chloride solution *in vitro*.

00 및 10.00 mM을 첨가하면 각각 126.06 ± 4.90 units / mg protein과 112.95 ± 8.80 units / mg protein, 그리고 50 mM을 첨가하면 83.58 ± 9.04 units / mg protein으로 대조군에 비해서 57.5% 억제되었다. 신장 조직에서의 catalase 활성도는 간장 조직에서 보다 일반적으로 높으며, 카드뮴 0.10 mM을 첨가하면 201.07 ± 7.50 units / mg protein이던 것이 카드뮴 첨가량이 많아질수록 catalase 활성도는 간장조직에서와 같은 양상으로 점차로 억제되어 50 mM을 첨가하면 91.09 ± 4.56 units / mg protein로써 대조군에 비해서 약 58% 억제되었다. 고환 조직에서의 catalase 활성도는 5.22 ± 0.26 units / mg protein으로 억제되었고, 카드뮴 첨가량이 많아질수록 catalase 활성도는 간장과 신장 조직에서와 마찬가지로 억제되며, 5.0 mM의 카드뮴을 첨가하면 1.37 ± 0.36 units / mg protein으로 대조군의 약 77%가 억제되었고, 10.0 mM의 카드뮴을 첨가하면 catalase 활성도는 100% 억제되었다.

In vivo 실험에서는 Fig. 8에서 보는 바와 같이 간장 조직에서의 catalase 활성도는 123.48 ± 19.76 units / mg protein으로 대조군에서의 192.73 ± 26.36 units / mg protein

보다 약 35%가 억제되었고, 신장 조직에서는 155.86 ± 16.65 units / mg protein으로 대조군에서의 활성도 225.14 ± 14.41 units / mg protein에 비해서 약 58%가 억제되었다. 고환 조직에서의 catalase 활성도는 30.58 ± 5.31 units / mg protein으로 대조군에서의 5.03 ± 0.89 units / mg protein보다 오히려 약 6배 활성화하였다.

4. Adenosine Triphosphatase (ATPase)의 활성도

각종 농도의 카드뮴을 시험관 내로 투여하였을 때 랫트의 간장, 신장 및 고환 조직의 microsome 내 ATPase의 총활성도와 2 mM의 ouabain으로 억제되는 ouabain-sensitive (Na^+ , K^+) ATPase, 그리고 ouabain으로 억제되지 않는 ouabain-insensitive (Mg^{++}) ATPase의 활성도는 Fig. 9, Fig. 10 및 Fig. 11와 같다.

정상 랫트의 간장 조직내의 microsome 분획에 존재하는 ATPase의 총활성도 (Fig. 9)는 5.83 ± 0.12 μmol / mg protein / hr였고, 신장 조직에서 35.99 ± 1.07 μmol / mg protein / hr, 그리고 고환 조직에서 46.05 ± 0.79 μmol / mg

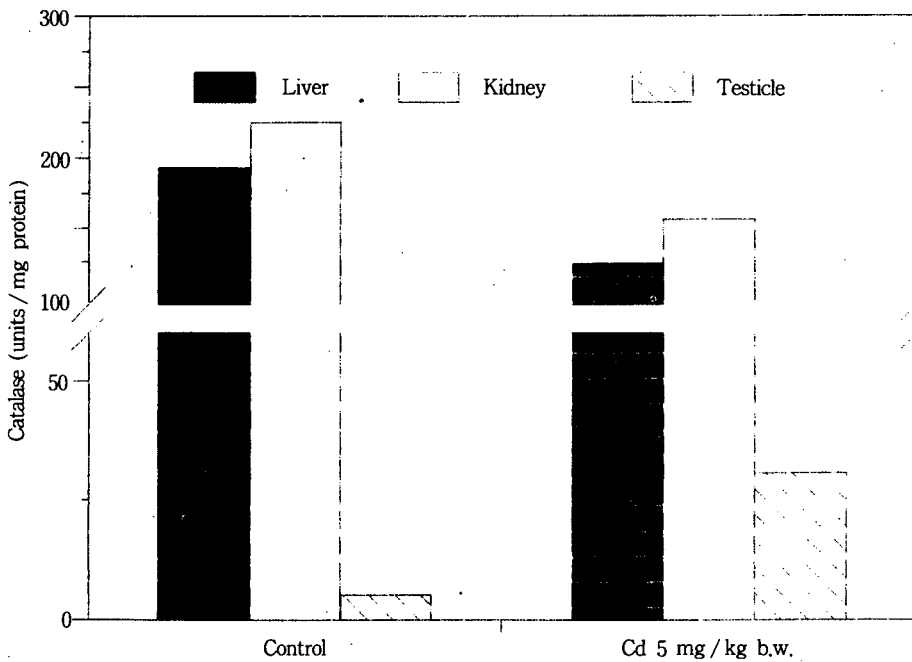


Fig. 8. Catalase activity (units / mg protein) in liver, kidney and testicle of rats treated with cadmium 5 mg / kg body weight 48 hours prior to experiment *in vivo*.

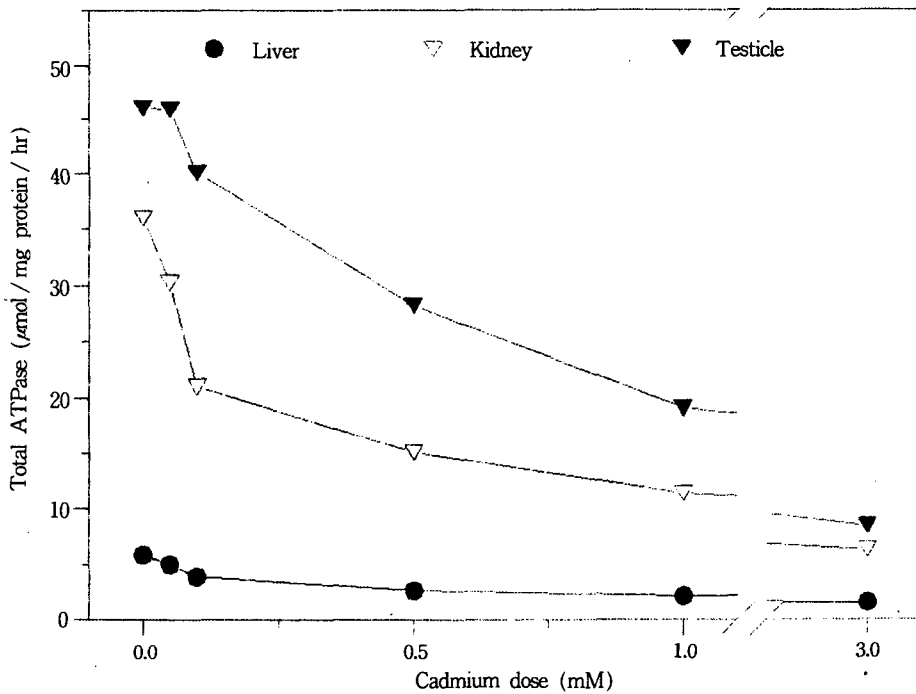


Fig. 9. Total ATPase activity ($\mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$) in microsome of liver, kidney and testicle cells of rats treated with different concentrations of cadmium chloride solution *in vitro*.

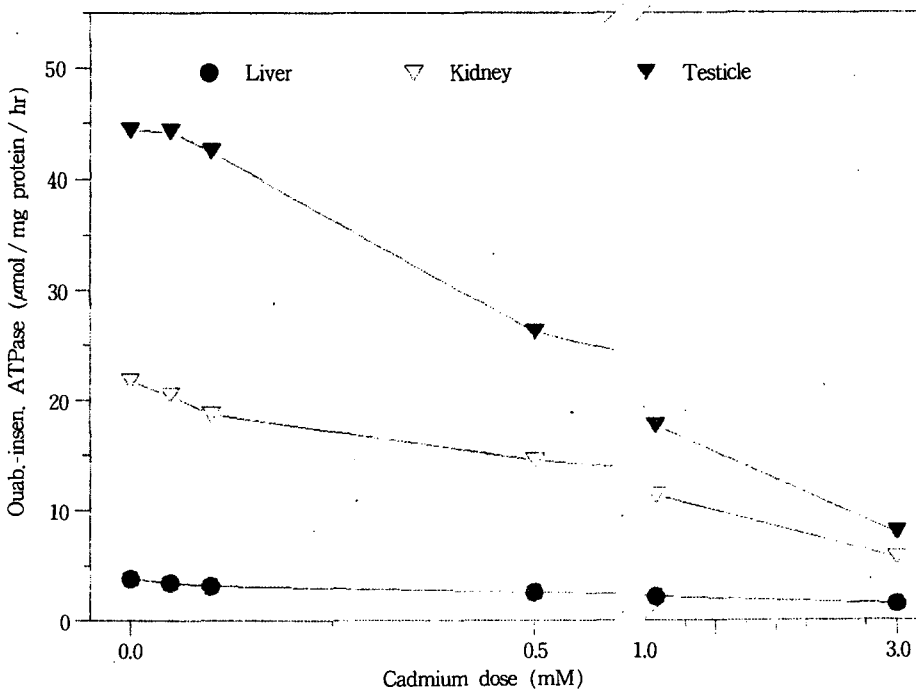


Fig. 10. Ouabain-insensitive ATPase activity ($\mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$) in microsome of liver, kidney and testicle cells of rats treated with different concentrations of cadmium chloride solution *in vitro*.

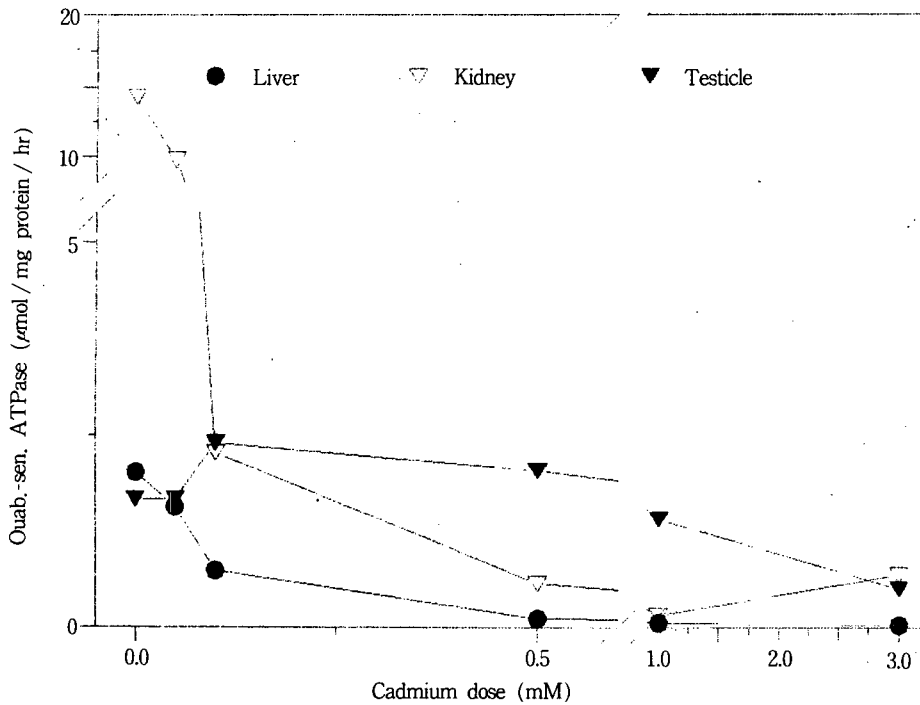


Fig. 11. Ouabain-sensitive ATPase activity ($\mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$) in microsome of liver, kidney and testicle cells of rats treated with different concentrations of cadmium chloride solution *in vitro*.

protein/hr으로 교환 속에 가장 많았으며, 간장 및 신장 조직 내의 ATPase 총활성도는 각각 교환 조직내의 총활성도의 12.7%와 77.6%에 해당한다.

간장에서 추출한 microsome 분획에 0.05~3.0 mM의 카드뮴을 첨가하면 ATPase 활성도는 첨가한 카드뮴 농도의 증가에 따라 억제되었다. 즉 카드뮴 농도가 0.05 mM인 때 ATPase의 총활성도는 $4.95 \pm 0.08 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 대조군에 비해서 15.1% 억제되었고, 0.1 mM에서 $3.87 \pm 0.11 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로 33.6%, 0.5 mM에서 $2.63 \pm 0.03 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 으로 54.9%, 1.0 mM에서 $2.18 \pm 0.02 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 62.6%, 3.0 mM에서 $1.54 \pm 0.02 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 73.6%가 억제되었다.

신장 조직 내의 ATPase 활성도는 간장 조직 내의 ATPase 활성도에 비해서 6~7배 높았고, 0.05~3.0 mM의 카드뮴을 첨가하면 ATPase 활성도는 첨가한 카드뮴량의 증가에 따라 억제되었다. 즉 카드뮴 농도가 0.05 mM인 때 ATPase의 총활성도는 $30.24 \pm 0.62 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 대조군에 비해서 16.0%가 억제되었고, 0.10 mM에

서 $21.02 \pm 0.59 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 46.6%, 0.50 mM에서 $15.11 \pm 0.81 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 58.0%, 1.00 mM에서 $11.48 \pm 0.61 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 68.1%, 3.00 mM에서 $6.31 \pm 0.10 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 82.5%가 억제되었다.

교환 조직에서 추출한 microsome 분획에 0.05~3.0 mM의 카드뮴을 첨가하면 ATPase 활성도는 역시 첨가한 카드뮴농도의 증가에 따라 억제되었다. 즉, 카드뮴 0.05 mM을 첨가하면 ATPase의 총활성도는 $45.92 \pm 1.15 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 대조군과 비슷하였으나, 0.10 mM에서 $40.10 \pm 1.33 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 12.9%, 0.50 mM에서 $28.25 \pm 0.55 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 38.6%, 1.00 mM에서 $19.07 \pm 0.57 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 58.6%, 그리고 3.00 mM에서 $8.40 \pm 0.20 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 91.8%가 억제되었다.

Ouabain-insensitive (Mg^{++}) ATPase의 활성도는 Fig. 10에서 보는 바와 같이 간장에서 $3.82 \pm 0.06 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 총활성도의 65.5%를 차지하였으며, 신장 조직에서 $21.72 \pm 0.30 \mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$ 로써 총활

성도의 60.4%를, 그리고 고환조직에서 $44.38 \pm 0.83 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 총활성도의 96.4%를 차지하였다.

간장, 신장 및 고환 조직에서 추출한 microsome에 0.05~3.0 mM의 카드뮴을 첨가하였을 때 각 조직내의 ouabain-insensitive ATPase의 활성도를 보면 간장에서는 0.05 mM에서 $3.39 \pm 0.13 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 대조군에 비해서 그 활성도는 11.3% 억제되었고, 0.10 mM에서 $3.13 \pm 0.02 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 18.1%, 0.50 mM에서 $2.52 \pm 0.10 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 34.0%, 1.00 mM에서 $2.12 \pm 0.02 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 44.5%, 그리고 3.00 mM에서 $1.51 \pm 0.04 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 60.7%가 억제되었다.

신장에서는 카드뮴 0.05 mM에서 ouabain-insensitive ATPase 활성도는 $20.53 \pm 0.35 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 대조군에 비하여 그 활성도가 5.5% 억제되었고, 0.10 mM에서 $18.75 \pm 0.35 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 13.7%, 0.50 mM에서 $14.53 \pm 0.39 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 33.1%, 1.00 mM에서 $11.33 \pm 0.06 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 47.8%, 그리고 3.00 mM에서 $5.63 \pm 0.19 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 74.1%가 억제되었다.

고환 조직 내의 ATPase는 주로 ouabain-insensitive ATPase였으며, 카드뮴 0.05~3.00 mM을 첨가하였을 때의 활성도의 억제양상은 총활성도의 그것과 비슷하였다.

Ouabain-sensitive (Na^+ , K^+) ATPase의 활성도는 Fig. 11에서 보는 바와 같이 정상 랫드의 간장 조직에서는 $2.01 \pm 0.15 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 총활성도의 34.4%를 차지하였고, 신장 조직에서 $14.27 \pm 0.80 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 총활성도의 39.7%, 그리고 고환 조직에서는 $1.67 \pm 1.46 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 총활성도의 3.6%에 지나지 않았다.

간장 조직에서 추출한 microsome 분획에 0.05 mM의 카드뮴을 첨가하면 그 활성도는 $1.56 \pm 0.16 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 대조군에 비하여 22.4%가 억제되었고, 0.10 mM에서는 $0.74 \pm 0.10 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 63.2%, 0.50 mM에서는 $0.11 \pm 0.11 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 94.5%, 1.00 mM에서는 $0.06 \pm 0.20 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 97.0%, 그리고 3.00 mM에서는 $0.03 \pm 0.02 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 98.5%가 억제되었다.

신장 조직에서는 0.05 mM의 카드뮴에 의해서 ouabain-sensitive ATPase의 활성도는 $9.71 \pm 0.69 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 대조군에 비해서 32.0%가 억제되었고, 0.10 mM

에서 $2.27 \pm 0.84 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 84.1%, 0.5 mM에서 $0.57 \pm 0.46 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 96.0%, 1.00 mM과 3.00 mM에서는 $0.15 \pm 0.64 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 와 $0.18 \pm 0.13 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 모두 약 99%가 억제되었다.

고환 조직내의 ouabain-sensitive (Na^+ , K^+) ATPase의 활성도는 간장 조직내의 ouabain-sensitive ATPase 활성치와 비슷하였다.

복강 내로 5 mg/kg의 카드뮴을 투여하고 48시간 후에 측정된 균질액 내의 ATPase 총활성도는 간장에서 $4.96 \pm 0.59 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$, 신장에서 $14.52 \pm 0.78 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$, 그리고 고환에서 $4.21 \pm 0.40 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로써 간장과 신장 조직에서는 모두 대조군에서의 $4.96 \pm 0.44 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 및 $14.52 \pm 0.74 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 와 같았으나, 고환 조직에서는 대조군에서의 $24.13 \pm 6.24 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 에 비해서 현저하게(약 83%) 억제되었다 (Fig. 12).

Ouabain-sensitive ATPase의 활성도는 간장과 신장 조직에서는 각각 $0.77 \pm 0.25 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 와 $5.07 \pm 0.75 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로 대조군의 $0.70 \pm 0.18 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 와 $5.00 \pm 0.70 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 와 같았고, 고환 조직에서는 간장 및 신장 조직에서와는 달리 카드뮴 투여군이나 대조군에서 다같이 검출되지 않았다 (Fig. 13).

Ouabain-insensitive ATPase의 활성도는 간장에서 $4.20 \pm 0.55 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$, 신장에서 $9.45 \pm 0.34 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$, 그리고 고환에서 $4.25 \pm 0.46 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 로 간장과 신장 조직에서는 대조군에서의 $4.26 \pm 0.38 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 와 신장 조직에서의 $9.57 \pm 0.39 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 와 같았으나, 고환 조직에서는 대조군의 $23.37 \pm 6.01 \mu\text{mol} / \text{mg protein} / \text{hr}$ 와 비교하여 약 82% 억제되었다 (Fig. 14).

IV. 고 찰

최근 카드뮴에 의해서 세포내에서 superoxide anion의 생성이 촉진된다는 것이 Sajiki 등 (1981), Amoruso 등 (1982), Hussain 등 (1987) 등에 의해서 *in vitro*와 *in vivo* 실험으로 밝혀졌다. 그러나, 생성된 superoxide anion 및 catalase의 활성도는 동일한 개체 내에서도 카드뮴의 흡수경로에 따라서 다를 뿐 아니라 이로 인한 조직손상의

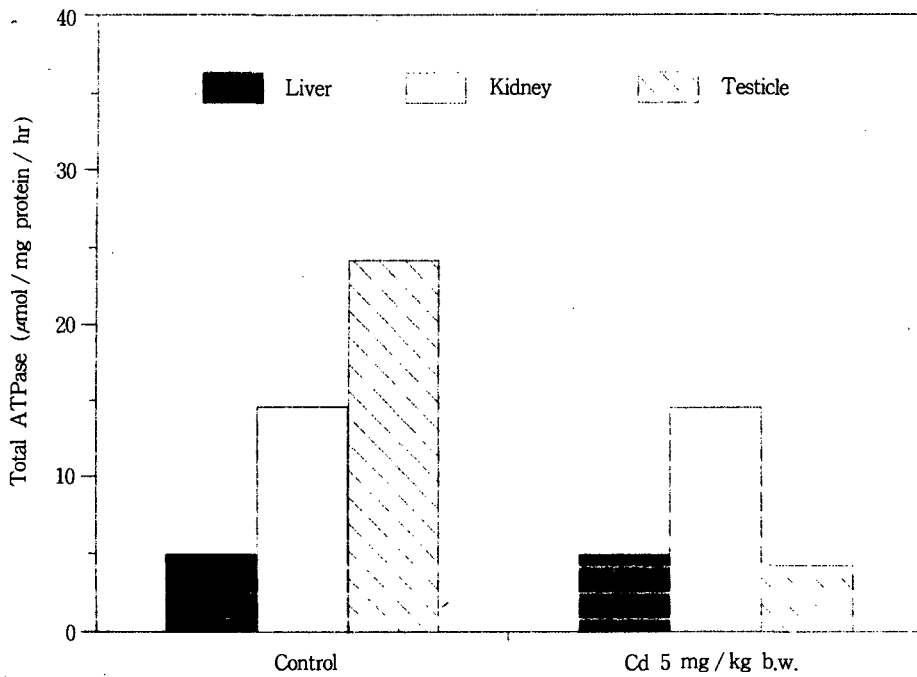


Fig. 12. Total ATPase activity ($\mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$) in liver, kidney and testicle tissues of rats treated with cadmium 5 mg/kg body weight 48 hours prior to experiment *in vivo*.

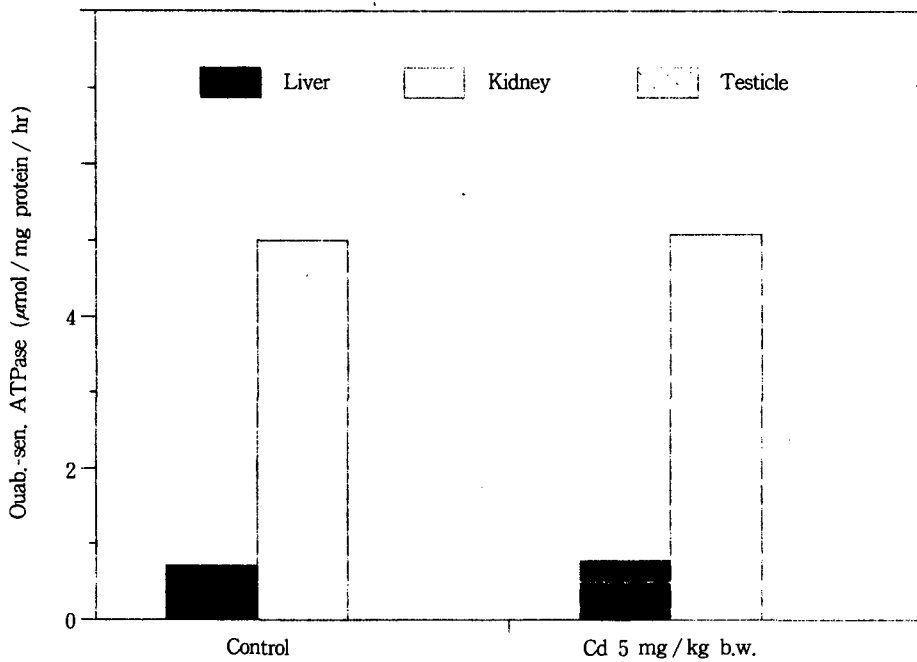


Fig. 13. Ouabain-sensitive ATPase activity ($\mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$) in liver, kidney and testicle tissues of rats treated with cadmium 5 mg/kg body weight 48 hours prior to experiment *in vivo*.

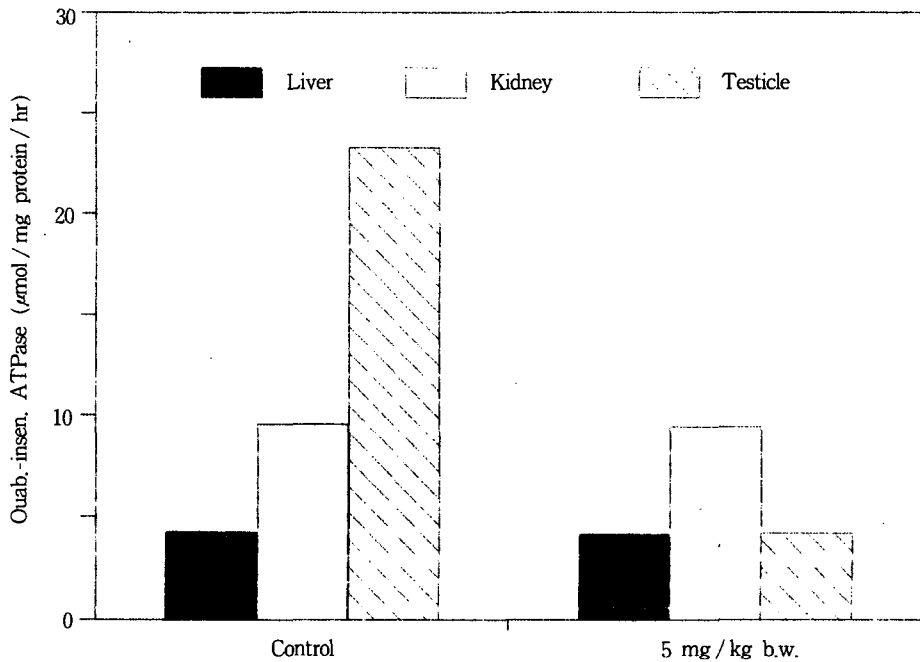


Fig. 14. Ouabain-insensitive ATPase activity ($\mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{hr}$) in liver, kidney and testicle tissues of rats treated with cadmium 5 mg/kg body weight 48 hours prior to experiment *in vivo*.

정도가 장기에 따라 다른 것은 각 조직에 있는 SOD와 catalase의 카드뮴에 대한 내성이 다르기 때문이라고 알려져 있다 (Parizek & Zahor, 1956; Cross 등, 1979; Sajiki 등, 1981; Prasada, 1983; Minami 등, 1982; Das 등, 1987; Hussain 등, 1987; 정규철 등, 1988).

Sajiki 등 (1983)은 카드뮴을 랫트의 복강내로 주입하였을 때 간장에서 superoxide radical (SOR)의 생성이 증가되지 않는다고 보고한 바 있으나, 본 실험에서 카드뮴을 복강내로 투여한 *in vivo* 실험에서 간장과 신장에서는 비록 그 정도가 *in vitro* 실험에 비해서 적기는 하지만 SOR의 생성이 증가되었고, 고환에서는 SOR의 생성이 억제되었다 (Fig. 2). 한편 랫트의 간장, 신장 및 고환 조직의 균질액에 0.05~0.50 mM의 카드뮴을 작용시킨 *in vitro* 실험에서는 첨가한 카드뮴의 농도에 따라 SOR의 생성량은 대조군에 비해서 간장 조직에서 약 10배, 고환조직에서 약 3배 증가하였고, 신장 조직에서는 1.2배 가량 증가하여 그 증가량은 조직에 따라 차이를 나타내고 있다 (Fig. 1). 즉, 간장과 신장 조직에서의 SOR 생성은 카드뮴을 *in vitro*와 *in vivo*로 작용시킬 때 다같이 증가하였으나, 고환 조직에서는 카드뮴을 *in vitro*와

*in vivo*로 작용시킬 때 그 반응 양상을 달리하여 전자에서는 현저한 증가를 나타냈으나 후자에서는 SOR이 전혀 검출되지 않았다.

Din & Frazier (1985)는 랫트의 간장 세포를 분리배양하여 카드뮴을 첨가하면, 첨가한 카드뮴 농도에 따라 간장 세포에서의 단백질합성이 억제된다고 보고하였으며, Sajiki 등 (1983)은 5.0 mg/kg의 CdCl_2 를 랫트의 복강내로 투여하였을 때 간장 조직의 단백질이 대조군에 비해서 유의하게 감소하였고, 고환의 단백질은 더욱 현저하게 감소하였다고 한다. 카드뮴에 의하여 단백질 합성이 저하되는 것은 카드뮴이 polyribosome을 분해하여 RNA의 기능을 억제함으로써 초래될 수 있으며 (Gamulin 등, 1977), 카드뮴에 의해서 생성된 SOR이 지질과산화반응을 일으켜서 endoplasmic reticulum에 손상을 입히기 때문에 단백질합성이 억제되기도 하고 (Stacey 등, 1980), 또한 SOR이 직접적으로 산화반응을 일으키는 것 (Davies, 1987) 등으로 설명할 수 있다.

카드뮴에 의해서 SOR이 생성됨에 따라서 superoxide dismutase (SOD)의 활성도가 변동되는 양상을 보면 신장 조직에서의 Cu, Zn-SOD와 Mn-SOD 활성도는 간장

이나 고환 조직에 비하여 높았다. 간장 조직에서의 Cu, Zn-SOD의 활성도는 신장 조직에서의 활성도에 비하면 약간 낮으며, SOR의 생성량에 비례하여 감소하였고, 고환 조직에 있어서도 Cu, Zn-SOD의 활성치는 간장조직에서와 마찬가지로 SOR의 생성량에 비례하여 감소하였다.

카드뮴 투여량에 따른 Mn-SOD 활성도의 변화양상은 Cu, Zn-SOD와 비슷하지만 그 활성도는 Cu, Zn-SOD의 약 50%에 지나지 않았다. 이러한 사실은 Cu, Zn-SOD는 Mn-SOD 보다도 소량의 카드뮴에 의해서 억제될 뿐 아니라 카드뮴 투여량에 따라 예민한 반응을 나타냈다는 Klaassen (1986)의 보고와 일치한다. 그러나 신장 조직에서는 Cu, Zn-SOD의 활성도가 간장과 고환조직에서 보다 높았으며, Mn-SOD의 활성도는 반대로 가장 낮았다는 점은 주목할 만한 것으로 이들 SOD의 생화학적 작용기전에 대하여 검토할 필요가 있다고 생각한다.

Catalase의 활성도는 SOD와 마찬가지로 첨가된 카드뮴의 농도의 증가에 따라 억제되었다. 각 장기의 균질액에 함유된 catalase의 활성도는 간장과 신장에서 서로 비슷하며, 카드뮴 농도가 높아질수록 서서히 억제되어 50 mM에서 대조군보다 약 60% 억제되었는데 비하여 고환 조직에서는 대조군에서 catalase의 활성도가 6 unit / mg protein으로 간장과 신장 조직에서의 활성도의 1/60 ~ 1/70에 지나지 않을 뿐 아니라 카드뮴 5 mM 농도에서 이미 대조군 보다 catalase의 활성도가 약 80% 억제되었고, 10 mM 농도에서는 전혀 검출되지 않았다. 이러한 점으로 미루어 볼 때 신장에서 카드뮴의 농도에 따라 SOD 생성량에 변화가 나타나지 않는 것은 카드뮴에 의해서 생성된 SOR이 SOD 특히 Mn-SOD 보다도 Cu, Zn-SOD에 의해서 효과적으로 처리되어 H₂O₂로 변화되고, 이때 생성된 H₂O₂는 다시 catalase에 의해서 H₂O로 분해되는 생체방어기전이 효과적으로 이루어지기 때문이라고 생각한다. 이에 반해서 고환 조직에서는 카드뮴에 의해서 생성된 SOR이 SOD, 특히 Cu, Zn-SOD의 활성도가 간장이나 신장 조직에서 보다 낮을 뿐 아니라 catalase의 활성도는 현저하게 낮기 때문에 카드뮴에 의해서 생성된 SOR이 SOD에 의해서 H₂O₂로 분해된 것이 다시 catalase에 의해서 H₂O와 O₂로 분해되지 못하고 조직에 손상을 입히는 것이라고 생각된다.

ATPase (adenosine triphosphatase)는 동물세포의 세포막에 존재하며, ATP의 마지막 인산기가 가수분해될

때 생기는 energy에 의해서 세포에서 이온을 능동적으로 이동시키는 역할을 한다 (Post 들, 1960). Na⁺, K⁺-ATPase는 1957년 Jens Skou가 처음 발견하였으며, 세포막에 있는 ouabain에 의해서 그 활성도가 민감하게 억제되는 성질이 있다. 이것은 세포막의 안쪽면 (inner aspect)에 존재하여 sodium을 세포 밖으로 내보내고, potassium을 세포 안으로 들여오는 역할을 한다. 한편 Mg⁺⁺-ATPase는 ouabain에 의해서 그 활성도가 억제되지 않으며, 세포막의 바깥쪽면 (outer aspect)에 존재하여 칼슘 이동에 관여한다고 알려져 있다 (Schwartz 들, 1975). 세포 내에 존재하는 총 ATPase 중 Na⁺, K⁺-ATPase와 Mg⁺⁺-ATPase가 차지하는 비율은 동물의 종류에 따라 차이가 있을 뿐 아니라 (Nechay & Saunders, 1978), 같은 종류의 동물에서도 성 (Nechay & Nelson, 1970)과 장기 (Nechay & Saunders, 1978; 이종호 들, 1987)에 따라 차이가 있는 것으로 알려져 있다.

이번 연구에서도 정상 랫드의 microsome 분획에 2 mM의 ouabain을 첨가하였을 때, ouabain에 의해서 억제되지 않는 Mg⁺⁺-ATPase의 총 ATPase 활성도에 대한 비율은 간장에서 65.5%, 신장에서 60.4%였으나, 고환에서는 96.4%였다. 따라서 ouabain에 의해서 억제되는 Na⁺, K⁺-ATPase의 활성도는 간장과 신장 조직에서는 각각 총 ATPase의 34.5%와 39.6%를 차지하였고, 고환 조직에서는 3.6%에 지나지 않았으며, 동일한 개체에서도 장기에 따라서 Na⁺, K⁺-ATPase와 Mg⁺⁺-ATPase의 분포가 다르다는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 사실은 *in vivo* 실험에서도 마찬가지로여서 카드뮴에 의해서 고환 조직의 총 ATPase 활성치가 현저하게 억제되었는데 그 대부분은 Mg⁺⁺-ATPase였고, 간장과 신장 조직에 있는 ATPase는 주로 Na⁺, K⁺-ATPase였으며, 카드뮴의 영향을 받지 않았다 (Fig. 12, 13, 14).

지금까지 납, 카드뮴, 망간, 수은, 알루미늄, 구리 등의 중금속에 의해서 Mg⁺⁺ATPase 및 Na⁺, K⁺-ATPase의 활성도가 억제된다는 것이 여러 연구자들에 의한 *in vitro* 또는 *in vivo* 실험을 통해서 알려져 있다 (Hasan 들, 1967; Mustafa 들, 1971; Lai 들, 1980; Chandra 들, 1984). 이와 같이 중금속에 의해서 ATPase의 활성도가 억제되는 것은 이들 중금속이 ATPase에 함유되어 있는 sulfhydryl기와 직접 반응하기 때문인 것으로 알려져 있다 (Rifkin, 1965; Bader 들, 1970). 이 때 ATPase 활성도는 중금속의 농도가 높을수록 심하게 억제되어 비경쟁적인 억제

양상을 나타낸다 (Nechay & Saunders, 1977; Akerman 등, 1985)고 한다. 이번 연구에서도 랫트의 간장, 신장 및 고환 조직의 총 ATPase 활성도는 카드뮴의 농도가 높을수록 감소하는 경향을 보였으며 (Fig. 9, 10 & 11), 그 중에서 정상 랫트의 총 ATPase의 활성도는 고환조직에서 가장 높았고, 다음은 신장 조직이었으며, 간장 조직에서의 활성도는 신장 및 고환 조직에서의 1/6~1/8에 지나지 않았다. 카드뮴을 투여하였을 때 Mg^{++} -ATPase 활성치가 억제되는 양상은 총 ATPase와 비슷하였으며, 동일한 카드뮴 농도에서 이들 ATPase 활성도는 고환에서 가장 높았고, 다음으로 신장 조직이었으며 간장 조직에서 가장 낮았다. Na^+ , K^+ -ATPase 활성도의 억제 양상은 신장에서 가장 민감하였고, 다음은 간장 조직이었으며 고환 조직에서는 변동이 없었다.

이러한 결과는 Mg^{++} -ATPase와 Na^+ , K^+ -ATPase의 활성도가 카드뮴에 의해서 억제되는 기전이 양자간에 다르다는 것을 시사하는 것으로 볼 수 있으며, 카드뮴에 의해서 Na^+ , K^+ -ATPase의 활성도가 Mg^{++} -ATPase에 비해서 민감하게 억제되는 것은 카드뮴과 친화력이 강한 -SH기가 Mg^{++} -ATPase 보다도 Na^+ , K^+ -ATPase에 풍부하여 쉽게 카드뮴과 치환되기 때문이라고 Glynn (1963), Rifkin (1965), Badar 등 (1970) 등은 설명하고 있다. 이에 반해서 Nechay & Saunders (1978)는 Mg^{++} -ATPase의 활성도가 민감하게 억제되는 것은 고농도의 2가 금속 이온은 Mg^{++} 이온과 경쟁적으로 ATP와 결합하기 때문에 비단 ATPase의 활성도가 억제될 뿐 아니라 상대적으로 ATP의 부족현상을 초래하여 간접적으로 Mg^{++} -ATPase의 활성도를 억제한다고 하였다. 한편 Sun (1972), Gilbert & Sawas (1983), Sawas & Gilbert (1984) 등은 카드뮴에 의해서 생성된 oxygen radical은 특히 세포막의 다불포화지방산 (polyunsaturated fatty acid)에 작용하여 지질과산화물을 일으킴으로써 세포막을 손상시켜 세포막에 존재하는 ATPase의 활성도를 억제한다고 하였으며, Maridonneau 등 (1983)은 phenazine methosulfate에 의해서 생성된 oxygen radical에 의해서 적혈구의 지질과산화반응이 일어나 sodium, potassium의 능동적인 운반이 방해되는 것을 관찰하고 oxygen radical이 ATPase 활성도를 억제하는데 관여한다고 시사하였다. 그러나 Hambrecht 등 (1983)에 의하면 Na^+ , K^+ -ATPase의 활성도는 여러가지 조건하에서 생성된 oxygen radical에 의해서 억제되지 않으며, 다만 Mg^{++} -ATPase의 활성도

만이 억제되므로 oxygen radical 자체가 Mg^{++} -ATPase 활성도를 억제하는 기전으로 작용한다고 한다.

IV. 맺음말

카드뮴에 의하여 조직에서 생성되는 superoxide radical의 생성량과 이로 인한 조직손상을 막기 위한 생체방어 기전으로 생성되는 superoxide dismutase와 catalase, 그리고 에너지 대사에 중요한 역할을 하는 ATPase 활성도의 변동양상을 관찰할 목적으로 시험관 내에서 랫트의 간장, 신장 및 고환 조직의 균질액에 카드뮴을 첨가하였을 때와 복강 내로 5 mg/kg의 카드뮴을 1회 주사하여 48시간 후에 측정된 생체내 반응양상을 대조군과 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

In vitro 실험에서는 첨가된 카드뮴량의 증가에 따라 간장 및 고환 조직에서 superoxide radical의 생산량이 증가하였으나, 신장 조직에서는 뚜렷한 증가가 없었다. *In vivo* 실험에서는 간장과 신장 조직에서 비슷한 증가를 나타내어 대조군에 비하여 약간 증가하였으나 고환 조직에서는 전혀 검출되지 않았다.

In vitro 실험에서도 Superoxide dismutase의 활성도는 카드뮴의 첨가량이 많을수록 억제되었으며 그 억제율은 간장과 신장 조직에서 서로 비슷하였고 고환 조직에서는 현저하게 억제되었다. *In vivo* 실험에서는 대조군 보다 실험군에서 Cu, Zn-SOD (superoxide dismutase)의 활성도가 증가하였으며, 간장과 신장 조직 보다 고환 조직에서의 증가율이 컸다. 그러나 Mn-SOD의 활성도는 간장과 신장 조직에서는 차이가 없었으나, 고환 조직에서는 오히려 증가하였다.

In vitro 실험에서 각 조직의 균질액에 카드뮴을 첨가하면 카드뮴의 농도가 높을수록 catalase의 활성도가 억제되었다. *In vivo* 실험에서는 간장과 신장 조직에서는 카드뮴 투여군에서 catalase 활성도가 억제되었으나 고환 조직에서는 대조군 보다 카드뮴 투여군에서 catalase 활성도가 약 6배 높았다.

각 조직에 있는 ouabain-insensitive (Mg^{++} -) ATPase와 ouabain-sensitive (Na^+ , K^+ -) ATPase의 비는 조직에 따라 다르며, 간장과 신장에서는 약 1.5:1의 비율이나, 고환 조직에서는 전자가 95% 이상을 차지하였다. *In vitro* 실험에서 총 ATPase 활성도는 카드뮴 농도가 높을수록 억제되었으며, 그 억제율은 간장과 신장에서는 Na^+ , K^+ -

ATPase 활성도의 억제율이 Mg^{++} -ATPase 활성도의 억제율 보다 컸고, 고환에서는 반대로 Na^+ , K^+ -ATPase 활성도의 억제율이 Mg^{++} -ATPase 활성도의 억제율 보다 컸다. *In vivo* 실험에서는 간장과 신장 조직에서 Mg^{++} -ATPase와 Na^+ , K^+ -ATPase 활성도는 대조군과 실험군 사이에 차이가 없었으나, 고환 조직에서는 Mg^{++} -ATPase의 활성도는 대조군에 비해서 실험군에서 현저하게 감소하였고 Na^+ , K^+ -ATPase는 대조군이나 실험군에서 전혀 검출되지 않았다.

이상의 결과로 볼 때 시험관내에서 카드뮴에 의한 superoxide radical의 생성이 증가되고, 이에 따라 superoxide dismutase, catalase 및 ATPase의 활성도가 억제되는 것을 알 수 있으나, 생체내에서는 superoxide radical의 생성과 superoxide dismutase, catalase 및 ATPase 활성도의 반응양상이 시험관내 실험과 일치되지 않았다. 또한 카드뮴에 대한 반응양상은 카드뮴의 투여량 이외에도 각 조직에 따라서 선택적으로 달랐다. 즉, 카드뮴에 대한 생체내 각 기관의 손상정도가 서로 다르며, 간장, 신장 및 고환 중에서 고환의 손상정도가 더 크다는 것을 예측할 수 있었다.

참 고 문 헌

김상규, 조규상. 소량의 금속 전투여가 생쥐의 급성 카드뮴 중독에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집 1986; 69: 1129-1144

문익주. Cadmium chloride가 성숙한 흰쥐의 고환에 미치는 영향. 대한비뇨기과학회잡지 1971; 62: 25-34

박정덕, 정규철. 급성 카드뮴 중독에 의한 랫트의 간, 신 및 고환 조직의 손상에 미치는 Diethyldithiocarbamate의 방어효과. 중앙의대지 1989; 14: 187-208

오명호, 박정덕, 정규철. 시험관 내에서의 Superoxide Radical 생성과 Catalase 및 Superoxide Dismutase 활성도에 미치는 카드뮴의 영향. 중앙의대지 1989; 14: 209-219

이중연, 권년수, 이희성. 마우스 장기에서의 superoxide dismutase의 분포. 중앙의대지 1983; 8: 87-95

이중호, 이동욱, 이희성. Dicumarol이 흰쥐 조직의 superoxide dismutase와 ATPase의 활성에 미치는 영향. 중앙의대지 1988; 13: 31-43

정규철, 박정덕, 조병희. 급성 카드뮴 중독의 치사량과 혈액 및 간 조직에 미치는 영향. 중앙의대지 1988; 13: 31-43

Adams RG, Harrison JF and Scott P. *The development of cadmium induced proteinuria, impaired renal function, and osteomalacia in alkaline battery workers. Quart. J. Med.* 1969; 38: 425-443

Aebi HC. *Catalase. In Methods of Enzymatic Analysis, by Bergmeyer, H. U., 2nd ed., 1974, pp.673-678, New York, Academic Press, Inc.*

Akerman KEO, Honkaniemi J, Scott IG and Anderson LC. *Interaction of Cd with the calmodulin-activated (Ca^{++} , Mg^{++})-ATPase activity of human erythrocyte ghosts. Biochim. Biophys. Acta 1985; 845: 48-53*

Amoruso MA, Witz G and Goldstein BD. *Enhancement of rat and human phagocyte superoxide anion radical production by cadmium in vitro. Toxicol. Lett. 1982; 10: 133-138*

Bader H, Wilkers AB and Jean DH. *The effect of hydroxylamine, mercaptans, divalent metals and chelators on (Na^+ , K^+)-ATPase. A possible control mechanism. Biochim. Biophys. Acta 1970; 198: 583-593*

Badwey JA and Karnovsky ML. *Production of superoxide and hydrogen peroxide by an NADH-oxidase in guinea pig polymorphonuclear leukocytes: Modulation by nucleotides and divalent cations. J. Biol. Chem. 1979; 254: 11530-11537*

Beauchamp CO and Fridovich I. *Isozymes of superoxide dismutase from wheat germ. Biochim. Biophys. Acta 1973; 317: 50-64*

Chandra SV, Murthy RC, Husain T and Bansal SK. *Effect of interaction of heavy metals on (Na^+ , K^+)-ATPase and the uptake of 3H-DA and 3H-NA in rat brain synaptosomes. Acta Pharmacol. Toxicol. 1984; 54: 210-213*

Crapo JD and Tierney DF. *Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity. Am. J. Physiol. 1974; 226: 1401-1407*

Cross CE, Omaye ST, Rifas DC, Hasegawa GK and Reddy KA. *Biochemical effects of intratracheal instillation of cadmium chloride on rat lung. Biochem. Pharmacol. 1979; 28: 381-388*

Das M, Mukhopadhyay S, Addya S, Chakravarti K and Chatterjee GC. *Effects of in vivo cadmium administration to rats on certain functional parameters of isolated erythrocytes. Ind. J. Exper. Biol. 1987; 25: 244-248*

Davies KJA. *Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. General aspects. J. Biol. Chem. 1987; 262: 9895-9901*

Din WS and Frazier JM. *Protective effect of metallothionein on cadmium toxicity in isolated rat hepatocytes. Biochem. J. 1985; 230: 395-402*

Dryer SE, Dryer RL and Autor AP. *Enhancement of mitochondrial, cyanide-resistant superoxide dismutase in the livers of rats treated with 2,4-dinitrophenol. J. Biol. Chem. 1980; 255: 1054-1057.*

Fassett DW. *Cadmium: Biological effects and occurrence in the environment. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1975; 15: 425-435*

Fiske CH and Subbarow Y. *The colorimetric determination*

- of phosphorus. *J. Biol. Chem.* 1925; 66: 375-400
- Gamulin S, Car N and Naramcsik P. *Effect of cadmium on polyribosome structure and function in mouse liver. Experimentia* 1977; 33: 1144-1145
- Geller BL and Winge DR. *Rat liver Cu, Zn-superoxide dismutase: Subcellular location in lysosomes. J. Biol. Chem.* 1982; 257: 8945-8952
- Gilbert JC and Sawas AH. *ATPase activities and lipid peroxidation in rat cerebral cortex synaptosomes. Arch. Int. Pharmacodyn.* 1983; 263: 189-196
- Glynn IM. *'Transport adenosine triphosphatase' in electric organ. The relationship between ion transport and oxidative phosphorylation. J. Physiol.* 1963; 169: 452-465
- Goldberg B and Stern A. *The role of the superoxide anion as a toxic species in the erythrocyte. Arch. Biochem. Biophys.* 1977; 178: 218-225
- Gutteridge JMC, Beard APC and Quinlan GJ. *Superoxide-dependent lipid peroxidation. Problems with the use of catalase as a specific probe for Fenton-derived hydroxyl radicals. Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1983; 117: 901-907
- Hambrecht GS, Compton DR and Hilton JG. *Freeradical inhibition of ATPase in hamster cheek pouch homogenates. Life Sci.* 1983; 32: 677-683
- Hasan J, Vihko V and Hernberg S. *Deficient red cell membrane Na⁺, K⁺-ATPase in lead poisoning. Arch. Environ. Health* 1967; 14: 313-318
- Hassan HM and Moody CS. *Superoxide dismutase protects against paraquat-mediated dioxygen toxicity and mutagenicity: Studies in Salmonella typhimurium. Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1982; 60: 1367-1373
- Hussain T, Shukla GS and Chandra SV. *Effects of cadmium on superoxide dismutase and lipid peroxidation in liver and kidney of growing rats: In vivo and in vitro studies. Pharmacol. Toxicol.* 1987; 60: 355-358
- Itokawa Y, Abe T and Tanaka S. *Bone change in experimental chronic cadmium poisoning. Radiological and biological approaches. Arch. Environ. Health* 1973; 25: 241-244
- Jamall IS and Smith JC. *Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and lipid peroxidation in the rat heart; A possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1985; 80: 33-42
- Jeon JD, Lee CS and Park SS. *Roles of oxygen radicals. Metal ions and reducing agents on tissue damages caused by x-ray irradiation. Chung-Ang J. Med.* 1986; 11: 195-213
- Junqueira VBC, Simizu K, Videla LA and Barros SB de M. *Dose-dependent study of the effects of acute lindane administration on rat liver superoxide anion production, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation. Toxicol.* 1986; 41: 193-204
- Kang DH and Lee KS. *A Modified method for studying the interaction of isolated cardiac cell membrane with ions and drugs. Anal. Biochem.* 1976; 75: 345-355
- Klaassen CD, Arndur MO and Doull J. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 3rd ed., New York, Macmillan Publ. Co.* 1986, pp.11-32 & pp.611-619
- Klimczak J, Wisniewska-Knypl JM and Kolakowski J. *Stimulation of lipid peroxidation and heme oxygenase activity with inhibition of cytochrome p-450 monooxygenase in the liver of rats repeatedly exposed to cadmium. Toxicol.* 1984; 32: 267-276
- Koch RB. *Fractionation of olfactory tissue homogenates. Isolation of a concentrated plasma membrane fraction. J. Neurochem.* 1969; 16: 145-157
- Lai JCK, Guest JF, Leung TKC, Lim L and Davision AN. *The effects of cadmium, manganese and aluminium on sodium-potassium-activated and magnesium-activated adenosine triphosphatase activity and choline uptake in rat brain synaptosomes. Biochem. Pharmacol.* 1980; 29: 141-146
- Lee YM, Ayala FJ and Misra HP. *Purification and properties of superoxide dismutase from drosophila melanogaster. J. Biol. Chem.* 1981; 256: 8506-8509
- Lehlinger AL. *Principles of Biochemistry. Worth Publishers, Inc., New York, 1982, p.481*
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. *Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem.* 1951; 193: 265-275
- Lucis OJ, Lynk ME and Lucis R. *Turnover of cadmium¹⁰⁹ in rats. Arch. Environ. Health* 1969; 18: 307-310
- Maridonneau I, Braquet P and Garay RP. *Na⁺ and K⁺ transport damage induced by oxygen free radicals in human red cell membranes. J. Biol. Chem.* 1983; 258: 3107-3113
- McCord JM and Fridovich I. *Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte hemocuprein. J. Biol. Chem.* 1969; 244: 6049-6055
- Meek ES. *Cellular changes induced by cadmium in mouse testis and liver. Brit. J. Exp. Path.* 1959; 48: 503-507
- Minami M, Koshi K, Homma K and Suzuki Y. *Changes of the activities of superoxide dismutase after exposure to the fume of heavy metals and the significance of zinc in the tissue. Arch. Toxicol.* 1982; 49: 215-225
- Moody CS and Hassan HM. *Mutagenicity of oxygen free radicals. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1982; 79: 2855-2859
- Morgan JM, Bruch HB and Watkins JB. *Tissue cadmium and zinc content in emphysema and bronchogenic carcinoma. J. Chron. Dis.* 1971; 24: 107-110
- Mustafa MG, Cross CE, Munn RJ and Hardie JA. *Effects*

- of divalent metal ions on alveolar macrophage membrane adenosine triphosphatase activity. *J. Lab. Clin. Med.* 1979 ; 77 : 563-571
- Nandi M, Jick H, Slone D and Shapirom S. Cadmium content of cigarettes. *Lancet* 1969 ; 1 : 1329-1330
- Nechay BR and Nelson JA. Renal ouabain-sensitive adenosine triphosphatase activity and Na^+ reabsorption. *J. Pharmacol. Exper. Therap.* 1970 ; 175 : 717-726
- Nechay BR and Saunders JP. Inhibition of renal adenosine triphosphatase by cadmium. *J. Pharmacol. Exper. Therap.* 1977 ; 200 : 623-629
- Nechay BR and Saunders JP. Inhibition characteristics of lead chloride in sodium- and potassium- dependent adenosine triphosphatase preparations derived from kidney, brain, and heart of vertebral species. *J. Toxicol. Environ. Health* 1978 ; 4 : 147-159
- Parizek J and Zahor Z. Effect of cadmium salts on testicular tissue. *Nature* 1956 ; 177 : 1036
- Phillips TD and Hayes AW. Effects of patulin on adenosine triphosphatase activities in the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1977 ; 42 : 175-187
- Post RL, Merritt CR, Kinsolving CR and Albright CD. Membrane adenosine triphosphatase as a participant in the active transport of sodium and potassium in the human erythrocyte. *J. Biol. Chem.* 1960 ; 235 : 1796-1802
- Prasada PVVR. Effects of intraperitoneal cadmium administration on mitochondrial enzymes in rat tissues. *Toxicol.* 1983 ; 27 : 81-87
- Rifkin RJ. *In vitro* inhibition of Na^+ , K^+ - and Mg^{++} -ATPase by mono, di and trivalent cations. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1965 ; 120 : 802-804
- Rowley DA and Halliwell, B. DNA damage by superoxide-generating systems in relation to the mechanism of action of the anti-tumour antibiotic adriamycin. *Biochim. Biophys. Acta* 1983 ; 761 : 86-93
- Sajiki J, Fukuda Y and Fukushima E. On the lipoperoxide concentrations in the viscera of rats intoxicated by cadmium chloride. *J. Appl. Biochem.* 1981 ; 3 : 467-471
- Sajiki J, Hirai A and Tamura Y. The role of radical oxygen in the mechanism of incidence of injury in rat testis administered CdCl_2 . *Jap. J. Infl.* 1983 ; 3 : 217-221
- Salin ML, Day ED, Jr. and Crapo JD. Isolation and characterization of a manganese-containing superoxide dismutase from rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.* 1978 ; 187 : 223-228
- Sawas AH and Gilbert JC. Possible mechanism of inhibition by lipid peroxidation of ATPase activities of rat cerebral cortex synaptosomes. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 1984 ; 269 : 4-11
- Schroeder HA and Balassa JJ. Abnormal trace metals in man : Cadmium. *J. Chron. Dis.* 1961 ; 14 : 236-258
- Schroeder HA. Cadmium hypertension in rats. *Am. J. Physiol.* 1964 ; 207 : 62-66
- Schwartz A, Lindenmayer GE and Allen JC. The sodium-, potassium adenosine triphosphatase : Pharmacological, physiological and biochemical aspects. *Pharmacol. Rev* 1975 ; 27 : 1-134
- Schwartz CE, Krall J, Norton L, McKay K, Kay D and Lynch RE. Catalase and superoxide dismutase in *Escherichia coli* : Roles in resistance to killing by neutrophils. *J. Biol. Chem.* 1983 ; 258 : 6277-6281
- Simon RH, Scoggin, CH and Patterson D. Hydrogen peroxide causes the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J. Biol. Chem.* 1981 ; 256 : 7181-7186
- Stacey NH, Cantilena, LR Jr and Klaassen CD. Cadmium toxicity and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1980 ; 53 : 470-480
- Sun AY. The effect of lipoxidation on synaptosomal Na^+ , K^+ -ATPase isolated from the cerebral cortex of squirrel monkey. *Biochim. Biophys. Acta* 1972 ; 266 : 350-360
- Suzuki Y. Cadmium metabolism and toxicity in rats after long-term subcutaneous administration. *J. Toxicol. Environ. Health* 1980 ; 6 : 469-482
- Takada M and Hayashi H. Effects of cadmium ion on the Na^+ , K^+ -ATPase of microsomes obtained from frog skin. *Jap. J. Physiol.* 1978 ; 28 : 473-483
- Weisiger RA and Fridovich I. Superoxide dismutase : Organelle specificity. *J. Biol. Chem.* 1973 ; 248 : 3582-3592
- Wong KL and Klassen CD. Neurotoxic effects of cadmium in young rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1982 ; 63 : 330-337
- Yoshikawa H. Accumulation and clearance of cadmium, copper, and zinc in organs of rats following single injection of cadmium. *Jap. J. Ind. Health* 1974 ; 16 : 488-489
- Yoshiki S, Yanagisawa T, Kimura M, Otaki N, Suzuki M and Suda, T. Bone and kidney lesions in experimental cadmium intoxication. *Arch. Environ. Health* 1975 ; 30 : 559-562