

랫드의 대퇴 신경중 ATPase 효소활성에 미치는 납의 영향

정 명 규

선문대학교 환경공학과

Effects of lead on ATPase activity in the sciatic nerve of Sprague-Dawley rat

Myung Kiu Chung

Department of Environmental Engineering, Sun Moon University

ABSTRACT

Nerve conduction impairment in lead neuropathy has been empirically linked to altered nerve myo-inositol metabolism. In most cases of neuropathy, abnormal myo-inositol metabolism is associated with abnormal Na^+/K^+ ATPase provides a potential mechanism to relate defects of the myo-inositol metabolism in the peripheral nerve treated with lead. Therefore, the effect of lead on the rat sciatic nerve Na^+/K^+ ATPase and other ATPase of sciatic nerve was studied. ATPase activity was measured enzymatically in sciatic nerve homogenates from 2-wk lead treated neuropathy rats and age-matched controls administered myo-inositol. Na^+/K^+ ATPase components were assessed by ouabain inhibition or the omission of sodium and potassium ions. Lead reduced 50% reduction in the Na^+/K^+ ATPase activity in homogenates of sciatic nerve. The 50% reduction in the Na^+/K^+ ATPase activity was selectively prevented by myo-inositol treatment. This study suggests that the toxic mechanism of the lead on peripheral nerve may be through reduction in Na^+/K^+ ATPase activity which has been linked to axonal transport slowing in the rat model of lead neuropathy, via direct changes by the perturbation of the intracellular sodium or potassium level.

Key words: lead neuropathy, Na^+/K^+ ATPase activity, myo-inositol

서 론

납중독성 신경 병변의 특징은 다른 원인에 의한 병변과는 달리 신경 조직내에 활성화되어 있는 polyol 대사에는 전혀 영향을 주지 않고, myo-inositol 대사를 직접 억제함으로써 유발된다. 더구나 납중독성 신경병변은 비록 낮은 농도에 노출될 지라도 임상적 증상과 조직학적 병변 현상이 나타나기 훨씬 이전에 이미 axonal transport 감소라는 생화학적 의미에서의 신경병변이 시작되고 있다는 것을 이미 밝힌 바 있다¹⁾. 일반적으로 신경병변은 여러가지 요소가 복합적으로 연관되어 있으나, 다양한 원인에 관계없이 대체적으로 신경 조직내 myo-inositol의 농도 감소에 따른 대사 이상으로 귀착되며 이는 바로 신경 전달 속도 감소로 이어진다. 신경 전달 속도의 감소는 신경마비, 저림 등 다양한 임상적 증상을 수반하는 병변으로 이어지기 때문에 신경병변은 조직내 myo-inositol 대사 이상으로 설명할 수 있을 정도로 중요한 역할을 수행하고 있다²⁻⁴⁾. Myo-inositol의 구조는 glucose와 유사한 구조를 가지며, 신경 조직내의 에너지 대사에 관여할 뿐만 아니라⁵⁾, 세포막에 있는 인지질 합성시 전구체로서의 기능과⁶⁾, 그 대사체는 세포내 second messenger로서 작용하여 여러 대사 조절 작용에도 관여하는 등⁷⁾ 그 역할이 광범위하다. 신경조직 내의 myo-inositol 농도는 주변 조직보다 100배 정도 높은 상태로 유지되고 있는데⁸⁾, 이는 조직내로의 수송을 담당하는 Na⁺/K⁺ ATPase 효소의 능동적 수송 기능에 의해 유지되는 것으로 보고되었다⁹⁾. 따라서 신경 조직내로의 myo-inositol 수송을 담당하는 ATPase 효소 특히 Na⁺/K⁺ ATPase의 활성화는 신경 조직내 myo-inositol의 농도저하로 이어지며 이는 곧 myo-inositol 대사감소로 이어져 병변을 유발시킨다는 일련의 연구 결과들을 토대로 하여¹⁰⁻¹²⁾, 저자는 납중독성 신경병변 역시 myo-inositol 농도 저하에 기인한 만큼, 납이 신경조직의 ATPase 효소 활성화에 어떤 영향을 미칠 것으로 사료되어 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물의 선택 및 사육조건

본 실험에 사용된 4주령 수컷 Sprague-Dawley rat(이하 "랫드"라 칭함)는 최소 일주간 실험 사육장 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육장은 인공 조명에 의하여 조명시간을 아침 7:00부터 저녁 7:00까지 12시간으로 조절하였으며, 실내온도는 22°C±5°C로 유지하였다. 사료는 고품사료(삼양사)를 사용하였고, 그 조성은 조단백 21%, 조지방 3.5%, 조 셀룰로즈 5.0%, 무기질 8.0% 등이었다. 급수는 탈염수를 사용하였으며 사료와 급수는 제한하지 않았다.

2. 실험동물의 납중독성 말초 신경병변 유도

납은 lead acetate를 탈염수 초산용액(1:1000)에 용해시켜서 음용수 내 농도가 10ppm, 100ppm, 1000ppm 등 3가지 농도로 조제하여 2주동안 물병에서 자유 섭취하도록 하였으며, 대조 약물로서 myo-inositol을 증류수에 녹여 체중 kg당 100mg의 양을 경구로 3일 동안 투여하였다.

실험동물은 정상군, 10ppm 납투여군, 100ppm 납투여군, 1000ppm 납투여군으로 분류하였다.

3. 실험동물의 직장온도 측정

실험동물의 체온에 따라 신경전달 속도가 달라지는 것을 배제하기 위하여 직장내로 온도계를 삽입하여 마취시부터 대퇴신경을 분리하여 실험을 실시하는 동안에 두시간 간격으로 측정하여 체온 변화 유무를 확인하였다.

4. 랫드의 대퇴 신경중 axonal transport의 측정

1) 지표의 선정과 실험 동물의 처치

실험동물의 신경병변을 유도하기 위해 신경 조직의 선정은 단기간내에 독성물질에 의해 쉽게 병변을 관찰할 수 있다는 점에서 중추계 신경계보다는 말초 신경계를 선택하였으며, 말초 신경계 중에서도 랫

드 수준에서 신경적출의 용이성과 대사의 상대적 활성 그리고 주변 다른 조직으로부터의 분리 용이성 등을 고려하여 대퇴신경을 택하였다.

말초 신경병변의 대표적인 임상적 지표가 외부 자극에 대한 신경 전달속도로서 판단하는데 이들 전달 속도를 지배하는 요인이 바로 신경조직내의 axon을 따라 이동하는 여러가지 물질들이다¹³⁻¹⁵. 따라서 이들 여러가지 물질 중에서도 특히 신경의 자극 반응에 관여하는 효소들의 이동 속도를 측정함으로써 신경 병변 여부를 간접적으로 추정할 수 있다. 신경 조직의 axon 내에서 빠르게 이동하는 효소인 acetyl cholinesterase와 다소 느리게 이동하는 효소인 choline acetyltransferase를 axonal transport의 지표로 선정하고 이들 효소들의 이동 속도를 다음과 같은 방법으로 측정하였다¹⁶⁻¹⁷. 랫드를 pentobarbital(35mg/kg) 마취하에 대퇴근육을 1 cm 정도 절개 후 신경을 노출시켜 위치를 확인한 다음 봉합사(0.7mm)로 무릎위 부분을 묶은 후 상처를 봉합하였으며 마취를 시작하면서부터 봉합에 이르는 전과정이 5분 이내에 이루어지도록 하였다. 이어서 12시간 동안 방치한 후 랫드를 치사시키고 양 다리의 대퇴신경을 신속하게 적출하여 무게를 측정 한 후 동결건조하였다. 동결건조된 신경을 2mm 간격으로 4등분한 다음 각 분절마다 번호를 붙여 무게를 달아 acetyl cholinesterase와 choline acetyltransferase의 활성을 측정하는데 사용하였다.

2) Acetyl cholinesterase의 이동속도 측정

Acetyl cholinesterase 활성의 측정은 Ellman 등¹⁸의 방법에 따라 실시하였다. 랫드의 대퇴신경 각 분절을 0.1M-phosphate buffer(pH 8.0) 0.5ml 와 함께 조직 분쇄기로 균질화한 후 이중 0.4ml를 취하여 0.017M-NaHCO₃를 함유하는 0.01M-dithiobisnitrobenzoic acid(DTNB) 0.1ml, 0.1M-phosphate buffer(pH 8.0) 2.6ml가 들어있는 3ml 용량의 photocell에 가하여 25°C에서 10분간 예비 배양 후 기질인 acetylthiocholine iodide(0.075M) 0.02ml를 넣고 412nm에서 흡광도를 측정하여 효소의 활성을 산출하였다.

3) Choline acetyltransferase의 이동속도 측정

Choline acetyltransferase 활성의 측정은 Glover 등¹⁹의 방법에 따라 실시하였다. 140uM-[¹⁴C]acetyl-CoA(5uCi/vial), 10mM-choline iodide, 200mM-KCl, 20mM-phosphate buffer(pH 7.0), 0.2mM- eserine sulfate를 포함하는 저장용 배양액을 조제한다. 뚜껑이 있는 원심분리 시험관에 배양액 20μl를 넣고 37°C에서 5분간 가온한 후 대퇴 신경 각 분절을 1% butanol을 포함하는 150mM-NaCl 용액 0.5ml로 균질화한 용액 50μl를 취하여 넣고 진탕혼합하여 반응을 시작시킨다. 10 분 동안 배양한 후 20μl의 1N-formic acid를 가하여 반응을 중지시키고 0.1M-K₂HgI₄와 octanone을 같은 양으로 혼합한 용액 200μl를 가하여 진탕 혼합한 후 원심분리하여 층을 분리하였다. 유기용매층 80μl를 취하여 9ml toluene과 1ml methanol 그리고 40mg의 2,5-diphenyloxaole 등을 함유하는 신틸레이션 용액과 함하여 액체 신틸레이션 측정기에 넣고 방사능을 측정하여 효소의 활성을 산출하였다.

4) 조직내 myo-insitol의 농도 측정

Laine²⁰ 등의 방법을 이용하여 측정하였다.

5. 신경조직중의 ATPase 활성 측정

신경 조직내 ATPase 활성의 측정은 대퇴신경 균질액을 사용하여 Green²¹ 등의 방법을 이용하여 측정하였다. 실험 동물로부터 적출한 대퇴신경을 0.2M sucrose/0.02M Tris-HCl buffer(pH 7.5) 2ml가 들어있는 시험관에 넣어 4°C에서 polytron 조직 분쇄기를 사용하여 균질화한 후 100g에서 2분 동안 원심분리하였다. 상층액 20μl를 반응시액 혼합물(100mM-NaCl, 10mM-KCl, 2.5mM-MgCl₂, 1mM-Tris-ATP, 1mM-tri(cyclohexylammonium) phosphoenol pyruvate, 30mM-imidazole-HCl-buffer(pH 7.3), 0.15mM-NADH, 50μg lactate dehydrogenase, 30 μg의 pyruvate kinase) 1ml가 들어있는 cuvette에 넣어 37°C에서 45분 동안 반응을 시켜 340nm에서 흡광도를 측정하여 NADH가 산화되는 양으로부터 ATPase의 활

성을 산출하였다. Sodium-potassium stimulated ATPase 활성은 sodium ion과 potassium ion이 존재하지 않는 경우와 존재하는 경우의 활성 차이로써 계산하였으며 ouabain inhibited ATPase 활성은 0.1mM의 ouabain을 첨가한 후와 첨가하기 전의 활성 차이로써 계산하였다. 여기서 사용한 ouabain 농도를 0.1mM로 정한 이유는 0.05-1.0mM의 농도 범위에서 ATPase 활성을 억제하는 효과를 실험해 본 결과 0.1mM에서 최대 억제 효과를 나타내었기 때문이다. 또 sodium ion과 potassium ion이 없을 경우에는 ouabain을 첨가해도 더 이상의 억제효과가 나타나지 않았다. 원심 분리한 pellet 중의 ouabain-inhibited 혹은 sodium potassium stimulated ATPase 활성을 확인하기 위해 pellet을 sucrose buffer에서 재현탁시키고 다시 초음파로 균질화시킨 후 활성을 측정해 본 결과 ATPase의 잔류 활성은 5% 이하인 것으로 확인되었다.

6. 통계분석

실험 결과는 평균 \pm SE로 표시하였다. 실험에 사용한 각 동물군간의 유의성 검증을 위하여 Anova test와 Duncan's multiple range test를 실시하였으며 P값이 0.05 이하인 경우에만 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결과 및 고찰

1. 실험동물의 성장 및 조직학적 관찰

본 실험에서 사용한 랫드군의 2주동안의 몸무게, 식이량과 물섭취량, 체온 변화, 조직학적 병변 여부 등을 Table 1과 Table 2에 제시하였다.

Table 1에서 나타난 바와 같이 실험 동물군간에 이들 지표에 대하여 어떤 유의성 있는 변화도 관찰되지 않았다. 이는 말초 신경 병변에 남 이외의 다른 외적인 요소의 영향이 배제된 상태로 실험이 진행되고 있음을 나타낸다. 다만 납중독에 의한 조직학적인 병변 여부를 전자현미경으로 관찰한 결과 Table 2에서 알 수 있듯이 1000ppm 납을 투여군에서만 만성적 중독의 전형적인 증상인 수초탈락, 왈러번성, 축색돌기의 이상 등이 관찰되었으나 10ppm과 100ppm의 납을 투여한 군들에서는 관찰되지 않았다. 이러한 조건 실험 결과를 토대로 납중독에 의한 말초 신경 병변의 기전을 연구하는데 적어도 단기적으로는 신경에 조직학적인 병변이 나타나지 않는 두 농도(10ppm, 100ppm)가 본 실험 모델로 적절하다고 생각하여 실험동물군으로 선택하였다. 먼저 납중독에 의한 신경 병변 유도 여부와 조직내 myo-inositol 농도와 병변과의 상관관계가 있는지를 확인하기 위하여 신경 조직내 acetylcholinesterase와 choline acetyltransferase 두 효소의 이동속도와 myo-inositol 농도를 측정하였다.

Table 1. General characteristics of experimental animals.

Group	Body weight (g)		Water intake (ml/day/rat)		Food intake (g/day/rat)	
	Initial	Final	Initial	Final	Initial	Final
NC (9)	160 \pm 15	230 \pm 20	35.5 \pm 2.0	36.5 \pm 2.0	21.5 \pm 2.5	24.5 \pm 2.2
NT1(9)	170 \pm 14	235 \pm 14	37.5 \pm 2.3	37.2 \pm 2.2	22.5 \pm 3.3	27.2 \pm 3.2
NT2(7)	165 \pm 15	234 \pm 14	37.2 \pm 3.3	37.2 \pm 2.2	25.2 \pm 3.3	26.2 \pm 4.3
NT3(6)	158 \pm 15	220 \pm 14	36.9 \pm 3.2	37.1 \pm 2.2	25.9 \pm 2.2	30.1 \pm 3.4

Each value represents mean \pm SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. Initial and Final represent the values before and after treatment, respectively. NC; normal control group, NT1; lead-treated group (10ppm), NT2; lead-treated group (100ppm), NT3; lead-treated group (1000ppm)

Table 2. Electron microscopic observations on sciatic nerves from experimental rats.

Group	Rectal temperature (°C)		Demyelination	Histological observation Wallerian degeneration
	Initial	Final		
NC (9)	21.5±2.0	24.5±2.0	Not detected	Not detected
NT1(9)	37.5±0.3	37.2±0.2	Not detected	Not detected
NT2(7)	37.2±0.3	37.2±0.2	Not detected	Not detected
NT3(6)	36.9±0.2	37.1±0.2	Detected	Detected

Each value represents mean±SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. Initial and Final represent the values before and after treatment, respectively. NC; normal control group, NT1; lead-treated group (10ppm), NT2; lead-treated group (100ppm), NT3; lead-treated group (1000ppm)

Table 3. Effects of lead on axonal transport and myo-inositol concentration in the sciatic nerve of experimental animals.

Group	Accumulation rate (n moles/nerve/hr)		Concentration (umol/g wet wt.)	
	Acetylcholinesterase	Cholinacetyltransferase	myo-inositol	
NC (8)	204±13 ^{a)}	4.79±0.5 ^{f)}	2.94±0.35 ^{k)}	
NT1 (9)	105±14 ^{b)}	2.29±0.3 ^{g)}	1.45±0.22 ^{l)}	
NT2 (6)	112±17 ^{c)}	1.62±0.3 ^{h)}	0.98±0.20 ^{m)}	
NT1R(4)	188±18 ^{d)}	73.75±0.4 ⁱ⁾	1.88±0.25 ⁿ⁾	
NT2R(6)	158±11 ^{e)}	23.34±0.5 ^{j)}	1.68±0.30 ^{o)}	

Myo-Inositol was administered in distilled water per oral for 3 days. Control groups were administered the same volume of distilled water. Each value represents mean±SE. The number of experimental animals are given in parenthesis. NC; normal control group, NT1; lead-treated group (10ppm), NT2; lead-treated group (100ppm), NT1R; lead (10ppm)+myo-inositol-treated group (100mg/kg), NT2R; lead (100ppm)+myo-inositol-treated group (100mg/kg). Accumulation=F(C-A)+E(B-A). a) vs b), c), b) vs d), c) vs e), f) vs g), h), g) vs i), h) vs j), k) vs l), m), c), l) vs n), m) vs o), P<0.05 (Duncan test).

2. 신경내 axonal transport와 myo-inositol 농도에 미치는 납의 영향

Table 3에서 제시된 바와 같이 납처치에 의해 랫드 대퇴 신경의 acetyl cholinesterase와 cholin acetyltransferase 두 효소의 이동속도와 myo-inositol의 농도가 현저히 감소된 것을 알 수가 있다. 또한 이러한 경향은 납 농도가 증가함에 따라 더욱 뚜렷해진다. 이는 적어도 조직학적으로나 임상학적으로 증상이 전혀 나타나지 않는 초기의 저농도 납에 의해서도 역시 생화학적인 의미의 신경 병변이 진행되고 있음을 나타내준다. myo-inositol 투여에 의해 두 납중독에 의해 감소되었던 두 효소

이동속도가 다시 증가하는 것으로 미루어 적어도 납 중독성 신경조직의 병변은 조직내 myo-inositol의 농도 감소와 상관관계가 있음을 시사해주고 있다. 계속하여 신경조직내의 myo-inositol 농도의 감소가 신경조직 내로의 myo-inositol 수송을 담당하는 ATPase의 효소 활성 변화에 기인한 것인지를 알아보기 위하여 납이 대퇴 신경내의 ATPase 효소 활성 특히 Na⁺/K⁺ ATPase에 미치는 영향을 살펴보았다.

3. ATPase 효소 활성에 미치는 영향

납을 처치한 랫드의 대퇴 신경 중 전 ATPase (composite ATPase)의 활성 변화를 Fig. 1에

제시하였다. 전 ATPase의 활성은 정상상태에 비해 납을 처치한 상태에서는 현저하게 감소되었으며, 처치한 납의 농도에 따라 활성 감소도 커지는 것으로 미루어 이 효소의 활성은 독성 물질에 대한 농도 의존성을 보이는 것을 알 수 있다. 계속하여

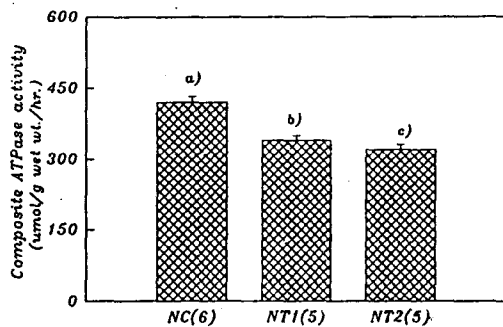


Fig. 1. Effects of lead on composite ATPase activities of sciatic nerve in Sprague-Dawley rats. NC; normal control group, NT1; lead-treated group (10ppm), NT2; lead-treated group (100ppm). Values are mean \pm SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. a) vs b), c): $P < 0.05$ (Duncan's test)

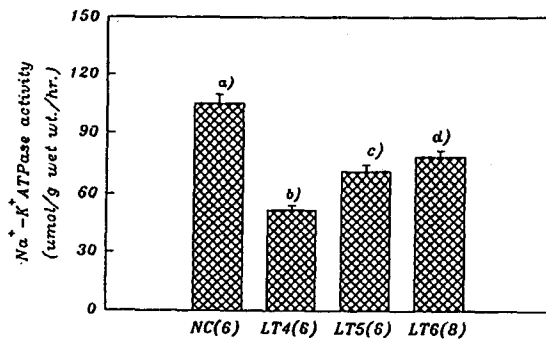


Fig. 2. *In vitro* Effects of lead on sodium-potassium ATPase activities of sciatic nerve in Sprague-Dawley rats. NC; normal control group, LT4; lead-treated group (10^{-4} M), LT5; lead-treated group (10^{-5} M), LT6; myo-inositol-treated group (10^{-6} M). The concentration of lead was 100ppm. Values are mean \pm SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. a) vs b), c), d), b) vs c), d): $P < 0.05$ (Duncan's test)

납에 의한 전 ATPase 활성 감소 특성을 분석하기 위하여 효소 활성 억제제인 ouabain 등을 사용하여 실험한 활성 변화 정도는 Fig. 2에 제시하였다.

Fig. 2에서 알 수 있는 바와 같이 납에 의한 ATPase 활성 감소의 특성은 ouabain에 의하여 억제되는 ATPase(ouabain-inhibited ATPase)와 혹은 sodium과 potassium에 의해 증가되는 ATPase(Na^+/K^+ stimulated ATPase, Na^+/K^+ ATPase) 활성만을 선택적으로 억제하는 것으로 밝혀졌다. 여기서 ouabain inhibited ATPase와 Na^+/K^+ stimulated ATPase는 본 실험 결과와 여러가지 보고서 등에 의하면 동일한 ATPase인 것으로 확인되었다²⁰⁾.

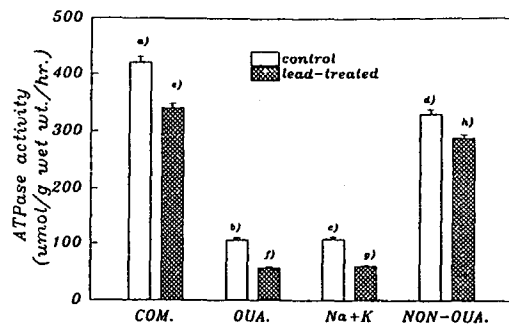


Fig. 3. Effects of lead on ATPase activities of sciatic nerve in Sprague-Dawley rats. COM; composite ATPase, OUA; ouabain-inhibited ATPase, Na+K: sodium-potassium stimulated ATPase, NON-OUA: non-ouabain-inhibited ATPase. Values are mean \pm SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. a) vs e), b) vs f), c) vs g): $P < 0.05$ (Duncan's test).

계속하여 Na^+/K^+ ATPase의 활성 변화가 납에 의한 직접적인 효과인지 아니면 체내의 다른 대사 경로를 통해 나타나는 이차적인 효과인지를 알아보기 위하여 정상랫드 대퇴신경을 적출하여 10^{-4} M- 10^{-6} M 농도의 납을 *in vitro*로 처리하여 그 결과를 Fig. 3에 제시하였다. Fig. 3에 알 수 있는 바와 같이 10^{-4} M- 10^{-6} M 전 농도에 걸쳐 효소의 활성이 감소되는 것으로 미루어 Na^+/K^+ ATPase에 대한

납의 활성 억제 작용은 직접적인 것으로 사료된다. 또한 myo-inositol 투여에 의한 신경병변 회복 기전을 연구하기 위하여 myo-inositol 농도 변화가 Na^+/K^+ ATPase 활성에 어떠한 영향을 주는 지를 검토하였다. 정상랫드와 납중독 랫드의 체중 kg당 10mg, 100mg, 1000mg의 용량으로 myo-inositol을 3일간 경구로 투여한 실험 결과를 Fig. 4에 제시하였다.

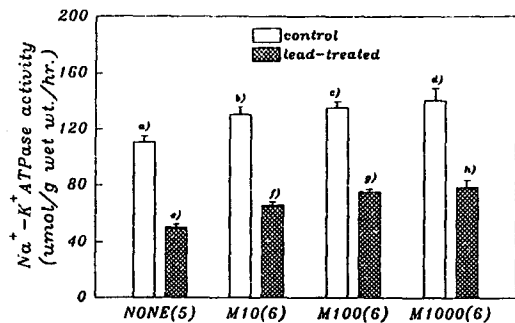


Fig. 4. Effects of lead on sodium-potassium ATPase activities of sciatic nerve in Sprague-Dawley rats. NONE; normal control group, M10; myo-inositol-treated group (10mg), M100; myo-inositol-treated group (100ppm), M1000; myo-inositol-treated group (1000mg). The concentration of lead was 100ppm. Values are mean \pm SE. The number of experimental rats are given in parenthesis. a) vs b), c), d), e) vs f), g), h), f) vs g), h): $P < 0.05$ (Duncan's test).

Fig. 4에서 알 수 있는 바와 같이 Na^+/K^+ ATPase의 활성은 신경 병변시에는 myo-inositol의 농도가 증가함에 따라 증가하는 농도 의존성을 보이지만, 정상상태에서는 일정한 정도 이상으로는 활성이 증가하지 않는 한계성을 보여주고 있다. 즉 myo-inositol은, 정상 상태에서보다 병변 상태에서 Na^+/K^+ ATPase 활성에 보다 큰 효과를 나타내는 것으로 보인다. 그러나 납에 의해 감소된 Na^+/K^+ ATPase 활성이 정상화되는 정도와 axonal transport 개선되는 정도—신경병변 개선 정도—가 차이를 보이는 것으로 (Table 3과 Fig. 4) 미루어, 납은 신경조직의 전 ATPase 중 Na^+/K^+

stimulated ATPase 즉 ouabain inhibited ATPase 활성만을 선택적이며, 직접적으로 억제하여 신경 독성을 나타내며, myo-inositol에 의한 신경병변 회복 기전이 Na^+/K^+ ATPase 효소 활성 정상화에만 한정되지 않고 적어도 다른 기전이 존재할 가능성이 있다는 것을 본 실험이 시사해주고 있다.

결 론

4주령 수컷 Sprague-Dawley 랫드를 사용하여 2주동안 실험한 SD 랫드의 신경조직내 ATPase 효소 활성에 미치는 납의 영향을 종합해 보면 다음과 같다.

1. 전 ATPase 활성은 납처치에 의해 약 50% 정도 감소되었다.
2. 납은 전 ATPase 활성 중 Na^+/K^+ ATPase 효소 부분과 ouabain inhibited ATPase 효소 부분에만 선택적으로 작용하여 활성을 감소시킨다.
3. Na^+/K^+ ATPase 와 ouabain inhibited ATPase의 활성 감소는 납의 직접적인 억제 작용에 의한 결과이다.
4. Na^+/K^+ ATPase 는 ouabain inhibited ATPase와 동일한 ATPase인 것으로 확인되었다.
5. Na^+/K^+ ATPase 효소 활성은 myo-inositol에 대한 농도 의존성을 갖는다.
6. 참고 물질인 myo-inositol의 신경병변 개선 기전은 Na^+/K^+ ATPase 활성의 증가 이외에도 적어도 또 다른 기전이 존재하는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Chung M.K. 환경오염 물질의 독성기전에 관한 연구. 성화논총지 2, 411(1993).
2. Chung M.K., Lim G.T. Sprague-Dawley 랫드의 대퇴 신경중 axonal transport에 미치는 납의 영향. 대한환경공학회지 in press.
3. Moore, S.A., Peterson, R.G. A quantitative comparison of motor and sensory conduction veloc

- ity in short and long term streptozotocin-and alloxan-diabetic rats. *J. Neuro. Sci.*, 48, 133 (1980).
4. Gilson K.R.W., Hawthorne J.N. Sorbitol, inositol, and nerve conduction in diabetes. *Life Sci.*, 32, 1943 (1983).
 5. Green, D.A., Lattimer, S.A. Impaired rat sciatic nerve sodium-potassium adenosin triphosphatase in acute streptozotocin diabetes. *J. Clin. Invest.*, 72, 1058 (1983).
 6. Berridge M.J. Inositol triphosphate and diacylglycerol as second messengers. *Biochem. J.*, 220, 345 (1994).
 7. Simmons, D.A., Wingrad, A.I., Martin, D.B. Significance of tissue myo-inositol concentrations in metabolic regulation in nerve. *Science* 217, 848 (1982).
 8. Kusama H., Stewart M.A. Levels of myo-inositol in normal and degenerating peripheral nerve. *J. Neurochem.* 17, 317 (1977).
 9. Greene D.A. Lattimer S.A., Sodium and energy dependent uptake of myo-inositol by rabbit peripheral nerve. *J. Clin. Invest.* 70, 1009 (1982).
 10. Simmons D.A., Kern E.F., Wingrad A.I., Martin D.B. Basal phosphatidylinositol turnover controls aortic sodium-potassium ATPase activity. *J. Clin. Invest.*, 77, 503 (1986).
 11. Brismar T.S., Martin D.B. Change of nodal function in nerve fibers of the spontaneously diabetic BB rats. *Acta. Physiol Scand.*, 113, 499 (1981).
 12. Das P.K., Bray G., Aguayo A.J. and Rasminsky M. Diminished ouabain-sensitive sodium-potassium ATPase activity in sciatic nerves of rats with streptozotocin induced diabetes. *Exp. Neurol.* 53, 285 (1976).
 13. Sidenius, P. and Jakobsen, J., Retrograde axonal transport: A possible role in the development of neuropathy. *Diabetologia*, 20, 110 (1981).
 14. Shama, A.K. and Thomas, P.K., Peripheral nerve structure and function in experimental diabetes. *J. Neuro. Sci.*, 23, 1 (1974).
 15. Jakobsen, J. and Sidenius, P., Early and dose-dependent decrease of retrograde axonal transport in acrylamide intoxicated rats. *J. Neurochem.* 40, 447 (1983).
 16. Hebb, C.O. and Silver, A., Gradient of choline acetylase activity, *Nature* 189, 123 (1961).
 17. Partlow, L.M., Ross, C.D., Motwani, R. and McDougai, D.B., Transport of axonal enzymes in surviving segments of frog sciatic nerve, *J. Gen Physiol.* 60, 388 (1972).
 18. Ellman, G.L., A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem. pharmacol.* 7, 88 (1961).
 19. Glover, V., A simple quick microassay for choline acetyltransferase, *J. Neurochem.* 19, 2465 (1972).
 20. Laine, R.A., Analysis of trimethylsilyl O-methylloximes of carbohydrates by combined gas-liquid chromatography-mass spectrometry, *Anal. Biochem.* 43, 533 (1971).
 21. Greene D.A. and Lattimer S.A. Impaired rat sciatic nerve sodium-potassium ATPase in acute streptozotocin diabetes and its correction by dietary myo-inositol supplementation. *J. Clin. invest.*, 72, 1058 (1983).