

전자기파 조사 환경에서의 간조직에서의 과산화적 손상

최정화 · 신현진* · 유 흠* · 이준하* · 이순재†

대구효성가톨릭대학교 식품영양학과

*영남대학교 의료원 생체의공학과

Peroxidative Damage in Rat Liver Exposed to Microwave

Jeong-Hwa Choi, Hyun-Jin Shin*, Heum Yu*, Jun-Ha Lee* and Soon-Jae Rhee†

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyungsan 713-702, Korea

*Dept. of Bio-medical Engineerings, Yeungnam University Medical Center, Taegu 705-030, Korea

Abstract

The purpose of this study was to investigate peroxidative damage and antioxidative defense systems such as superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px), glutathione S-transferase (GST) and vitamin E of liver in rat exposed microwave. Sprague-Dawley male rats $200 \pm 10\text{ gm}$ were randomly assigned to normal and microwave(MW) groups. After rats were irradiated with microwave at frequency of 2.45GHz for 15min, the change patterns of antioxidative defense system and peroxidative damage of liver tissue in MW group were investigated for 16 days(the 2nd, 4th, 6th, 8th and 16th days) compared with those of normal group. The activity of superoxide dismutase(SOD) in MW group was increased at the 2nd day compared with that of normal group, but not significantly. The glutathione peroxidase(GSH-Px) in MW group was decreased to 24% and 25% at the 4th and 6th days, respectively, compared with that of normal group, but GSH-Px was increased to level of normal group at the 16th day. The activity of glutathione S-transferase(GST) in MW group was decreased at the 2nd day after irradiated with microwave, but GST showed to that of normal group at the 16th day. The content of vitamin E in MW group was lower than that of normal group at the 6th and 8th days after the irradiation, but was recovered to the level of normal group at the 16th days. The content of thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) of liver in MW group was increased to 28.9%, 53.8%, 69.7% and 30.2% of normal group at the 2nd, 4th, 6th and 8th days after the irradiation, respectively, but recovered to the level of normal group at the 16th day. The present results indicated that antioxidative defense systems of rats irradiated microwave was weaken more than that of normal group, which lead to acceleration of lipid peroxidation.

Key words: microwave, antioxidative defense system, peroxidative damage

서 론

· 현대사회는 과학문명의 발달로 우리들의 일상생활 주변에서 텔레비전, 전자레인지, 전기담요, 전기컴퓨터, 무선전화기등 전자파를 발생하는 기구들에 의해 사람들은 알게 모르게 이들 기기들에서 발생하는 전자파에 노출되므로 최근 선진국들에서는 전자파의 유해에 대해 많은 관심이 집중되고 있다. 항상 전자파에 노출된 사람들에게서는 두통, 뇌순상, 백혈병 및 암발생율이 높다고 보고(1,2)되고 있다. 이들 중세 중 요즘 가장 혼란 예가 컴퓨터 단말기 화면 작업을 오래하는 사람에게

서는 컴퓨터에서 나오는 강한 전자파로 인해 눈의 피로도가 가중되고 시력이 떨어지고 심하면 망막 손상까지 일어난다고 하는 이른바 VDT(visual display terminal) 종후군이 있고 또 휴대폰 사용 후 시력이 저하되었다는 보고(3-5)가 있다. 그러나 유해성 여부는 아직 논란의 대상이 되며 앞으로 여러 측면으로 연구해야 할 과제이다.

동물을 대상으로 한 최근 연구(6)에서 마이크로웨이브에 피폭된 가토에서 뇌신경세포의 손상이 확인되었으며 이는 전자기파의 피폭 양에 따라 뇌실질의 변화가 심하게 나타났으며, 특히 무수초 신경섬유에서 손상의 정도가 심하였다고 하였다. Barandi와 Czerski(7)는 전

*To whom all correspondence should be addressed

자기파에 의한 생물학적 연구로서 세포액의 수소와 산소가 분리되면서 유해한 유리산소(oxygen free radical)가 생성되어 DNA의 복제 및 호르몬 합성의 이상을 보고하였다. 또한 전자파와 유사한 방사선을 생쥐에 조사시 생쥐간에서의 항산화효소가 감소하고 지질과 산화 생성이 촉진되었다는 보고(8)가 있다. 이러한 견지에서 볼 때 전자기파는 생체조직에 유리 산소기(oxygen free radical ; 활성산소) 생성과 그로 인한 지질과 산화와 관련이 있다고 볼 수 있다. 한편 생체내에는 이러한 과산화적 손상의 요인이 되는 free radical을 제거해 주는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px), catalase 및 glutathione S-transferase(GST)와 같은 효소적 방어계와 vitamin E, glutathione(GSH)와 같은 비효소적인 방어계가 있다.

그러나 만약 체내의 병적인 상태나 기타 원인으로 이러한 체내의 항산화물질들이 부족되거나 항산화계 효소활성이 저하되면, 이들 생성계와 제거계의 균형이 파괴되어 조직에 free radical의 축적으로 생체는 노화나 성인병 및 암과 같은 퇴행성 질환을 촉진케 된다(9,10).

지금까지 전자파에 의한 임상적 증상에 대한 연구는 다소 연구(11,12)되고 있으나 여러 가지 여건문제로 인하여 생체조직의 상해에 대한 구체적인 연구는 보고된 바 없다. 그러므로 본 연구에서는 전자기파에 의한 항산화 방어계의 활성을 측정하고, 이들 변화에 따른 조직의 손상 정도를 알아보기 위해 노화나 암 및 퇴행성 질환의 원인물질이 되는 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 변화를 관찰해 보았다.

재료 및 방법

동물 사육

실험동물로는 체중 200g 내외의 흰쥐 수컷을 사용하여, 마이크로웨이브를 조사하지 않은 정상군과 전자파를 조사하는 마이크로웨이브군(microwave군: MW group)으로 나누었다. 실험기간 중 사료는 일반식이를 공급하였으며 사료와 음료는 자유선태시켰다. 사육한 동물은 마이크로웨이브를 15분간 1회 조사 후 각각 경과 일수별(2일, 4일, 6일, 8일, 16일)로 실험하였다.

실험동물의 전자기파 조사장치 및 방법

실험장비로는 초고주파 발생장치로 2.45GHz의 발진주파수를 가진 가정용 전자렌인지자를 개조하여 출력 환 및 노출시간을 임의로 설정할 수 있도록 원격조정이 가능하게 제작하였으며, 초고주파 발생장치의 출력 측정은 미국 Hewlett Packard사의 EMC analyzer(elec-

tromagnetic compatibility analyzer)를 이용하여 측정하였다. 방사되는 출력의 설정은 최대 노출시간 15분 이상이 되도록 수차례 거리를 조절하여 출력 발생장치의 35cm 거리를 노출점으로 잡고 이점에서의 출력을 측정한 결과 40mW/cm^2 ($172\text{dB}\mu\text{V/m}$)였다. 실험동물의 노출시간은 15분으로 하였으며 개체량 1회 조사시키고 조사 후 2일, 4일, 6일, 8일, 16일 후 간조직을 적출하였다.

간조직 중의 항산화계 효소 활성 측정

분석 시료의 전 처리

사육한 실험동물을 가벼운 ether 마취하에서 회생시킨 후 간장을 절제하고 0.9% NaCl로 세척한 후 액체질소로 급속냉동시킨 후 -80°C 에 냉동 보관하였다가 실험에 사용하였다. 간조직을 Potter-Elvehjem homogenizer를 사용하여 0.25M sucrose/0.5mM ethylene diamine tetraacetic acid(EDTA)/5mM N-2-hydroxyethyl piperazine-N-2-ethane sulfonic acid(HEPES) 용액으로서 10%(w/v) 마쇄액을 만들어서 박(13)의 방법에 따라 전처리하였다.

간조직 중의 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px), glutathione S-transferase(GST)

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund의 방법(14), GSH-Px 활성은 Lawrence와 Burk(15)의 방법, GST 활성측정은 Habig 등(16)의 방법에 의하여 측정하였다.

간조직 중의 vitamin E

Vitamin E 함량측정은 간조직 마쇄액 1.0ml를 Kalyden 등(17)의 방법과 ferricchloride dipyridyl법(18)에 의해 측정하였다.

간조직의 과산화지질(TBARS) 정량

과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하는 물질(TBARS)을 측정하는 Satoh(19)법을 이용하였다.

단백질 함량 측정

간장조직 microsome의 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준용액으로 하여 Lowry 등(20)의 방법에 의해 측정하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 Tukey's HDS test에 의해 처리되었다.

결과 및 고찰

Superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px), glutathione S-transferase(GST)

간조직의 SOD 활성을 관찰한 결과는 Fig. 1과 같다. 정상군에 비해 MW군은 조사 후 2일째부터 다소 증가되는 경향이었으나 유의적인 차이는 없었다.

간조직의 GSH-Px 활성을 관찰한 결과는 Fig. 2에 서와 같이 MW군은 조사 후 4일, 6일에는 정상군보다 24%, 25% 감소하였으나 8일부터는 증가하였다.

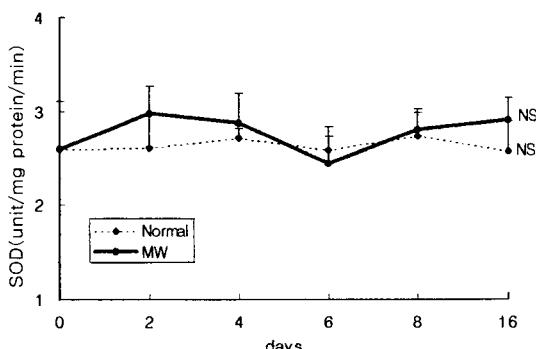


Fig. 1. Superoxide dismutase(SOD) activities of liver in rat exposed to microwaves.

All values are mean \pm SE(n=10).

Values within a column with different superscript letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test.

NS: Not significant

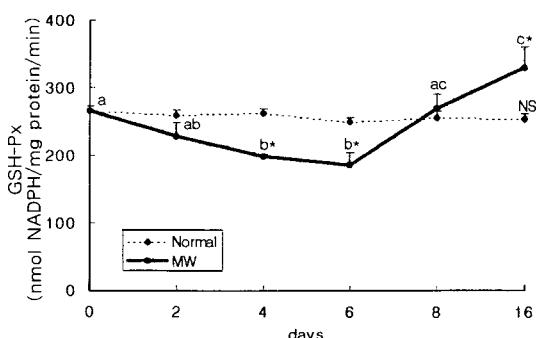


Fig. 2. Glutathione peroxidase(GSH-Px) activities of liver in rat exposed to microwaves.

All values are mean \pm SE(n=10).

^{a-c}Different letter on the top of the line indicates significant difference between groups by Tukey's test $p<0.05$ (n=10).

*Significantly different from the value of normal group at $p<0.05$.

NS: Not significant

간조직의 GST의 활성을 관찰한 결과 Fig. 3과 같다. MW군은 마이크로웨이브 조사 후 2일째부터 감소하여 4일째이며 약 40% 감소하였으나 8일째부터는 회복하기 시작하여 16일째는 정상군 수준으로 되었다.

간조직 중의 비타민 E 함량

생리적 항산화물질인 비타민 E 함량을 간조직에서 관찰한 결과(Fig. 4) MW군이 6일째부터 다소 낮아졌으나 16일째는 정상군 수준으로 회복하였다.

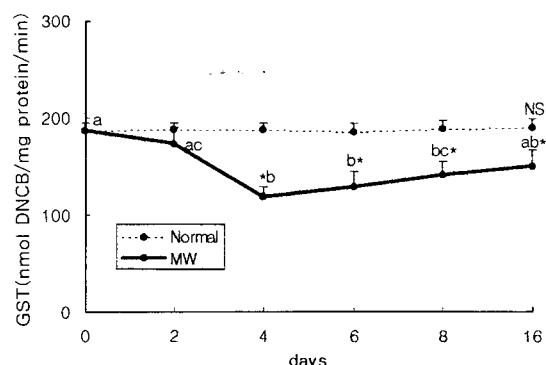


Fig. 3. Glutathione S-transferase(GST) activities of liver in rat exposed to microwaves.

All values are mean \pm SE(n=10).

^{a-c}Different letter on the top of the line indicates significant difference between groups by Tukey's test $p<0.05$ (n=10).

*Significantly different from the value of normal group at $p<0.05$.

NS: Not significant

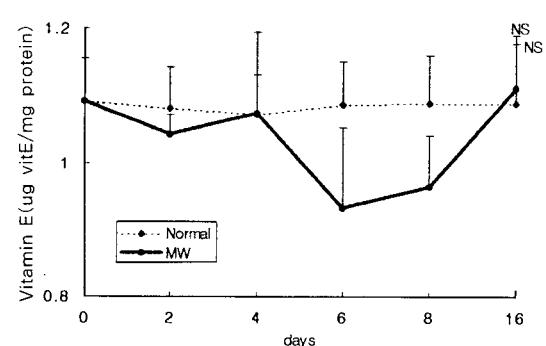


Fig. 4. Vitamin E contents in rat liver exposed to microwaves.

All values are mean \pm SE(n=10).

Values within a column with different superscript letters are significantly different at $p<0.05$ by Tukey's test.

NS: Not significant

간조직의 지질과산화물

간조직의 지질과산화물은(Fig. 5) 마이크로웨이브 조사 후 2일, 4일, 6일 및 8일에 각각 정상군에 비해 28.9%, 53.8%, 69.7% 및 30.2%씩 높았으나 16일에는 어느 정도 회복되어 정상군보다 20% 정도 높았다.

생체는 외인적 혹은 내인적 요인에 의하여 free radical이나 지질과산화물의 생성이 촉진되는데 생체에는 이들의 축적을 방지하기 위해 생리적 항산화 방어 작용이 있다. 생체내 방어기전은 free radical 생성이나 지질과산화 반응을 차단하여 그 생성물을 억제하거나 생성된 free radical을 제거함으로서 과산화적 손상으로부터 방어한다.

SOD는 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2 로 바꾸어 주며 여기서 생성된 H_2O_2 는 다시 GSH-Px와 catalase작용에 의해 H_2O 로 배설시킴으로써 산소 독으로부터 생체를 보호한다. 본 실험에서 SOD활성은 전자파 조사 후 정상군에 비해 MW군은 조사 후 2일째부터 다소 증가되는 경향이었으나 유의적인 차이는 없었다. 생체내에서 H_2O_2 와 GSH로부터 물과 산화형 glutathione(GSH)를 생성하는 반응과 기타 과산화물(ROOH)과 GSH로부터 GSSG, alcohol(ROH) 및 물을 생성하는 반응을 촉매함으로써 조직의 과산화적 손상을 방지하고 산소독을 해독하는 GSH-Px 활성은 MW군은 조사 후 4일, 6일에는 정상군보다 감소하였으나 8일부터는 증가하였다. 또 변이원성발암성물질, 독성물질 등의 대사산물, 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성물질 등에 환원형 glutathion을 포함시켜 thioester(R.S.G)를

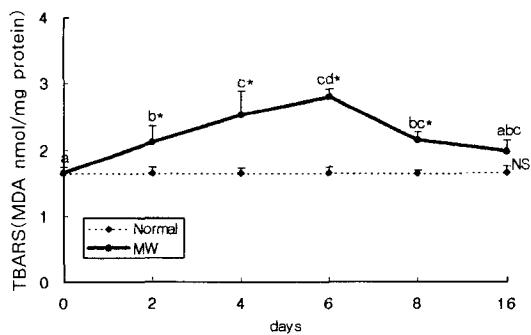


Fig. 5. Thiobarbituric acid reacting substances(TBARS) in rat liver exposed to microwaves.

All values are mean \pm SE(n=10).

a-c Different letter on the top of the line indicates significant difference between groups by Tukey's test p<0.05(n=10).

*Significantly different from the value of normal group at p<0.05.

NS: Not significant

형성하는 반응을 촉매하는 효소인 GST의 활성은 MW 군은 마이크로웨이브 조사 후 2일째부터 감소하였으나 8일째부터는 회복하기 시작하였다.

GST는 GSH-Px와는 달리 정상군에 비해 실험군 모두 그 활성이 낮아졌다. 또 다른 생리적 항산화물질인 vitamin E의 함량은 6일부터 다소 감소하였으나 16일째 정상군 수준으로 회복하였다. 이와 같이 생리적 항산화 물질인 항산화계 효소가 마이크로웨이브 조사에 의해 현저한 변화가 있으며 이러한 결과는 마이크로웨이브 조사로 활성산소와 같은 산화적 stress에 의해 생체막에 다양 존재하는 불포화지방산의 과산화가 촉진되어 세포소기관들의 손상이 가속화되므로서 효소활성이 저하된 것으로 볼 수 있다. 이를 뒷받침해 줄 수 있는 근거로는 조직의 과산화적 손상의 지표가 되는 간조직의 TBARS 함량을 측정한 결과 이를 효소활성의 변화와 비슷한 양상으로 나타남으로써 이를 상호간의 관련성을 확인할 수 있었다. 즉 노화나 성인병 및 발암의 원인 물질인 TBARS 촉적량이 MW군에서는 조사 후 4일, 6일, 8일까지는 정상군보다 높았고, 16일째에 가서 감소되어 정상군 수준으로 되었다. 이러한 TBARS의 촉적 결과는 비록 파장은 다르지만 Barandi와 Czerski(7)의 마이크로 웨이브연구에서 유해산소가 생성된다는 보고나 전자파와 유사한 X-ray 조사시에는 과산화지질이 생성될 뿐만 아니라 이러한 유해한 과산화지질의 생성을 억제하는 항산화 방어계가 감소된다는 연구(21,22)와 일맥상통한다고 볼 수 있다.

이러한 실험 결과로 미루어 볼 때 마이크로웨이브에 조사되었을 때는 간조직에서 항산화계가 약화되어 노화나 성인병 및 발암물질의 원인이 되는 지질과산물의 촉적이 촉진되었다고 볼 수 있다.

요약

본 연구는 동물이 전자파에 노출될 경우 생체조직의 상해를 관찰코자 시행하였다. 체중 200g 내외의 Sprague-Dawley종 흰쥐를 정상군과 마이크로웨이브 실험군으로 나누었다. 식이와 음료를 자유선택시키면서 2.45 GHz 대역의 주파수의 마이크로웨이브를 15분간 조사 후 16일 동안 기간별(2, 4, 6, 8, 16일)로 항산화 방어계와 조직의 과산화적 손상을 관찰하였다. SOD 활성은 MW군이 다소 증가하는 경향은 있었지만 거의 정상군 수준이었다. GSH-Px 활성은 MW군은 조사 후 4일, 6일에 정상군보다 감소되었으며 16일에 거의 정상 수준으로 되었다. GST활성은 MW군에서는 조사 후 전반적으로 감소되었고 16일째에 정상 수준으로 되었다. 간조직 중의 vitamin E의 함량은 조사 후 6일부터 다소 감소

되었으나 16일째에 정상군 수준으로 회복되었다. 간조직의 지질과산화물 함량은 MW군은 마이크로웨이브 조사 후 정상군에 비해 2일, 4일, 6일 및 8일째에 각각 1.6배, 1.5배, 1.7배, 1.3배씩 높았으나 16일째에는 회복되었다. 결론적으로 전자파에 조사되었을 때는 간조직에서 항산화계가 약화되어 노화나 성인병의 원인물질인 지질과산화물의 축적이 촉진된다고 볼 수 있다.

문 헌

1. Jonai, H., Villanueva, B. G. and Yasuda, A. : Cytokine profile of human peripheral blood mononuclear cells exposed to 50Hz EMF. *Industrial Health*, **34**, 359 (1996)
2. Demers, P. A., Thomas, D. B. and Rosenblatt, K. A. : Occupational exposure to electromagnetic fields and breast cancer in men. *Am. J. Epidemiol.* Aug., **134**, 340(1991)
3. Albert, E. and Tengroth, B. : Lenticular and retinal changes secondary to microwave exposure. *Acta Ophthalm(Kbh)*, **51**, 764(1973)
4. Paulsson, L. E., Hamnerius, Y., Hansson, H. A. and Sjostrand, J. : Retinal damage experimentally induced by microwave radiation at 55mW/cm². *Acta Ophthal.*, **57**, 183(1979)
5. Mack, W., Preston, M. S. and Peters, J. M. : Astrocytoma risk related to job exposure to electric and magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, **12**, 57(1991)
6. 이경엽, 백승찬, 김성호, 한동로, 배장호, 고삼규, 김오룡, 지용철, 최병연, 조수호, 신현진 : 전자기파에 노출시킨 가토의 대뇌신경세포 변화. *대한신경외과학회지*, **23**, 753(1994)
7. Barandi, S. and Czerski, P. : *Biological effects of microwaves*. Stroudsburg Pa, Dowden, Hutchinson and Ross Inc.(1976)
8. 이송재 : 인삼 saponin이 방사선에 조사받은 생쥐간에서 항산화효소의 활성도 및 지질과산화에 미치는 영향. *최신의학*, **38**, 105(1995)
9. Chan, P. C. and Bielski, B. H. J. : Enzyme catalyzed free radical reaction with nicotinamide adenine nucleotide. *Chem. J. B.*, **249**, 1317(1974)
10. Urano, S., Midori, H. H., Tochihi, N., Matsuo, M., Shiraki, M. and Ito, H. : Vitamin E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposomes to oxidative stress in aged diabetics. *Lipids*, **26**, 58(1991)
11. Adey, W. R. : Tissue interactions with nonionizing electromagnetic fields. *Physiol. Rev.*, **61**, 435(1981)
12. 류상흡, 신현진, 김성호, 고삼규, 김오룡, 지용철, 최병연, 조수호 : 전자기파 조사가 토키의 뇌파에 미치는 영향. *대한신경외과학회지*, **23**, 870(1994)
13. 박미향 : Cadmium 투여 흰쥐 뇌조직의 과산화적 손상과 항산화계에 미치는 식이 selenium의 투여기간별 영향. *한국노화학회지*, **4**, 14(1994)
14. Marklund, S. and Marklund, G. : Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, **47**, 469(1974)
15. Lawrence, R. A. and Burk, R. F. : Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **71**, 952(1976)
16. Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B. : Glutathione S-transferase: The first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130 (1974)
17. Kayden, H. J., Chow, C. K. and Bjornson, L. K. : Spectrophotometric method for determination of α -tocopherol in red cell. *J. Lipid Res.*, **14**, 553(1973)
18. Hawk, P. B., Oser, B. L. and Summerson, W. H. : Ferric chloride dipyridyl method(Emmenrie-Engel reaction). Practical Phsio Chem., 13th ed., JAL Churchill LTD, p.1272(1956)
19. Satoh, K. : Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by means of a new colicrometric method. *Clinica Chemica Acta*, **90**, 37(1978)
20. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
21. Hrushesky, W. J., Berestka, J. S., Roemeling, R., Olshefski, R., Langevin, T. R., Potish, R. A., Delaney, J. P., Ellefson, M. and Schwartz, S. : Methylene blue protects intestinal mucosa from free radical mediated sublethal radiation damage. *Free Radic. Biol. Med.*, **5**, 207(1988)
22. Peak, J. G., Ito, T., Robb, F. T. and Peak, M. J. : DNA damage produced by exposure of supercoiled plasmid DNA to high- and low-LET ionizing radiation : Effects of hydroxyl radical quenchers. *Int. J. Radiat. Biol.*, **67**, 1(1995)

(1998년 7월 18일 접수)