

The Serum or Urinary Levels of Cyclohexane Metabolites in Liver Damaged Rats

Hyun-Sung Joh[†]

Department of Oriental Medicine Resources, Asia University, Gyeongsan 712-220, Korea

To evaluate an effect of pathological liver damage on the cyclohexane (CH) metabolism, rats were pretreated with 50% carbon tetrachloride (CCl₄) dissolved in olive oil (0.1 ml/100 g body weight) 10 or 17 times intraperitoneally at intervals of every other day. To these liver damaged animals, CH (a single dose of 1.56 g/kg body weight, i.p.) was administered at 48 hr after the last injection of CCl₄. The CH metabolites; cyclohexanol (CH-ol), cyclohexane-1,2-diol (CH-1,2-diol) and cyclohexane-1,4-diol (CH-1,4-diol) and cyclohexanone (CH-one) were detected in the urine of CH treated rats. After CH treatment, the serum levels of CH-ol and CH-one were remarkably increased at 4 hr and then decreased at 8 hr in normal group. Whereas in liver damaged rats, these CH metabolites were higher at 8 hr than at 4 hr. The excretion rate of CH metabolites from serum into urine was more decreased in liver damaged animals than normal group, with the levels of excretion rate being lower in CCl₄ 17 times injected animals than 10 times injected ones. It was interesting that the urinary concentration of CH metabolites was generally more increased in liver damaged animals than normal ones, and the increasing rate was higher in CCl₄ 17 times injected rats than 10 times injected ones. Taken all together, it is assumed that reduced urinary excretion rate of CH metabolites in liver damaged rats might be resulted from deteriorated hepatic and renal blood flow, and an increased urinary excretion amount of CH metabolites in liver damaged rats might be caused by reduced expiration amount of the metabolites due to lung damage.

Key Words: Cyclohexane metabolism, CCl₄, Cyclohexanol, Cyclohexanone

서 론

최근 산업의 발전에 따라 화학물질의 종류와 양은 날로 증가하고 있으며 생활공간, 식품 및 각종 용기의 오염으로 인한 환경오염은 인간의 건강을 위태롭게 하고 있다. 특히 산업장에서 산업화학물질의 인체 폭로는 산업장 근로자들에게 직업병과 같은 질병을 유발하고 있어 사회적 문제를 제기하고 있는 실정이며, 더욱이 노약자와 질병을 앓고 있는 환자들에게 환경오염물질의 폭로와 더불어 다양한 화학물질의 복합적·중복적 폭로는 인간의 건강에 심각한 문제를 제기할 수 있다.

Cyclohexane (CH)은 산업장에서 *n*-hexane (Perico et al., 1999) 과 benzene (Perbellini and Brugnone, 1980)의 대체물질로 라커와 수지 및 페인트의 용매로서 뿐만 아니라 세정제로도 널리 사용되고 있는 지환족의 화학물질이며 유기합성의 중간생성

물질 (Ellenhorn and Barceloux, 1988)로도 알려져 있다. 최근 Yoon 등 (2000)은 우리나라 산업장에서 사용되고 있는 세정제 중 CH가 많이 함유되고 있음을 보고하였다. 그리고 CH의 위해성은 낮은 것으로 평가 (Sandmeyer, 1981)된 바 있다. 그러나 미국산업안전보건연구소 (NIOSH, 1985)에서는 CH가 눈, 호흡기계, 피부 및 중추신경계에 손상을 야기하는 물질로 분류하였으며, 생체에 폭로 시, 위장 (Longacre, 1987), 신장 (Bernard et al., 1989) 및 신경계 (Naskali et al., 1994)의 장애와 더불어 피부의 염증반응 (Longacre, 1987; Iyadomi et al., 1998)을 유발시킨다고 하였으며, 최근 전 등 (2000)은 실험동물에서 CH가 폐에 중독반응을 나타낸다고 보고하였다.

생체 내로 흡수된 CH은 주로 간조직에서 cyclohexanol (CH-ol)로 대사 (Nordblom and Coon, 1977; Senler et al., 1985)되며 일부는 β-glucuronide 형태로 포함되어 소변 중에 배설 (Treon et al., 1943; Elliott et al., 1959)되고, 나머지는 독성 중간대사산물인 cyclohexanone (CH-one, Smyth et al., 1969; James and Waring, 1971; Sakata et al., 1989)으로 산화되기도 한다. 또한 CH-one의 일부는 CH-ol로 재환원되어 폐를 통해 외기로 직접 배출되거나 1,2-cyclohexanediol (CH-1,2-diol) 혹은 1,4-cyclohexanediol (CH-1,4-diol)의 형태로 소변 중에 배설된

*논문 접수: 2006년 6월 27일

수정재접수: 2006년 8월 30일

[†]교신저자: 조현성, (우) 712-220 경북 경산시 여천동 240-3번지, 아시아대학교 한약자원학과

Tel: 018-501-6421, e-mail: hyunsung64@hanmail.net

다 (Skakata et al., 1989; Perico et al., 1999). 그리고 CH의 대사과정 중 생성된 CH-ol 및 CH-one에 의해 생체 내 독성 작용이 유발된다고 한다 (Smyth et al., 1969; James and Waring, 1971) (Fig. 1).

한편 현대인에 있어서 다양한 화학물질 폭로와 약물의 오·남용, 비만증, 주류섭취 등으로 간질환이 증가되고 있으며 이에 독성물질의 변수가 작용함과 더불어 간장이 독성물질 대사와 해독의 주된 장기라는 점을 감안해 볼 때 간장의 병태·생리적 조건이 독성물질의 해독에 심각한 영향을 미칠 것으로 생각된다. 특히 간장의 병태·생리적 조건인 급·만성 간조직 손상과 관련된 간 실질세포 질환 (parenchymal liver disease) 시에는 약물의 반감기가 지연된다는 보고 (Howden et al., 1989)가 있으며, 최근 Cha 등 (1998)은 사업화탄소에 의한 급성 간손상 시 toluene의 대사율이 감소된다고 하였으며, Lee 등 (1999)은 사업화탄소 (CCl₄)에 의한 급성 간손상 시 xylene의 대사율이 저하된다고 하였다.

이상 여러 연구자들의 보고를 종합해 볼 때 간손상 정도의 차이 그리고 독성물질 및 약물의 종류에 따라 xenobiotics의 대사가 다양하게 나타나며 최근 CH를 다른 유기용제와 혼합 시 유해성이 높게 평가될 뿐만 아니라 생체에 단독 폭로 시에도 의의 있는 유해성 평가가 요구되고 있는 실정이다. 더욱이 병태·생리적 조건인 간손상 시에 CH의 생화학적·동력학적 연구는 아직도 미흡하다.

이에 본 연구는 흰쥐를 사용하여 CCl₄에 의한 피사성 간손상과 이에 수반한 섬유화 및 담도성 간손상을 유도한 뒤 CH를 투여한 다음, 혈청 및 요 중에서 CH 대사산물의 동력학적인 변동을 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 동물 및 처치

실험동물은 Sprague-Dawley 계 외견상 건강한 체중 250±10 g의 웅성 흰쥐를 대한동물실험센터(서울, Korea)로부터 구입한 후 사육실 (온도: 25±1°C, 상대습도: 50±5%)에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험군은 각각 6마리씩 분리수용 하였으며 실험기간 동안 물과 사료 (삼양사, 서울, Korea)의 양은 제한 없이 공급하였다. 각 실험군은 각 6마리씩 총 9군으로 하였다. 즉 정상군에 CH 투여 4시간 후 처치군, 정상군에 CH 투여 8시간 후 처치군, CCl₄ 10회 투여군, CCl₄ 10회 투여한 다음 CH 투여 4시간 후 처치군, CCl₄ 10회 투여한 다음 CH 투여 8시간 후 처치군, CCl₄ 17회 투여군, CCl₄ 17회 투여한 다음 CH 투여 4시간 후 처치군 및 CCl₄ 17회 투여한 다음 CH 투여 8시간 후 처치군으로 하였다.

간손상 유도는 CCl₄와 olive oil과의 동량혼합액 (1:1)을 실

험동물에 복강으로 체중 100 g당 0.1 ml를 2일 간격으로 10회 및 17회 투여하였다. CH 투여는 체중 kg당 1.56 g 해당되는 olive oil과의 혼합액을 Bernard 등 (1989)의 방법에 따라 실험동물의 처치 4시간 및 8시간 전에 복강으로 투여하였다. 각 군의 대조군은 olive oil만 투여하였다. 각 실험군은 처치 24시간 전부터 물만 공급하고 절식시켰으며, 대조군과 각 실험군은 metabolic cage에 넣어 CH를 투여한 후, 4시간과 8시간 동안의 소변을 채취하여 CH 대사산물 측정 시료로 사용하였다.

실험동물의 처치는 ether 마취 하에서 복부 정중선을 따라 개방한 다음 복부 대동맥으로부터 채혈하여 실험사 시킨 후, 4°C 생리식염수로 간문맥을 통하여 간을 관류하여 간 내에 남아있는 혈액을 제거한 다음, 간을 적출하였다. 적출한 간은 생리식염수로 표면에 묻은 혈액을 가볍게 씻은 후, 여지로 압박하여 간조직 내에 남아있는 생리식염수를 가능한 모두 제거한 다음 무게를 칭량하였다. 그리고 폐와 신장무게도 칭량하였다. 간 및 폐의 일부는 병리조직검사에 사용하였으며 채취한 혈액은 실온에서 30분간 방치 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 혈청을 얻었으며, CH 대사산물, urea nitrogen, bilirubin 및 creatinine 측정 시료로 사용하였다. 단백질 정량은 Lowry 등의 방법 (1951)에 따라 bovine albumin 을 표준품으로 사용하여 측정하였다.

2. 생화학적 검사

Blood urea nitrogen (BUN) 검사는 혈청으로 Faulkner와 King (1976)의 방법에 따라 측정하였으며 creatinine 측정은 Jaffe 반응을 이용한 Butler (1975)의 방법에 따라 측정하였으며 Malondialdehyde (MDA) 함량 측정은 Ohkawa 등 (1979)의 방법에 준하여 측정하여 마쇄균질액의 MDA를 산성조건하에 2-thiobarbituric acid와 가열 반응시켜 생성된 물질을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 요 및 혈청 중 CH의 대사산물 측정

CH의 대사산물 측정은 Bao 등의 방법 (1997)에 준하여 액체-액체 추출방법으로 분석을 행하였다. 추출 용매는 ethyl acetate 및 acetonitrile을 7:3의 비율로 혼합한 것을 사용하였다.

CH 대사산물의 측정은 요 및 혈청 시료 0.5 ml를 취해 원심분리용 시험관 (screw cap tube)에 넣고 추출 용매 0.5 ml를 가하여 3분간 교반한 후 12,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 깨끗한 vial에 옮긴 후 반복 추출한 상층액을 합하였다. 이 상층액 1 µl를 GC에 주입하여 분석하였다. 그리고 요중 CH의 총 대사산물을 측정하기 위해, 요 1 ml에 β-glucuronidase 2,000 unit를 가하여 37°C에서 1시간 동안 incubation한 다음 동일한 방법으로 추출하였다. 각 대사산물의

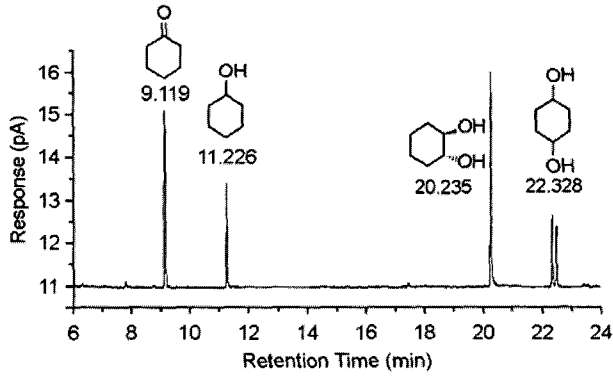


Fig. 1. GC-FID chromatogram of standard solution.

정량은 표준물질을 GC에 주입하여 나온 chromatogram의 면적을 이용하여 작성한 표준 검량선에 준해 산출하였다 (Fig. 1). CH 대사산물의 양은 혈청은 혈청 1 당 mg으로, 요는 creatinine g당 g으로 나타내었다.

4. 광학현미경 관찰

조직의 광학현미경적 변화를 관찰하기 위해 적출 즉시 장기 일부분을 10% neutral buffered formalin 액에 고정시키고, 고정이 끝난 조직을 흐르는 물에 수세한 후 순차적으로 alcohol의 농도를 증가시키며 탈수시킨 다음 paraffin에 포매하였다. 포매된 조직을 5 μ m 두께로 절편 (Lipshaw, model 45, Detroit, USA)한 다음, hematoxylin-eosin 염색하고 광학현미경 (Olympus, BH-2)으로 관찰하였다.

5. 결과의 통계처리

유의성 검정은 Student's t-test (Scheffler, 1980)로 하였으며 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

결 과

1. CCl₄에 의한 간손상 모델 실험동물 유도

간조직을 광학현미경으로 관찰하였을 때 olive oil만 투여한 대조군은 병리적 손상소견은 발견할 수 없었다 (Fig. 2a). CCl₄를 10회 투여한 군에서는 간세포삭의 배열이 매우 불규칙하였고 문맥 간소엽 (portal lobule)의 가장자리 부분으로 지방변성과 간세포의 중심대 괴사가 관찰되었다 (Fig. 2b). CCl₄를 17회 투여한 군에서는 문맥 간소엽의 가장자리 부분으로 다리가 형성된 중심대 섬유화 (central fibrosis with bridging)가 나타났으며, 간소엽 전반에 걸쳐 간세포 괴사가 관찰되었으며 이러한 섬유화 구역 내에서는 담도증식 현상이 뚜렷하였다 (Fig. 2c).

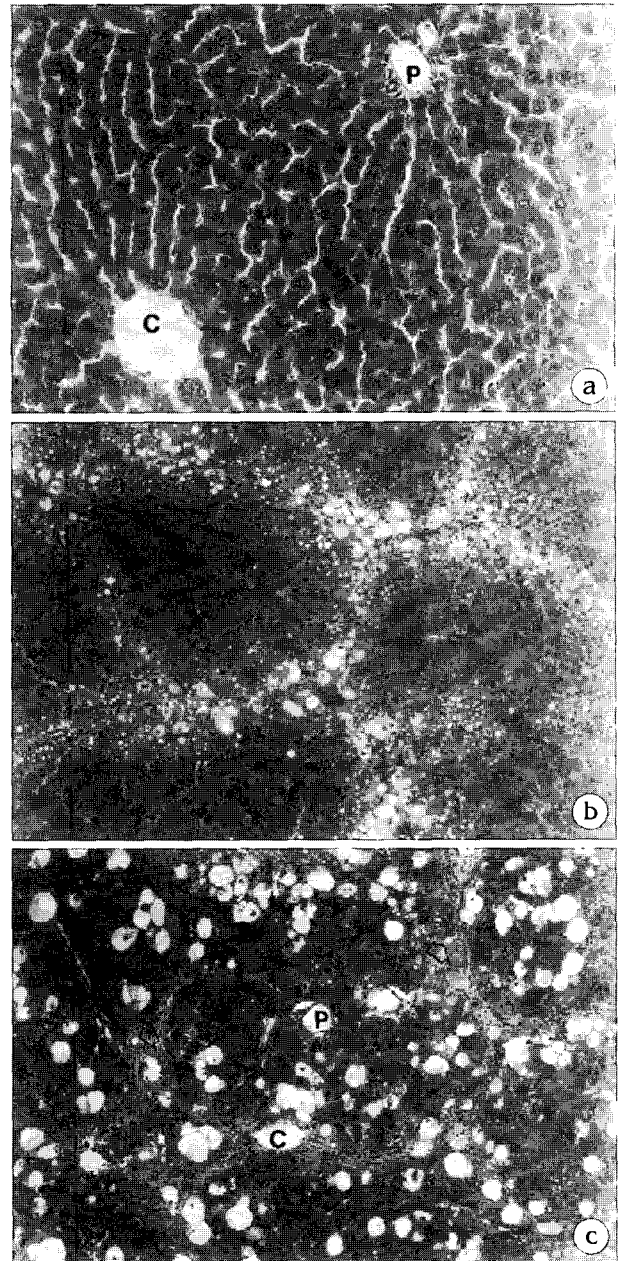


Fig. 2. Micrograph of liver tissue in normal and CCl₄-treated rats, H&E stain. a) Normal, The tissue structure was intact ($\times 200$). b) 10 times injection of CCl₄, Fatty degeneration was shown in the margins of portal lobules accompanying central necrosis of hepatocyte ($\times 100$). c) 17 times injection of CCl₄, Central fibrosis with bridging was observed along the margins of portal lobules. Proliferation of new ducts (arrows) in the fibrotic zone and necrosis of hepatocytes were shown ($\times 100$). C: central vein, P: portal vein.

2. 혈청 중 CH과 CH-ol 함량

실험동물에 CH을 투여 시, CH의 대사산물이 혈청으로부터 요 중으로 배설되는 배설율의 결정시간을 알아보기 위해, 혈청 중 CH-ol 및 CH-one의 경시적 함량변동을 관찰한 것이

Fig. 3과 같다. CH 투여 후 혈청 중 CH-ol은 급격히 증가되어 4시간째 최고치 (14.88 mg/L of serum)를 나타내었으며, 이후 8시간 (6.84 mg/L of serum)까지는 급격히 감소한 후 24시간까지 점진적인 감소를 나타내었다. 혈청 중 CH-one 역시 4시간까지는 급격히 증가하여 최고치 (4.64 mg/L of serum)를 보였으며, 이후 8시간 (2.88 mg/L of serum)까지는 비교적 빠르게 감소한 후 24시간까지 점진적인 감소를 보였다.

3. 요 중 CH 대사산물 정량

CH을 투여한 후 생성된 CH의 대사산물을 요 중에서 정량한 결과는 Table 1과 같다. 본 실험조건에서 CH-ol, CH-one, CH-1,2 및 1,4-diol의 4가지 CH 대사산물이 확인되었다. CH의 주된 대사산물로 CH-ol이 96.3%로 나타났으며, CH-one, CH-1,2-diol 및 CH-1,4-diol은 각각 0.3%, 2.9% 및 0.5%로 나타났다.

4. 혈청 중 CH-ol 및 CH-one 농도변동

본 실험조건에서 CH 투여 4시간 및 8시간 후 간손상 실험

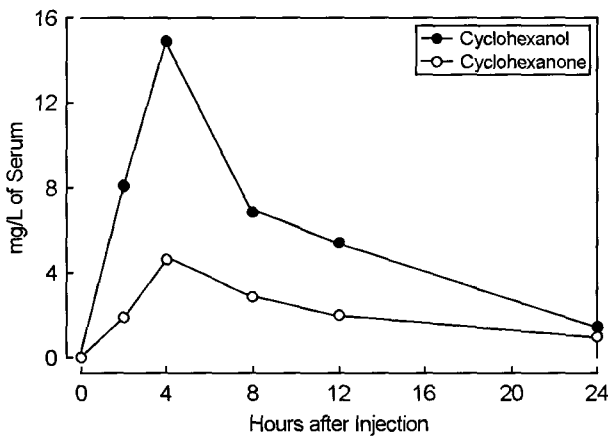


Fig. 3. Changes in the serum levels of cyclohexane metabolites in cyclohexane-treated rats. Each value represents the mean of 3 experiments.

군과 정상군 사이의 CH-ol 및 CH-one의 혈청 중 함량변동을 관찰한 것은 Table 2와 같다. CH 대사산물의 혈청 중 최고 농도치를 나타내는 4시간째에는 CH-ol의 경우, 정상군에 비해서 10회 및 17회 투여군이 각각 약 41% 및 40% 감소하였으며 8시간째에는 10회 및 17회 투여군이 정상군에 비해서 각각 97% 및 63% 정도 증가하였다. 그리고 4시간 혈청에 대한 8시간 혈청 중 농도비의 경우, 정상군에서는 약 54% 감소되었으나 CCl₄ 10회 및 17회 투여군에서는 각각 53% 및 24% 정도 오히려 증가되었다. 한편 CH-one의 경우, 4시간째에는 정상대조군에 비하여 CCl₄ 투여횟수에 따라 각각 약 6% 및 24% 증가하였으며, 8시간째에는 10회 및 17회 투여군이 정상군에 비해서 각각 2.3배 및 2.4배 정도 증가하였다. 그리고 4시간 혈청에 대한 8시간 혈청 중 농도비의 경우, 정상군은 약 38% 감소되었으나 CCl₄ 10회 및 17회 투여군은 각각 36% 및 21% 정도 증가되었다.

Table 1. Urinary concentration of CH-ol, CH-one, CH-1,2-diol and CH-1,4-diol during 8 hr in CH-treated rats

Metabolites	g/g of creatinine (1×10^{-3})			
	CH-ol	CH-one	CH-1,2-diol	CH-1,4-diol
Total	869.22 (96.3%)	2.50 (0.3%)	25.84 (2.9%)	5.00 (0.5%)

Each value indicates the concentration of CH metabolites in pooled urine of each group. ND: not detected. CH, cyclohexane; CH-ol, cyclohexanol; CH-one, cyclohexanone; CH-1,2-diol, cyclohexane-1,2-diol; and CH-1,4-diol, cyclohexane-1,4-diol

Table 2. Effect of CH treatment on the serum levels of CH metabolites in CCl₄-pretreated rats

Hours	Frequency of CCl ₄ injection					
	Normal		10 times		17 times	
	4	8	4	8	4	8
CH-ol	14.88	6.84	8.84	13.50	8.96	11.12
CH-one	4.64	2.88	4.94	6.74	5.76	6.96

Each value indicates the concentration of CH metabolites in pooled serum of each group. Unit: mg/l of serum. CH, cyclohexane; CH-ol, cyclohexanol; and CH-one, cyclohexanone

Table 3. Effect of CH treatment on the urinary concentration of CH-ol, CH-one, CH-1,2-diol and CH-1,4-diol in the CCl₄-pretreated rats

Hours	Frequency CCl ₄ of injection					
	Normal		10 times		17 times	
	4	8	4	8	4	8
CH-ol	279.00	869.22	374.21	872.73	881.53	978.15
CH-one	1.69	2.50	2.63	3.05	5.07	6.45
CH-1,2-diol	3.36	25.84	6.06	22.16	25.70	28.44
CH-1,4-diol	N.D	5.0	N.D	2.99	N.D	4.88

Each value indicates the concentration of CH metabolites in pooled urine of each groups. Unit: g/g of creatinine, ND: not detected. CH, cyclohexane; CH-ol, cyclohexanol; CH-one, cyclohexanone; CH-1,2-diol, cyclohexane-1,2-diol; and CH-1,4-diol, cyclohexane-1,4-diol

5. 요 중 CH 대사산물의 농도변동

Table 3의 결과는 4시간 및 8시간째의 CH-ol, CH-one, CH-1, 2 및 1,4-diol의 요 중 농도변화의 결과를 나타낸 것이다. 정상군과 실험동물군 모두에서 CH 투여 시 CH의 주된 대사산물인 CH-ol은 4시간 요에 있어서 CCl₄ 10회 및 17회 투여군은 정상군 보다 각각 1.3배 및 3.2배 정도의 증가를 하였다. 또한 8시간 요에서는 CCl₄ 10회 투여군과 정상군 간에는 별다른 차이가 없었으나 CCl₄ 17회 투여군은 정상군 및 CCl₄ 10회 투여군 보다 각각 약 12% 및 13% 높게 나타나는 경향을 보였다. 따라서 심한 간손상 시 실험동물에 CH을 투여함으로써 CH의 주된 대사산물인 CH-ol 농도가 높게 나타났으나 배설율은 저하됨을 알 수 있다.

6. CCl₄에 의한 간손상 실험동물에 있어서 체중 당 신장 무게와 BUN 및 creatinine 농도변동

CCl₄의 연속적인 투여에 의한 간손상 뿐만 아니라 신장의 기능저하에 기인된 것인지를 알아보기 위하여 혈청 중 증가된다는 BUN과 creatinine 농도를 측정하여 Table 4와 같다. CCl₄에 의한 간손상 실험동물에서 정상군에 비해서 체중 당 신장무게는 정상군에 비해 17회 투여군이 9% 증가하였고 BUN은 정상군에 비해서 10회 및 17회 투여군이 각각 약 51% 및 31%의 유의한 ($P<0.05$) 증가를 나타내었으며 그 증가율은 17회 투여군 보다 10회 투여군이 15% 증가하였다. 혈청 creatinine 농도는 정상군에 비해서 10회 및 17회 투여군이 증가하는 경향을 보였다.

Table 4. Kidney weight/body weight (KW/BW, %) and serum levels of urea nitrogen (BUN) and creatinine in CCl₄-pretreated rats

	Normal	10 times	17 times
KW/BW (%)	0.65±0.02	0.65±0.02	0.71±0.02
BUN ¹⁾	19.10±0.18	28.77±4.31*	25.05±2.60*
Creatinine ²⁾	0.69±0.07	0.78±0.08	0.79±0.07

Each value represents the mean ± S.E. of 6 rats. Significantly different from normal group. (*, $P<0.05$). Unit: ^{1,2)}mg/dl

Table 5. Lung weight/body weight (LuW/BW, %) and contents of pulmonary protein and MDA in CCl₄-pretreated rats

	Normal	Frequency of CCl ₄ injection	
		10 times	17 times
LuW/BW (%)	0.44±0.03	0.62±0.05*	0.54±0.04
Lung protein ¹⁾	79.50±4.95	52.81±4.12**	56.67±4.10**
Lung MDA ²⁾	4.14±0.14	4.53±0.32	5.09±0.44

Each value represents the mean ± S.E. of 6 rats. Significantly different from the normal group (*, $P<0.05$, **, $P<0.01$). Unit: ¹⁾mg/g of lung, ²⁾nmoles/g of lung

7. CCl₄에 의한 간손상 실험동물에 있어서 폐기능과 폐조직 검사 소견

간손상을 유도시킨 실험동물에서 CH을 투여하였을 때, 정상군에 비해 CH 대사산물의 혈중 농도가 정시적으로 증가된 것이 CCl₄ 투여에 의한 폐손상 때문인지를 검토하기 위해서 폐기능 지표를 측정하였다 (Table 5).

체중 당 폐무게는 CCl₄ 10회 및 CCl₄ 17회 투여군이 정상군에 비해서 각각 41% ($P<0.05$) 및 23% 정도 증가하였으며 그 증가는 10회 투여군이 17회 투여군 보다 약 15% 높게 나타났다. 폐조직 중 단백질 함량은 정상군에 비해 CCl₄ 10회 및 17회 투여기간에 비례하여 각각 약 34% 및 29% 유의하게 ($P<0.01$) 감소하였으며 CCl₄ 10회 투여군이 CCl₄ 17회 투

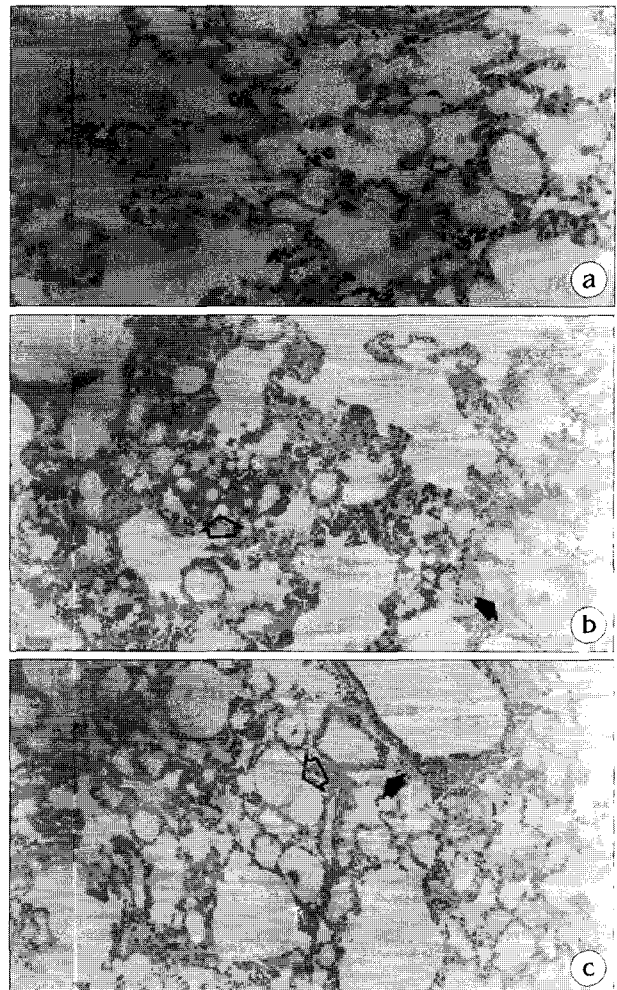


Fig. 4. Micrograph of lung tissue in rats, H&E, ×100. a) Normal, The tissue structure was intact. b) 10 times injection of CCl₄, Atelectasis, perivascular edema (black arrow), and fat accumulation in capillaries (line arrow) were shown. c) 17 times injection of CCl₄, Fat accumulation in capillaries (line arrow) and peri-bronchiolar edema (black arrow) were shown.

여군 보다 약 7% 감소하였다. 폐조직 중 MDA 함량은 정상군에 비해 CCl₄ 10회 및 17회 투여군이 각각 9% 및 23% 정도 증가하는 경향을 보였다. 또한 폐조직의 형태학적 변화에 있어서 정상군은 병리적 소견이 관찰되지 않았고 (Fig. 4a), CCl₄ 10회 투여군에서는 혈관 주변부 부종현상이 약하게 나타났으며 부분적으로 무기폐 (atelectasis) 현상이 관찰되었다. 또한 무기폐와 동반되어 모세혈관 내에 지방소적이 축적이 관찰되었다 (Fig. 4b). CCl₄ 17회 투여군에서는 기관지 주변부의 부종현상과 모세혈관 내 지방소적 축적이 관찰되었다 (Fig. 4c). 이러한 결과로 보아 CCl₄ 투여에 의한 폐조직 손상으로 호흡율의 감소가 초래될 것으로 생각되며, CCl₄ 투여에 의해 간손상 뿐만 아니라 폐조직에도 손상이 야기되어 폐를 통한 CH의 배출이 억제됨으로서 CH의 체내 보유율 (retention quantity) 증가의 한 가지 원인이 될 수 있다고 생각된다.

고 찰

간손상 실험모델 동물에 CH 투여 시에 CH 대사물질을 관찰하고자 본 실험에서 CH 1회 투여 후 24시간 동안 CH의 대사물질인 CH-ol 및 CH-one 농도를 경시별로 관찰한 결과, CH 투여 4시간째 두 가지 물질 모두 최고치를 나타내었으며 이후 약 8시간까지는 급격한 감소를 나타내었다. 이러한 결과는 Kim 등 (2005)의 결과와 유사하였다. 이에 본 연구에서 CH 대사산물의 동력학적인 변동을 CH 투여 4시간 및 8시간 경과 후 혈청 및 요 중에서 관찰하였다.

본 실험에서 어떤 종류의 CH 대사산물이 나타나는지를 검토한 결과, 정상군에 CH 투여 시 요 중 CH-ol, CH-one, CH-1,2 및 1,4-diol의 4가지 물질이 확인되었으며, 이 결과는 타 연구자들의 보고 (Senler et al., 1985; Sakate et al., 1989)와 일치되었다.

간질환 시에 약물의 반감기가 지연된다는 보고 (Howden et al., 1989)와 간손상 시에 약물대사효소 활성이 억제됨으로서 약물대사에 상당한 영향을 미친다는 보고 (Vessey, 1996)가 있는 반면 간손상 정도에 따른 약물의 반감기가 약물대사효소 활성과는 반드시 일치하지 않는다고 보고가 있었다. 그러므로 본 실험조건에서 혈액 및 요 중 CH의 동력학적인 변동을 관찰하고자 혈액과 요 중 CH 대사산물을 분석하였다. 본 실험에서 혈액 중 CH와 CH-one 농도는 정상군에서는 4시간째 보다 8시간째에 현저히 감소되었으나 간손상 실험군에서는 오히려 증가되었다. 이러한 실험결과로 보아 CCl₄에 의한 간손상 시에 CH 대사물질이 혈청으로부터 제거율이 정상군에 비하여 감소됨을 암시해주고 있으며, 간손상 시에 약물의 혈중 농도 반감기가 지연된다는 사실 (Howden et al., 1989)이 뒷받침해 주고 있다. 이와 같이 혈청 중 CH 대사물질의 제거율은 요 중 배설율과 밀접한 관련성이 있을 것으로 생각

되어 이들 물질의 요 중 변동을 관찰한 결과, 대체적으로 정상군보다 CCl₄에 의한 간손상군이 낮게 나타났으며 간손상이 심한 CCl₄ 17회 투여군이 CCl₄ 10회 투여군 보다 다소 낮게 나타났다. 따라서 CCl₄에 의한 간손상 시에 혈액으로부터 요로 CH 대사산물의 배설율이 낮게 나타남을 암시해주고 있다. 또한 간손상 정도에 따라 반비례하여 배설율이 보다 더 낮게 나타났다. 이와 같이 CCl₄ 17회 투여한 간손상이 심한 실험군에서 CH의 대사산물의 배설율이 낮게 나타나는 것은 간조직의 담도폐쇄 및 섬유화로 인하여 간조직의 관류장애에 기인된 결과로 생각된다.

또한 본 실험에서 CH 대사산물의 배설율은 간손상 정도에 따라 저하되지만 CH의 함량은 혈청 및 요 중에서 대체적으로 높게 나타났다. 그리고 본 실험조건에서 신장과 폐의 기능적·형태학적 관찰을 통해 CCl₄에 의한 간손상이 심할 경우 신장기능 저하와 폐조직의 무기폐 현상이 관찰된 것으로 보아 CCl₄ 투여로 신장기능 저하와 폐조직의 무기폐로 인하여 xenobiotics의 배설저하와 호흡율의 감소가 초래된 것으로 생각된다. Mutt 등 (1981)의 보고에 의하면 체내에 흡수된 CH의 약 80~90% 정도가 대사되어 요 중으로 배설되며, 약 10~20% 정도가 폐로 배설되는 것으로 알려져 있다. 그리고 실험동물에 CCl₄ 투여 시 간손상 뿐만 아니라 신장 및 폐 손상도 야기된다는 보고 (Menzel and Maclellan, 1980)가 있다. 따라서 본 실험에서 간손상 실험동물에 CH를 투여한 경우에 CH 대사산물의 함량증가는 폐와 신장을 통한 CH의 배설이 억제됨으로써 나타난 결과로 생각한다.

이상의 실험결과를 종합해 볼 때, 간손상 실험동물에 CH 투여 시 요 중 CH 대사물질의 배설저하는 손상된 간조직의 관류저하와 신장장애에 기인되어 나타난 것으로 생각되며, 요 중 CH 대사물질이 오히려 증가된 것은 폐손상에 의한 폐를 통한 CH의 배출감소 때문에 나타난 결과로 사료된다.

REFERENCES

- Bao J, Smith RL, Sauer JM, Pillai U, Sipes IG. Simultaneous determination of cyclohexene oxide and its metabolites in rat plasma and urine by gas chromatography. *J Chromatography B*. 1997. 696: 59-68.
- Bernard AM, de Russis R, Nörlin J, Lauwerys RR. Evaluation of the subacute nephrotoxicity of cyclohexane and other industrial solvents in the female Sprague-Dawley rat. *Toxicol Lett*. 1989. 45: 271-280.
- Butler AR. The jaffe reaction. Identification of the coloured species. *Clin Chem Acta*. 1975. 59: 227-232.
- Cha SE, Yoon CG, Lee SI. Effect of hepatic damage on the toluene metabolism in CCl₄ pretreated rats. *J Toxicol Pub Health*

1998. 14: 321-328.
- Ellenhorn MJ, Barceloux DG. *Medical toxicology*. 1988. Elsevier. NY, USA.
- Elliott TH, Parke DV, Williams RT. Studies in detoxication. The metabolism of cyclo [¹⁴C] hexane and its derivatives. *Biochem J*. 1959. 72: 193-200.
- Faulkner WR, King JW. *Fundamentals of clinical chemistry*. 1976. W. B. Saunders Co. Philadelphia, USA.
- Howden CW, Birnie GG, Brodie MJ. Drug metabolism in liver disease. *Pharmacol Therapeutic*. 1989. 40: 439-474.
- Iyadomi M, Higaki Y, Ichiba M, Morimoto M, Tomokuni K. Evaluation of organic solvent-induced inflammation modulated by neuropeptides in the abdominal skin of hairless rats. *Ind Health* 1998. 36: 40-51.
- James SP, Waring RH. The metabolism of alicyclic ketones in the rabbit and rat. *Xenobiotica* 1971. 1: 573-580.
- Jeon TW, Lee SI, Yoon CG. Effect of cyclohexane on the lung toxicity in rats. *Korean J Biomed Lab Sci*. 2000. 6: 245-251.
- Kim JY, Jeon TW, Lee SH, Chung C, Joh HS, Lee SI, Yoon CG. Changes of hepatic cyclohexane metabolizing enzyme activities and its metabolites in serum and urine after cyclohexane treatment. *J Exp Biomed Sci*. 2005. 11: 509-515.
- Lee HJ, Yoon CG, Park WH. Changes in xylene metabolism in rats induced various degree of liver damage with CCl₄. *J Toxicol Pub Health* 1999. 15: 345-352.
- Longacre SL. Cyclohexane in Ehtel Browning's toxicity and metabolism of industrial solvents (Snyder R. Ed). 1987. pp. 225-235. Elsevier. Amsterdam, Netherlands.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951. 193: 265-275.
- Menzel DB, Maclellan RO. Toxic responses of the respiratory system in Carett and Doull's *Toxicology* (Doull J, Klassen CD, Amdur MO. Eds). 1980. Macmillan, NY, USA.
- Mutt A, Falzoi M, Lucertini S, Caratorta A, Franchini I. Absorption and alveolar excretion of cyclohexane in workers in a Shoe factory. *J Appl Toxicol*. 1981. 1: 220-223.
- Naskali L, Oksanen H, Tähti H. Astrocytes as targets for CNS effects of organic solvents in vitro. *Neurotoxicology* 1994. 15: 609-612.
- NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health). NIOSH pocket guide to chemical hazards. DHHS (NIOSH) Publication No. 85-114. 1985. NIOSH. Cincinnati, USA.
- Nordblom GD, Coon MJ. Hydrogen peroxide formation and stoichiometry of hydroxylation reactions catalyzed by highly purified liver microsomal cytochrome P-450. *Arch Biochem Biophys*. 1977. 180: 343-347.
- Ohkawa H, Ohish N, Yaki K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979. 95: 351-355.
- Perbellini L, Brugnone F. Lung uptake and metabolism of cyclohexane in shoe factory workers. *Int Arch Occup Environ Health* 1980. 45: 261-269.
- Perico A, Cassinelli C, Brugnone F, Bavazzano P, Perbellini L. Biological monitoring of occupational exposure to cyclohexane by urinary 1,2- and 1,4-cyclohexanediol determination. *Int Arch Occup Environ Health* 1999. 72: 115-120.
- Sakata M, Kikuchi J, Haga M, Ishiyama N, Maeda T, Ise T, Hikita N. Disposition of acetone, methyl ethyl ketone and cyclohexanone in acute poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1989. 27: 67-77.
- Sandmeyer EE. *Alicyclic hydrocarbons in Patty's industrial hygiene and toxicology* (Clayton GD, Clayton EE. Eds). 1981. Wiley-Interscience, NY, USA.
- Scheffler WC. *Statistics for the biological sciences*. 1980. pp. 84-89. Addison-Wesley. London, England.
- Senler TI, Dean WL, Murray LF, Wittliff JL. Quantification of cytochrome P-450-dependent cyclohexane hydroxylase activity in normal and neoplastic reproductive tissues. *Biochem J*. 1985. 227: 379-387.
- Smyth HF Jr, Carpenter CP, Weil CS, Pozzani UC, Striegel JA, Nycum JS. Range-finding toxicity data: List VII. *Am Ind Hyg Assoc J*. 1969. 30: 470-476.
- Treon JF, Crutchfield WE Jr, Kitzmiller KV. The physiological response of animals to cyclohexane, methylcyclohexane and certain derivatives of these compounds. II. Inhalation. *J Ind Hyg Toxicol*. 1943. 25: 323-347.
- Vessey DA. *Hepatology*. 1996. W. B. Saunders. Co. Philadelphia, USA.
- Yoon CG, Jeon TW, Chung CK, Lee MH, Lee SI, Cha SE, Yu IJ. Survey of actual conditions of material safety data sheet and quantitative risk assessment of toxic substance: Substitutes for degreasing agents. *Korean Ind Hyg Assoc J*. 2000. 10: 18-26.