

쓰레기 매립지로부터 발생된 오염이 동물 림프구의 DNA 이상에 미치는 영향

김재우 · 이병한 · 임좌진 · 이수한 · 배춘식* · 김진영 · 정순욱 · 박희명 · 정병현¹

건국대학교 수의과대학

*전남대학교 수의과대학 및 생물공학연구소

DNA Damage of Peripheral Lymphocytes of Animals Exposed with Pollution at Waste Depository

Jea-woo Kim, Byeong-han Lee, Joa-jin Lim, Soo-han Lee, Chun-sik Bae*, Jin-young Kim, Soon-wuk Jeong, Hee-myung Park and Byung-hyun Chung¹

College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

*College of Veterinary Medicine, Biotechnology Research Institute, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

Abstract : Lots of waste are produced from cities and embedded at the depository. The waste produces chemicals and organic matters. Those toxicants contaminate air and water. The pollution causes the increase of insects thereby to spray pesticide on the depository as well as its outskirts. Chemicals and pesticide ingredients are accumulated on the depository and released into outskirts. Those toxic agents are assumed to generate DNA damage to animals exposed to the water and air pollutions. To prove the possibility of DNA damage to pollution, comet assay was conducted on lymphocytes of animals exposed to the pollution of a depository at Southern part of Seoul. Peripheral lymphocytes of animals were treated with endonuclease III and electrophoresed. Broken DNA was released and measured under fluorescence microscope. The measurement showed no statistically significant DNA damage but some individuals showed higher DNA damage than in that of control group. These experiments were carried out on rabbits and dogs, the most and the least contaminated, respectively. The rate of DNA damage of cows was in between that of rabbits and dogs.

Key words : DNA damage, pollution, waste depository, lymphocytes.

서 론

산업화 및 도시화가 급속히 진행됨으로 인해서 가정에서 사용하고 있는 쓰레기의 양과 질이 변화하고 있다. 도시로부터 생산된 쓰레기는 일정한 곳에 집하하여 소각과 매립으로 처리하는 것이 현실이다. 이렇게 처리된 쓰레기는 매립장 뿐만 아니고 주변 지역에게까지 오염시킬 수 있는 가능성이 있다. 오염은 대기 오염과 수질 오염이 이에 해당되는데, 대기 오염으로는 암모니아와 아황산가스가 주가 되며, 수질오염은 유기물 및 화학물질이 그 원인이 된다. 이러한 매립지의 제반 사정은 파리와 모기 등의 해충의 서식지로 적당한 상태가 될 수밖에 없다. 공중보건 차원에서 위해 해충을 막기 위하여 필연적으로 살충제를 살포해야만 한다. 시중에서 판매하고 있는 살충제는 유기인 및 유기염소 제제가 주종을 이루며, 식물 및 동물에 축적되어 동물에서 피부병 및 암을 일으킬 수 있다^{1,4}. 위에서 열거한 악취 성분이나 살충제들은 모두 동물세포의 유전적 변이를 일으킬 수 있는 소인을 가지고 있다. 따라서 매립지 주변에 있는 동물들에게 이러한 피해는 직·간접적으로 올 수 있을 것이다.

건강을 위해하는 요인을 연구하는 연구자들이 주목할 만큼 관심을 보이는 것은 체내에서 통제되지 않는 유리 자유기(free radical)의 존재가 건강을 해치는 직·간접의 원인으로 작용한다는 것이다. 유리 자유기는 매우 불안정한 상태로 자연법칙에 반하는 불안정한 상태이다. 일반적으로 전자는 쌍(pair)을 유지하려하기 때문에 유리 자유기의 외짝(single pair)이 짝지어지지 않은 전자는 다른 분자와 충돌이 일어나 그들로부터 전자를 빼앗아가 버릴 수 있다. 이리하여 다른 분자의 구조적 변화를 가져오며 또한 유리 자유기로의 변화의 원인이 된다¹⁰. 이러한 변화는 섭취분의 일초안에 수백만 분자의 구조적 변화를 무제한으로 계속 일으킬 수 있으며 염색체와 단백질분자, 효소, 세포의 파괴를 일으킬 수 있다. 수백만의 유리 자유기가 동물체내의 세포와 유전적 기질의 변화를 가져오는 것이 생명체가 살아오는 매초마다 진행되고 있는 것이다^{2,3,9,10}. 일반적으로 유리 자유기는 동물체내에서 내부로부터는 정상적인 대사기능이나 해독작용과 면역계반응과 같은 생화학적 반응이 진행됨에 따라 부산물로서 생기며 외부로부터는 우리가 섭취하는 음식과 음수(특히 화학약품이나 오염물질이 있는 경우), 약물의 복용, 오염된 공기의 호흡시에 발생한다¹⁰. 우리의 환경은 무한히 유리 자유기를 자연적으로 생산 공급할 수 있다. 유리 자유기는 핵산과 단백질 등 거대분자와 유리 아미노산, 지질, 탄수화물 등을 포함하

¹Corresponding author.
E-mail : chungbh@konkuk.ac.kr

는 모든 생화학적 부류의 화합물에 가역적이거나 비가역적인 손상을 줄 수 있으며, 이러한 것들에 의해 또한 막 기능이나 대사작용, 유전자 표현 등 세포의 활동에 손상을 가할 수 있다^{9,10}. 일반적으로 방사능, 화학물질, 환경오염 등의 외적요인과 정상적인 호흡 중에 유리되는 유리 자유기 등의 내적인 원인으로 인한 염색체의 산화적 파괴는 암 발생의 심각한 원인으로 알려져 있다⁶.

최근에 염색체 이상 유무를 측정할 수 있는 방법이 개발되었는데 이를 Comet assay라 부른다^{7,8}. DNA에 파손이 일어났을 경우 단절된 염색체 단편이 전기영동 시에 세포 밖으로 유리됨으로써 마치 혜성(Comet)의 꼬리(Tail)를 보는 것과 같아하여 붙여진 이름이다. 따라서 염색체 파괴가 의심되는 물질을 동물세포와 배양하게 되면 세포핵내의 염색체가 파손되고 이것이 세포 밖으로 유출되게 됨으로, 이를 측정함으로써 염색체 이상 유무를 판단하는 방법으로써 간단하고 정확도가 높기 때문에 점점 보편화되고 있다⁵.

본 연구에서는 쓰레기 매립지 주변지역에서 혼충방제를 위한 약품 살포 및 약취에 노출되어 사육된 동물의 림프구를 취해 염색체에 손상을 주는 원인 물질인 유리 자유기의 존재 여부를 조사하기 위하여 염색체 파괴검사를 실시하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 쓰레기 매립지 내에서 또는 인근의 환경에서 오랫동안 사육되어온 개 7마리, 소 7두(홀스타인, 암컷, 평균 체중 500 kg)와 청정 대조군 지역의 개 9마리, 소 8두(홀스

타인, 암컷, 평균체중 500 kg)를 선정하여 동일한 사료를 급여하였다. 그리고 방제약품으로 오염시킨 사료를 3개월간 급여한 토끼 6마리와 대조군 5마리의 토끼에 대해서는 청정사료를 급여하였다. 토끼는 평균체중 2.45 ± 0.29 kg의 7-8개월령 암컷 뉴질랜드화이트종을 사용하였다. 토끼에게는 항공 및 연막방제약품으로 사용되는 로알벤, 하이벤, 슈퍼벤, 프로킬라에이, 분무용 싸이크린 등 5종의 농약을 지시된 희석배율에 따라 희석한 후 각각의 방제약을 3개월간 3일 간격의 윤환제로 Table 1에 표시된 투여량을 사료에 분무하여 급여하였다.

실험방법

혈액의 채취. 개의 요측피정맥과 소의 유선정맥 그리고 토끼는 경정맥에서 Vacutainer를 이용하여 각각 10 ml씩 채혈하였다. 항응고제는 Li-Heparin을 이용하였다. 채혈부위는 알코올 솜으로 깨끗이 소독한 후 채혈하였고, 채혈 즉시 실험실로 운반하여 실험에 사용하였다.

림프구의 분리. 혈액 10 ml와 RPMI 1640 10 ml를 섞어 Lymphoprep이 함유된 50 ml conical centrifuge tube에 넣고 $700 \times g$ 의 속도로 30분간 원심 분리하였다. 이후 buffy lymphocytes band만을 취해 다시 40 ml의 RPMI와 섞어 $700 \times g$, 20분간 재원심분리를 시켰다. 원침된 림프구를 RPMI 1640에 부유시킨 후에 적정량의 세포와 Freezing medium (90% Fcs, 10% DMSO)을 혼합하여 -70°C 의 냉동고에 보관하였다가 필요시에 37°C 에 순간적으로 융해시킨 후 RPMI 1640 배지에서 3회 세척 후 다음 실험에 이용하였다.

Table 1. The commercial name, component and dosage of pesticide exposed rabbits

Commercial Name	Component	LD ₅₀ (rat, oral) (mg/kg)	High Concentration	Low*** Concentration
			Daily Dosage ($\mu\text{g}/200$ g)	Daily Dosage ($\mu\text{g}/200$ g)
ROYAL BEN (200:0.1)*	Deltamethrin (2.5%)	F** : 31	80.64	20.16
	Propetamphos (2.5%)	M:82	80.64	20.16
	Esbiol (1%)	784	32.44	8.11
HIGH BEN (250:0.1)	Tralomethrin (2.5%)	M:1250/F:1070	64.88	16.22
	Kadethrin (0.25%)	142-1324	6.48	1.62
	Propetamphos (7.25%)	M:82	188.16	47.04
SUPER BEN (333:0.1)	Deltamethrin (2.5%)	F:31	48.40	12.10
	Kadethrin (0.25%)	142-1324	4.88	1.22
	Propetamphos (7.25%)	M:82	140.40	35.10
PRO KILLER A (116.6:0.1)	Fluvalinate (7.5%)	280	414.80	103.70
	Chloropyrifos (10%)	145	553.04	138.26
SPRY CYCLIN (300:0.1)	Selecron (3.3%)	358	70.96	17.74
	Cypermethrin (2%)	200-800	42.96	10.74
	Dichlorvos (2.5%)	M:80/F:56	53.76	13.44

*() : dilution rate, ** F : Female, M : Male

***Low concentration = 1/4 High Concentration

염색체 변이 검사 (Comet assay). Comet assay는 Singh 등¹⁶의 방법을 기초로 하여 수행하였다. 즉 1% agarose (Gibco BRL)을 PBS (phosphate-buffered saline)에 용해한 후 슬라이드에 85 µl를 적하하여 응고시켰다. 1% low melting agarose (Gibco BRL)를 PBS에서 용해한 후 37°C 수조에 30분간 정치한 다음 2×10⁴개의 림프구를 함유하는 PBS와 혼합하여 1% agarose가 응고된 슬라이드 위에 중첩시켰다. 슬라이드를 용해용액 (2.5 M NaCl, 10 mM Tris-HCl pH 10, 1% Triton X-100)에 1시간 4°C에서 침적한 후 효소처리용액 (0.1 M KCl, 0.5mM EDTA, 40 mM HEPES-KOH, 0.2 mg/ml bovine serum albumin, pH 8.0)으로 3회 세정하였다. 처리된 슬라이드를 Endonuclease III가 함유된 효소처리용액에 45분 동안 37°C에서 배양한 후 0.3 M NaOH와 1 mM EDTA를 함유한 용액에서 40분 동안 침지했다. 슬라이드를 300 mA, 25 V에서 30분 동안 전기영동한 후 DAPI(4,6-diamidino-2-phenylindole)로 염색했다. 전기영동된 시료는 형광향체 현미경으로 관찰하였으며, 100개의 림프구를 관찰한 후 DNA 유출 정도를 0에서 4까지 등급을 표시하였다. 0은 전혀 DNA가 파괴 되지 않은 정도를 4는 최대한으로 DNA가 파괴된 것을 표시하여 슬라이드당 총점은 0(전혀 손상 받지 않음)에서 400(최대한 손상됨) 사이로 나타내었다.

핵형분석(Karyotyping). Giemsa staining은 Chaudhuri 등⁴의 방법에 따라서 수행하였다. 분리된 림프구를 RPMI 1640과 10% 우태아 혈청을 혼합하여 만든 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에 3일간 배양하고 Colcemid를 첨가하여 2시간 배양하였다. 저장액 (0.075 M KCl) 처리를 한 후, 실온에서 건조를 시킴과 동시에 5% Giemsa용액으로 염색하여 핵형을 분석하였다.

결 과

과산화수소 처리 후 동물 림프구의 염색체 변화

실험의 정확성을 기하기 위한 예비 실험으로 토끼, 소 및 개의 말초 림프구를 취한 후 각기 다른 농도의 과산화수소를 각 림프구에 처리하여 Comet assay를 실시하였다. Fig 1에서 보는 바와 같이 토끼 림프구에 Endonuclease III를 처리하지 않았을 경우에는 DNA 사슬의 파괴가 심하게 나타나지 않았으나, 일단 Endonuclease III로 처리하였을 경우는 Comet 현상이 두드러지게 나타났다. 이는 소와 개의 림프구에서도 동일한 결과를 얻을 수 있었다.

매립지 내에서 사육된 개 림프구의 염색체 변화

항공방제 살충제 살포지역에서 사육되었지만 살충제로 오염된 사료를 섭취했을 것으로 생각되지는 않으나 살충제 오염환경에 오랫동안 매립지의 악취와 분진 등에 노출된 개를 대조군과 함께 Comet assay를 하였던 바, 평균 Comet 현상은 대조군과 통계학적으로 유의성이 인정되지 않았다 (p>0.05).

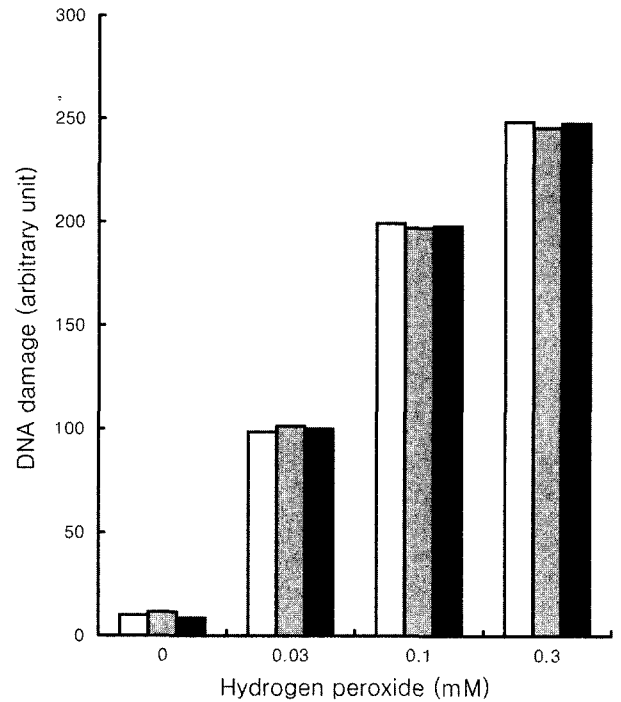


Fig 1. DNA damage incurred by lymphocytes treated with H₂O₂. Lymphocytes from rabbits(□), dogs(▨), or cows(■) were treated with H₂O₂ at various concentration. DNA strand breaks were measured by comet assay.

염색체 수준에서 DNA 이상 유무를 조사하기 위하여 외관상 기형으로 판정되는 6마리의 개를 추가로 핵형분석을 실시하였으나 대조군에 비해서 특이한 염색체상의 변화는 관찰할 수 없었다(Table 2).

매립지 주변 지역에서 사육된 소 림프구의 염색체 변화

매립지 부근에서 사육된 소를 임의적으로 선택한 후 말초혈액을 채취하고 분리 림프구에 대하여 Comet assay를 시도하였던 바, 대조군에 비하여 실험군의 말초혈액 림프구의 DNA 손상 정도가 다소 높게 나타났으나 통계학적으로 차이는 인정할 수 없었다. 또한 개체 감수성 차이에 기인 될 것으로 보이는 한 마리의 Comet arbitrary index 59.5를 제외했음에도 불구하고 통계학적으로 차이가 인정되지 않았다 (Table 3).

살충제로 오염시킨 사료를 급여한 토끼 림프구의 염색체 변화

쓰레기 매립지 주변지역의 상황을 가장 잘 재현할 수 있고 실험의 정확성을 기하기 위해 6마리의 토끼를 매립지에서 항공 방제용으로 사용해온 살충제를 구입하여 사료에 분무하여 3개월간 급여하고 림프구를 분리하여 실험에 공시하였다. Table 4에서 보는 바와 같이 실험군의 토끼 림프구에서 Comet 현상은 대조군에 비해 통계학적인 유의차를 인정할 수 없었다(p=0.146).

Table 2. DNA damage assessed in lymphocyte samples from dogs exposed to the pollution of depository. The comet assay was run with(butter) or without enzyme buffer(control) or enzyme buffer and Endonuclease III(Endo III) before electrophoresis. [Net Endo III] = [Endo III] - [buffer]

Group	No.	Control	Buffer	Endo III	Net endo III
Experimental Group	1	123.5	168	245	77
	2	115	176.5	273.5	97
	3	114	118.5	242	123.5
	4	105	131	257	126
	5	96.5	125.5	223	97.5
	6	95	142	254	112
	7	99	123	212	89
	mean		106.9±4.1	140.6±8.7	243.8±7.9
Control Group	1	104.5	128	272.5	144.5
	2	120	130	271.5	141.5
	3	109.5	137.5	235	97.5
	4	62	129	180	51
	5	78	154	237	83
	6	97	131.5	228	96.5
	7	86	164	243	79
	8	85	113	229	116
	9	50	117	251.5	134.5
mean		88±7.6	133.8±5.4	238.6±9.2	104.8±10.7

Table 3. DNA damage assessed in lymphocyte samples from cows exposed to the pollution of depository. The comet assay was run with(butter) or without enzyme buffer(control) or enzyme buffer and Endonuclease III(Endo III) before electrophoresis. [Net Endo III] = [Endo III] - [buffer]

Group	No.	Control	Buffer	Endo III	Net Endo
Experimental Group	1	126.5	160	220	59.5
	2	115	117	204	87
	3	131	170.5	284	113.5
	4	77.5	111.5	232.5	121
	5	111	102.5	200.5	98
	6	126.5	174.5	260.5	86
	7	61	109.5	260.5	151
	mean		106.9±10.3	135.1±12	237.4±12
Control Group	1	98	141	252	111
	2	147	183.5	273	89.5
	3	143	175.5	287	111.5
	4	103	189.5	286	96.5
	5	109.5	146	263.5	117.5
	6	93.5	153	241	88
	7	123	190	255	65
	8	79	146.5	225.5	79
mean		112±10.3	165.6±7.5	260.4±7.6	94.75±6.4

실험동물별 살충제에 의한 염색체 변화 비교
살충제의 노출가능성에 따라서 DNA 파괴 정도가 다를 것

으로 예상되었기 때문에 본 연구에서는 살충제의 직접적인
효과를 알기 위하여 Table 2, 3 및 4에서 보여준 바와 같이

Table 4. DNA damage assessed in lymphocyte samples from rabbits fed diet with pesticide for 3 months. The comet assay was run with(butter) or without enzyme buffer(control) or enzyme buffer and Endonuclease III(Endo III) before electrophoresis. [Net Endo III] = [Endo III] - [buffer]

Group	No.	Control	Buffer	Endo III	Net endo
Experimental Group	1	55.5	45.5	158	112.5
	2	16	30	199	169
	3	51	147.5	248	100.5
	4	30	143.5	246	102.5
	5	58	143.5	215.5	72
	6	37	52	244.5	192.5
	mean		41.3±6.8	93.7±23.2	218.5±14.6
Control Group	1	48.5	38.5	174	135.5
	2	37.5	79.5	248.5	169
	3	97	187	260	73
	4	48	98	235	137
	5	47.5	63	199	136
	mean		55.7±10.5	93.2±25.3	223.3±16.1

조사된 기초 자료에 입각해서 살충제에 가장 적게 폭로되었을 것으로 생각되는 개와 초지를 통해서 중등도의 오염된 사료를 섭취했을 가능성이 있는 젖소, 그리고 본 연구를 위해 살충제를 인위적으로 살포하여 오염시킨 사료를 급여한 토끼를 대상으로 자료를 분석하였던 바, 예상했던 대로 Fig 2에서 보는 바와 같이 오염의 정도가 가장 적은 개의 림프구

에서는 Comet 현상이 낮게 나타났으며, 직접적으로 살충제에 오염된 사료를 섭취한 토끼에서는 가장 높은 Comet 현상을 볼 수 있었다. 한편 소 림프구의 Comet 값은 개와 토끼 림프구 Comet 값의 중간을 나타냈다. 그러나 3종의 실험동물 모두에서 유의성 있는 결과는 나오지 않았다.

고 찰

동물의 사육환경에 대한 스트레스는 주로 “산업화” “도시화” “인구증가” 등에 의해 발생된다. 즉, 산업화에 따른 공장과 도시화에 따른 쓰레기 처리시설 등에서 나오는 매연, 분진, 악취 및 유해가스로 인한 대기오염, 도시화 및 산업화에 따른 화학적, 물리적 및 생물학적 제제 등에 의한 수질오염, 그리고 인구밀집 및 도시화에 의한 여러 소음과 진동 등이 단독 혹은 복합적으로 자연환경과 동물의 생활환경을 위협한다. 이와 같이 생물체를 위협하는 여러 가지 환경요인을 과학적으로 측정하고 연구하여 합리적이고 쾌적한 생활을 영위 할 수 있도록 하기 위하여 부적합한 환경을 개선하도록 하는 일은 단지 동물의 사육환경의 개선차원을 떠나 인류생존 및 복지차원의 문제이며 깨끗한 지구를 후손에 물려주는 가장 근본적이고 중요한 생존의 문제인 것이다.

Selye는 환경의 변화에 대하여 동물체가 본능적으로 적응하려고 하는 노력 그 자체를 스트레스로 일축하여 질병과의 연관성을 규명하였다¹⁵. 동물에 있어서 좋은 환경은 육체적인 안락함을 유지하며 질병에 대한 통제와 행동의 안락함을 유지해 준다. 이러한 요소들이 부족하거나 과잉 혹은 자극적인 요소를 제공하는 환경은 스트레스를 유발시킨다¹⁵. 동물에게 스트레스 유발인자가 작용하게 되면 내분비계와 신경계의 생리적 작용이 변화하게 되며 감각신경의 자극에 대해서는 신경계가 단시간 반응하고 내분비계는 장시간 반응한

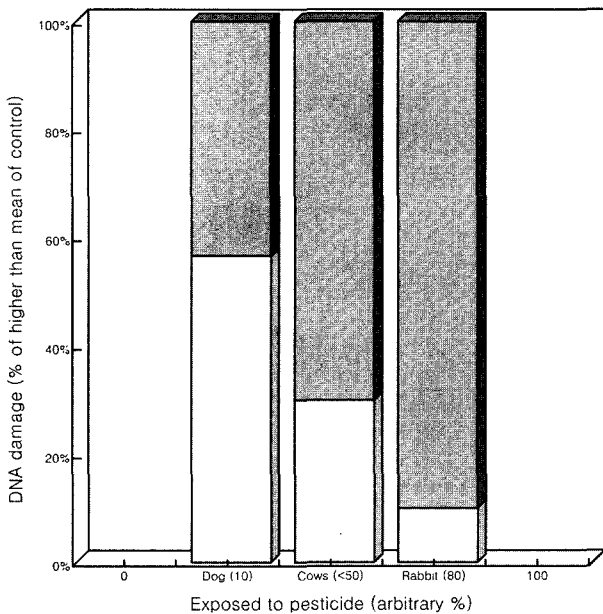


Fig 2. DNA damage incurred by lymphocytes exposed to pesticide. Lymphocytes from dogs, cows and rabbits respectively exposed to mild, moderate and severe pesticide. Lymphocytes treated with Endonuclease III and DNA strand breaks were measured by comet assay. (□: treatment group, ▒: control group)

다^{11,12}. 또한 충격적인 자극은 임신가축에 있어서는 유산과 같은 결과를 초래하게 되며, 화학적인 자극물질 특히 독극물의 지속적인 섭취는 기형가축이 발생할 수 있는 것으로 알려져 있다^{11,13}.

본 실험에서는 이러한 근거를 바탕으로 개와 소 및 토끼를 실험동물의 대상으로 하였으나 동물에 따라 실험조건은 다소 차이는 있었다.

토끼는 청정지역으로부터 구입하여 인위적으로 오염시킨 사료를 사용한 결과로서 매립지에서 실제 누적된 상태의 오염이 토끼에게 적용되지 않았기 때문에, 매립지의 실제상황은 아닌 가상적인 실험이지만 본 실험에서 알 수 있듯이 쓰레기 매립지에서 혼충을 방제하기 위하여 공중방제용으로 사용한 살충제는 섭취량에 따라 토끼에게서 통계학적으로 인정할 만한 염색체 이상을 초래할 수 있을 것으로 생각된다.

그러나 매립지 내에서 혹은 인접한 주변지역에서 사육된 개와 소에서 염색체 이상이 아주 경미한 차이로 나타난 것은 공기와 음수의 자연 자정작용에 기인되었을 것으로 생각된다. 그러나 이러한 자연 현상에 의존한 오염의 희석 정도는 때에 따라서는 일정한 한 곳에 오염이 농축됨으로써 염색체 이상을 초래할 수도 있고, 또한 항공방제지역 내에서 야초를 채취하여 소를 사육할 수도 있는 것으로 생각한다. 따라서 오염지역에서는 사람에게 축산물을 제공하는 가축의 사육이 규제되어야 할 것으로 생각한다.

비록 실험군의 숫자적인 제약으로 인하여 일반화해서 정의하기는 어렵지만, Fig 2에서 보는 바와 같이 살충제 살포에 폭기 정도에 따라 염색체에 이상 현상이 다르게 나타날 수도 있다는 것은 매우 흥미로운 일이다. 이러한 실험결과에서 예상할 수 있는 염색체이상 유무에 직접적인 원인은 매립지 자체에서 시행한 항공방제용 살충제가 그 원인으로 생각되며, 매립지에서 발생하는 소음과 진동, 분진, 암모니아 및 아황산 등에 의한 악취가 매립지주변 가축들에게 정신적인 스트레스가 간접적으로 작용하였을 것으로 추정된다.

동물에게 스트레스를 유발시키는 요인은 다양하며 복합적이고 개체별 적응능력이 상이하기 때문에 일부 단편적인 영향만을 측정하여 직접적으로 평가한다는 것은 매우 어려운 일이다. 특히 소음, 진동, 악취 등과 같은 동물의 심리적 요인을 자극하는 환경인자나 동물을 감각적으로 자극하는 환경인자에 대한 연구보고는 극히 제한적인 형편이어서 더욱 체계적인 연구가 요구된다.

결 론

도시의 생활 쓰레기 매립지 주변에서 사육하고 있는 가축의 피해 원인을 분석하고자 염색체 이상 유무에 대한 실험을 하였다. 이에 대한 조사 방법으로는 최근에 개발된 Comet assay 방법을 사용하였으며 실험동물로 쓰레기 매립지 인근지역에서 개 7마리, 소 7두와 대조군은 청정 지역에서 개 9마리, 소 8두 및 오염사료를 급여한 실험군 토끼 6마리와 청정사료를 급여한 대조군 토끼 5마리, 총 42마리의

실험동물을 선정하여 실험을 실시한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 매립지 구역내에서 사육된 개의 림프구의 염색체 변화는 대조군과 비교했을 때 경미한 차이는 있었으나 유의성이 인정되지 않았다.
2. 매립지 인접지역에서 사육된 소 림프구의 염색체 변화는 대조군과 비교했을 때 경미한 차이는 있었으나 유의성이 인정되지 않았다.
3. 매립지 주변지역의 상황을 재연하고 실험의 정확성을 기하기 위해, 매립지에서 항공 방제용으로 사용해온 살충제로 인위적으로 오염시킨 사료를 급여한 토끼의 림프구의 염색체 변화도 대조군과 비교했을 때 유의성이 인정되지 않았다.
4. 살충제에 노출된 토끼군의 결과가 매립지 주변 환경에서 사육된 개와 소를 사용한 실험에서보다 약간 높은 수치를 보였으나 유의성은 없었다.

이상의 실험결과를 종합하여 볼 때, 쓰레기 매립지 주변에서의 오염에 대한 동물의 림프구의 염색체 이상유무 확인실험에서는 생물학적 유의성이 없는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

1. Apple JK, Minton JE, Parsons KM, Unruh JA. Influence of repeated restraint and isolation stress and electrolyte administration on pituitary-adrenal secretion, electrolytes and other blood constituents of sheep. *J Anim Sci* 1993; 71(1): 71-77.
2. Bunker VW. Free radicals, antioxidants and ageing. *Med Lab Sci* 1992; 49(4): 299-312.
3. Cerutti PA. Effects of ionizing radiation on mammalian cells. *Naturwissenschaften* 1974; 61(2): 51-59.
4. Chaudhuri JP, Vogel W, Voiculescu I, Wolf U. A simplified method of demonstrating Giemsa-band pattern in human chromosomes. *Humangenetik* 1971; 14(1): 83-84.
5. Collins AR. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol* 2004; 26(3): 249-261.
6. Collins AR, Dusinska M, Gedik CM, Stetina R. Oxidative damage to DNA: Do we have a reliable biomarker? *Environ Health Perspect* 1996; 104(Suppl 3): 465-469.
7. Collins AR, Duthie SJ, Dobson VL. Direct enzymic detection of endogenous oxidative base damage in human lymphocyte DNA. *Carcinogenesis* 1993; 14(9): 1733-1735.
8. Collins AR, Ma AG, Duthie SJ. The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) in human cells. *Mutat Res* 1995; 336(1): 69-77.
9. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complication. *Diabetic care* 1996; 19(3): 257-267.
10. Halliwell B, Gutteridge HMC. Free radicals in biology and medicine, 3rd ed. New York: Oxford. 1998.
11. Hayasho KT, Moberg GP. Influence of acute stress and the adrenal-axis on regulation of LH and testosterone in the male Rhesus Monkey. *Am J Primatol* 1987; 12: 261-273.
12. Lay DC Jr, Friend TH, Bowers CL, Grissom KK, Jenkins OC.

- A comparative physiological and behavioral study of freeze and hot-iron branding using dairy cows. *J Anim Sci* 1992; 70(4): 1121-1125.
13. Noern O. Noise from Animals Production. In: *World Animals Science*. New York: Elsevier Science Publishers. 1987: 27-46.
14. Plimmer JR. Pesticide residues and exposure. Washington, DC: American Chemical Society. 1982.
15. Selye H. *Selye's guide to stress research*. New York: Van Nostrand Reinhold Company. 1980.
16. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 1988; 175: 184-191.