

## 에탄올과 식이지방량이 흰쥐의 혈액성상과 간조직에 미치는 영향

최영선 · 정경희\* · 조성희\* · 최경호\*

대구대학교 영양학과

\*호성여자대학교 식품영양학과

### Effects of Ethanol Consumption and Fat Content in Diet on Biochemical Indices of Blood and Liver in the Rat

Young-Sun Choi, Kyung-Hee Chung\*, Sung-Hee Cho\* and  
Kyung-Ho Choi\*

Dept. of Nutrition, Taegu University, Kyongsan, 713-714, Korea

\*Dept. of Food and Nutrition, Hyosung Women's University, Hayang, 713-702, Korea

To investigate effects of ethanol and dietary fat on growth and biochemical indices of liver tissue and blood in rats, 40 male rats of Sprague-Dawley strain weighing about 160g were divided into 5 groups (low-fat diet group, ethanol-administered low-fat diet group, high-fat diet group, ethanol-administered high-fat diet group, and commercial diet group) and fed experimental diets for 8 weeks. Ethanol-administered groups consumed ethanol corresponding to 22 cal% which was considered as moderate drinking. Neither the ethanol intake nor the dietary fat level affected calorie intake. Nonetheless, the low-fat diet group with ethanol had the lowest growth rate and 2-fold increase in the concentration of plasma triglyceride. There was no effect of ethanol and dietary fat level on contents of protein, lipid and lipid composition of liver tissue. The level of lipid peroxide of liver tissue tended to be increased by ethanol intake, but the increase was statistically insignificant. The low-fat ethanol group had lowered hepatic mitochondrial respiration rate and deformed structure of mitochondria of hepatocytes.

### 서 론

알콜은 동물 체내에서 그 자체로 또는 알콜의 산화과정 중에 생성되는 중간대사 산물에 의하여 여러가지 생리작용의 변화를 야기시키며 심하면 독성을 나타내기도 한다. 알콜 섭취로 인한 영양장애<sup>1)</sup>와 더불어, 고지혈증(hyperlipidemia)<sup>2)</sup>과 지방간생성<sup>3)</sup> 등 체내 지질대사의 변화는 가장 빈번히 수반되는 현상이다.

만성적인 알콜 섭취에 의한 생리작용의 변화는 비교적 상세히 알려져 있으나<sup>4)</sup> 알콜과 영양상태의 상호작용에 관한 논란은 계속되어 왔다<sup>5)</sup>. 알콜성 간장장애에는 알콜섭취량과 섭취기간이 중요한 변수로 지적되나<sup>6)</sup>, 알콜섭취로 인한 식품섭취량의

감소와 영양소 흡수 장애는 알콜의 부작용을 심화시키는 것으로 보고되어 왔다.<sup>7)</sup> 식이지방은 물론 탄수화물<sup>8)</sup>,<sup>9)</sup>과 단백질<sup>10)</sup> 결핍도 지방간 생성에 관련될 수 있다. 고지혈증과 지방간 등 지질대사에 영향을 미치는 알콜과 함께 식이지방의 함량과 종류에 따라 간의 지방 축적 정도가 다르다는 연구 결과들이 보고되었다<sup>11)</sup>,<sup>12)</sup>.

그러나 이와 같은 실험들의 대부분이 총 칼로리 섭취량의 35% 이상에 해당하는 과량의 에탄올을 강구투여 또는 정맥주사하여 나타나는 생화학적 또는 임상적 결과에 관한 논문들이 대부분이었다. 이처럼 알콜 중독에 가까운 알콜의 과잉 섭취로 인한 부작용에 관한 연구는 상당히 진전된 반면에 일반적인 음주자의 경우에 해당하는 알콜섭취량(mode-

\* 본 연구는 한국과학재단 연구비의 지원에 의하여 이루어졌음.

rate drinking)에 의한 영양학적 임상적인 연구<sup>13, 14)</sup>는 거의 드문 실정이었다. 선행연구<sup>13, 14)</sup>에서 항지방간인자를 함유한 균형된 식이와 함께 섭취한 알콜이 생체내 간장 대사에 미친 영향은 미미하였으며, 특히 간장의 지질과산화물의 함량은 알콜을 섭취한 쥐에서 낮아진 경향을 보여 알콜이 지질 과산화를 증가시킨다는 보고들과 상반된 결과를 보였다.

따라서 본 연구는 식이지방 함량을 12와 30 칼로리%로 달리하여 항지방간인자가 부족하고 비타민 함량을 필요량 수준으로 한 상태에서 moderate drinking에 해당하는 에탄올섭취가 흰쥐의 성장, 간조직 및 혈액의 생화학적 특성에 미치는 영향을 조사함으로써 알콜과 식이 지방의 체내 대사에 미치는 효과를 밝혀 보고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재 료

식이성분으로 사용한 salt mix와 vitamin mix는 TEKLAD사(Madison, Wisconsin, U. S. A.)에서, casein은 Junsei사(일본)에서, 전분과 포도당은 봉진화학에서 구입하였다. 1,1,3,3-tetramethoxypropane은 Merck사 제품을 사용하였고, cellulose, NADH, TPP, ribose-5-phosphate, thiobarbituric acid(TBA)와 bovine serum albumin은 Sigma사 제품을 사용하였다. 전자현미경 시료 조제용 시약은

분석용 특급을 사용하였다.

### 실험동물 및 식이조제

Sprague-Dawley 종 숫쥐 40마리를 일정기간 일반사료(우성사료)로 사육하여 체중이 약 160g 되었을 때 무작위로 8마리씩 5군으로 나누어 표 1과 같은 식이로 8주간 사육하였다. 실험식이의 조성은 표 2에서와 같으며, 저지방군(LF)과 저지방에탄올군(LA) 식이는 대두유를 총열량의 12%로 공급하였으며, 고지방군(HF)과 고지방에탄올군(HA)은 전분 양을 줄이고 라드를 더 첨가하여 총열량의 30%로 공급하였다. HA군과 LA군은 급수용 증류수에 에탄올을 섞어 10% 용액으로 공급하였다. 일반고형사료군(CD)은 정제사료인 실험식이의 영양적 특성과 대비하고자 포함하였다. 실험 기간중 식이와 물은 자유로이 섭취시켰으며, 식이섭취량 및 에탄올 섭취량은 매일 아침 일정한 시각에 측정하였으며, 2일 마다 식이를 급여하기 전에 체중을 측정하였다.

### 분석시료처리

15시간 절식시킨 쥐를 에테르로 마취시켜 개복하여 heparin 처리한 주사기를 사용하여 심장 채혈한 후 간장을 적출하여 무게를 달았다. 혈액을 원심분리하여 혈장을 얻고 적혈구는 용혈시켜  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다. 간장의 일부는 간세포의 전자현미경 검사 표본을 만들기 위해 고정(후에 설명)시켰다. 지질분석 시료로서 간장의 일부를 취하여 정확히 무게를 잰 후 0.9% NaCl 냉액에 넣어 세절하고

Table 1. Experimental design

Experimental group*	Dietary fat (Kcal%)	Alcohol administration
LF	12	-
LA	12	+
HF	30	-
HA	30	+
CD	5	-

- \* LF : Low-fat diet group  
 LA : Alcohol-administered low-fat diet group  
 HF : High-fat diet group  
 HA : Alcohol-administered high-fat diet group  
 CD : Commercial diet group

Table 2. Composition of experimental diet

Ingredients	g/100g diet	
	Low-fat diet	High-fat diet
Starch	44.14	29.59
Casein	23.23	25.73
Glucose	17.81	19.72
Soybean oil	5.16	5.16
Lard	—	9.13
Vitamin mix <sup>1)</sup>	0.86	0.95
Mineral mix <sup>2)</sup>	4.30	4.76
Cellulose	4.30	4.76
Choline chloride	0.20	0.20
Kcal/g diet	3.87	4.29

1) Vitamin mix (TEKLAD, AIN-76A) composition (per kg) : Thiamin HCl : 0.6g, Riboflavin : 0.6g, Pyridoxine HCl : 0.7g, Niacin : 3.0g, Calcium Pantothenate : 1.6g, Folic acid : 0.2g, Biotin : 0.02g, Vitamin B<sub>12</sub> (0.01% trituration in mannitol) : 1.0g, Dry vitamin A palmitate (500,000U/g) : 0.8g, Dry vitamin E acetate (500 U/g) : 10.0g, Vitamin D<sub>3</sub> Trituration (400,000U/g) : 0.25g, Menadione sodium bisulfite complex : 0.15g, Sucrose, fine powder : 981.08g

2) Mineral mix (TEKLAD, AIN-76)

두세번 수세하여 혈액을 제거한 다음 0.9% NaCl을 첨가하여 부피를 약 3ml로 맞추어 마쇄기(Potter-Eldhjem homogenizer)로 분쇄하여 얻은 마쇄액을 정확한 부피를 측정 후 지질 분석시까지 -70°C에 냉동 보관하였다. 과산화지질 함량 측정은 간장조직의 일정량을 취하여 1.15% KCl 냉액을 첨가하여 10% (w/v) 마쇄액을 만들어 사용하였다.

간장중 일부를 sucrose/EDTA (0.25M/mM) 냉용액으로써 마쇄액을 만들어 냉장원심분리(3,000 x g, 5분)하여 여과하였다. 이 여과액을 다시 냉장원심분리(10,000 x g, 10분)하여 얻어진 mitochondrial pellet을 약 10ml의 상기 sucrose/EDTA 용액에 분산시켜 다시 원심분리(10,000 x g, 10분)하여 이때 얻어진 mitochondrial pellet에 상기용액을 약 0.4ml 넣어 분산시킨 후 호흡 측정에 사용하였다.

#### 효소활성도 측정

Glutamate-pyruvate transaminase (GPT) 활성은 Bernt와 Bergmeyer<sup>15)</sup>의 방법에 의하여 측정하였고, 적혈구 용혈액의 transketolase 활성은 Brin의 semimicro-method<sup>16)</sup>에 의하여 측정하였다.

#### 혈청지질 분석

혈청 중성지방과 총 cholesterol 및 HDL-cholesterol은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Japan)의 효소시약 키트를 사용하여 비색정량하였다.

#### 간장조직 분석

간장조직의 총 지질은 Folch법<sup>17)</sup>에 따라 추출하여 각종지질을 정량하였다.

#### 중성지방 정량

중류수와 메탄올로 세척한 silicic acid를 110°C의 오븐에 하룻밤 방치하여 활성화시킨 후 약 1g 정도를 chloroform에 분산시켜 silicic acid column을 만들어 조직 추출물 일정량을 통과시켜 20ml의 chloroform으로 중성지방을 회수한 후 Sardesai 등<sup>18)</sup>의 방법으로 정량하였다.

#### 총 cholesterol 정량

지질추출물의 일정량을 건조시킨 다음 Pearson 등<sup>19)</sup>의 방법으로 정량하였다.

#### 인지질 정량

지질추출물 일정량을 건조시킨 다음 진한 황산과 72% perchloric acid를 가하여 회화시켜 유리되는

부기인을 820nm에서 Chen 등<sup>20)</sup>의 방법으로 정량하였다.

#### 과산화지질의 정량

간장조직의 과산화지질의 정량은 Yagi의 TBA법<sup>21)</sup>에 의하여 측정하였고 표준 검량선을 얻기 위하여 1,1,3,3-tetramethoxypropane을 표준품으로 사용하였다.

#### 단백질 정량

간장조직 마쇄액의 단백질 농도는 Biuret법<sup>22)</sup>으로 비색 정량하였으며, 표준품으로 bovine serum albumin을 사용하였다.

#### 간 mitochondria 산화능 측정

Mitochondria의 산소 소모량 및 호흡지수는 Gilson Oxygraph(Model 5/6H)에 의하여 37°C에서 측정하였다. 기본 medium은 110mM KCl, 33mM Tris (pH 7.4), 5mM MgCl<sub>2</sub>, 5mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>로 구성되었으며 5mM glutamate를 기질로 사용하였고 0.5mM malate를 TCA 촉매 물질로 사용하였다.

총 incubation medium은 2ml로 기본 medium의 초기 산소 함량을 37°C에서 1ml당 390ng atom으로 측정<sup>23)</sup>하여 총산소량을 780ng atom으로 하여 계산에 이용하였다. 산소 소모율은 ng atom O/mg mitochondrial protein/min으로 계산하였고, 200μmoles의 ADP를 가한 후 state3/state4의 비율로 respiratory control을 계산하였고 P/O ratio는 200μmoles의 ADP를 인산화시키는 과정에 소모된 산소의 양으로부터 계산하였는데 이 때 합성된 ADP의 양은 P/O x state 3 respiration으로 계산하였다.

#### 간세포의 전자현미경 조사

간을 절취한 즉시 1mm 크기로 잘라 4°C의 2.5% glutaraldehyde 용액에 2 시간 동안 전고정을 한 후 실험실에서 후고정을 하였다. 고정된 조직은 에탄올 50%, 70%, 80% 액에 각각 20 분씩, 95% 에탄올액에 30분, 그리고 무수 에탄올에 60분씩 처리하여 탈수하였다. 이것을 propylene oxide에 10분간씩 3회 반복하여 침투시키고 Luft법<sup>24)</sup>에 의해 epon 812 로써 포매하여 젤라틴 캡슐에 넣어서 35°C에서 12 시간, 60°C에서 48시간 가온하여 경화시켰다. 경화된 조직은 ultramicrotome으로 400-600 Å 두께 박절하여 Reynolds법<sup>25)</sup>에 따라 lead citrate와 uranyl acetate로써 이중 전자염색을 하여 JEM형(100-CX) 전자현미경으로 관찰하였다.

#### 통 계

실험 결과는 평균치와 표준오차를 산출하였고, 실험식이군의 평균치간의 유의성은  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's test로 검증하였다. 에탄올과 식이지방 각각의 효과와 에탄올과 식이지방 상호작용에 의한 효과는 이원변량분석에 의하여 검증하였다. 평균치간의 유의성 검증 및 이원변량분석은 CD군을 제외하였다.

## 결 과

### 성장과 식이효율

표 3은 8주간의 실험식이 후 원위의 식이섭취량, 에탄올섭취량, 열량섭취량 및 체중증가량을 보여준

Table 3. Food intake and weight gain of rats during 8 weeks

Experimental group	Food intake (g/day)	Alcohol intake (kcal%)	Calorie intake (kcal/day)	Weight gain (g/100kcal)
LF	19.75 ± 0.26 <sup>a***</sup>	—	76.42 ± 1.00 <sup>N.S.</sup>	4.74 ± 0.30 <sup>ab</sup>
LA	15.27 ± 0.75 <sup>c</sup>	21.93 ± 0.59 <sup>N.S.</sup>	75.79 ± 4.09 <sup>N.S.</sup>	3.87 ± 0.29 <sup>b</sup>
HF	17.90 ± 0.25 <sup>b</sup>	—	76.78 ± 1.06 <sup>N.S.</sup>	4.90 ± 0.37 <sup>a</sup>
HA	14.54 ± 0.58 <sup>c</sup>	21.94 ± 0.49 <sup>N.S.</sup>	79.85 ± 2.96 <sup>N.S.</sup>	4.26 ± 0.21 <sup>ab</sup>
CD	23.27 ± 0.51	—	76.57 ± 1.66	3.65 ± 0.32

\* Each value represents the mean ± SEM of 8 rats.

\*\* Means of groups(CD excluded) not sharing common superscript letters within a column are significantly different at  $\alpha=0.05$ .

NS means 'not significant'.

다. 에탄올섭취군의 식이섭취량은 에탄올을 섭취하지 않은 군에 비하여 식이섭취량이 줄었으나( $P<0.05$ ), 알콜에서 취한 칼로리를 포함시키면 총 칼로리 섭취량은 군간에 차이가 없었다. 식이의 종류에 무관하게 동량의 칼로리를 섭취했음에도 불구하고, 100kcal당 체중증가량은 에탄올섭취군이 에탄올비 섭취군에 비하여 유의하게 낮았다( $P<0.05$ ). 에탄올의 섭취 정도는 저지방과 고지방 식이 사이에 차이가 없었으며 총 칼로리의 22%에 해당하는 에탄올을 섭취하였다.

**혈장지질 조성**

실험식을 8주간 섭취한 흰쥐의 혈장내 triglyceride, 총 cholesterol, HDL-cholesterol 농도 및 HDL-

total cholesterol 비는 표 4에서와 같다. LA군의 triglyceride(TG) 농도는 LF군보다 2배 정도로 높고 고중성지방혈증(hypertriglyceridemia)의 현상이 뚜렷하였으며, 이원변량분석에 의한 혈장 cholesterol농도는 HF군이 HA군에 비하여 유의하게 높은 반면에, HDL-cholesterol농도와 총 cholesterol에 대한 HDL-cholesterol 농도에 대한 비는 군간에 차이가 없었다.

**간장지질 조성**

8주간의 실험식이 후 흰쥐의 체중에 대한 간 무게비, 간의 탄백질 함량과 지질함량은 표 5에 나타난 바와 같다. 에탄올섭취군의 간무게비가 높은 경향이 있었으며, 특히 HA군의 간무게비는 HF군에 비하여

Table 4. Contents of triglyceride, total cholesterol and HDL-cholesterol in plasma of rats (unit: mg/dl)

Exp. Group	Triglyceride	Total cholesterol	HDL-cholesterol	HDL- /total chol.
LF	72.07± 11.17 * b **	47.55± 4.85 <sup>ab</sup>	34.97± 3.92 <sup>N, S</sup>	0.74± 0.05 <sup>N, S</sup>
LA	137.79± 18.10 <sup>a</sup>	52.53± 6.11 <sup>ab</sup>	39.00± 4.70 <sup>N, S</sup>	0.76± 0.05 <sup>N, S</sup>
HF	72.27± 3.94 <sup>b</sup>	56.82± 5.56 <sup>a</sup>	40.82± 2.54 <sup>N, S</sup>	0.75± 0.06 <sup>N, S</sup>
HA	88.96± 13.85 <sup>b</sup>	39.50± 3.20 <sup>b</sup>	30.27± 2.85 <sup>N, S</sup>	0.77± 0.04 <sup>N, S</sup>
CD	42.35± 4.37	37.16± 2.81	27.68± 0.79	0.77± 0.06

\* Each value represents the mean ± SEM of 8 rats.

\*\* Means of groups(CD excluded) not sharing common superscript letters within a column are significantly different at  $\alpha=0.05$ .

NS means not significant.

Table 5. Relative liver weight and contents of protein, total lipid and lipid peroxide of rat liver

Exp. group	Relative liver weight <sup>†</sup>	Protein (mg/g tissue)	Total lipid (mg/g tissue)	Lipid peroxide (MDA nmole/100mg protein)
LF	2.79± 0.09 * b **	317.29± 15.20 <sup>N, S</sup>	53.30± 2.13 <sup>N, S</sup>	116.25± 12.47 <sup>N, S</sup>
LA	2.89± 0.07 <sup>ab</sup>	309.30± 22.36 <sup>N, S</sup>	52.57± 3.27 <sup>N, S</sup>	141.41± 27.64 <sup>N, S</sup>
HF	2.68± 0.06 <sup>b</sup>	321.40± 23.93 <sup>N, S</sup>	56.13± 2.96 <sup>N, S</sup>	123.92± 13.58 <sup>N, S</sup>
HA	3.08± 0.09 <sup>a</sup>	305.80± 22.90 <sup>N, S</sup>	57.66± 3.83 <sup>N, S</sup>	173.21± 30.33 <sup>N, S</sup>
CD	2.91± 0.08	226.23± 7.55	44.81± 1.95	173.00± 11.68

† Relative liver weight=liver wight/body weight x 100 at killing.

\* Each value represents the mean ± SEM of 8 rats.

\*\* Means of groups(CD excluded) not sharing common superscript letters within a column are significantly different at  $\alpha=0.05$ .

Table 6. Lipid composition of rat liver

(unit : mg/g tissue)

Ex.group	Triglyceride	Total cholesterol	Phospholipid
LF	19.02 ± 1.12 * N. S.	6.39 ± 0.37 <sup>ab**</sup>	1.02 ± 0.03 <sup>N. S.</sup>
LA	20.96 ± 2.07 <sup>N. S.</sup>	5.74 ± 0.53 <sup>b</sup>	1.03 ± 0.07 <sup>N. S.</sup>
HF	19.43 ± 2.60 <sup>N. S.</sup>	7.17 ± 0.45 <sup>a</sup>	1.20 ± 0.11 <sup>N. S.</sup>
HA	18.98 ± 2.31 <sup>N. S.</sup>	6.78 ± 0.36 <sup>ab</sup>	1.06 ± 0.05 <sup>N. S.</sup>
CD	9.21 ± 1.03	5.19 ± 0.24	1.09 ± 0.02

\* Each value represents the mean ± SEM of 8 rats.

\*\* Means of groups(CD excluded) not sharing common superscript letters within a column are significantly different at  $\alpha=0.05$ .

NS means 'not significant'.

Table 7. Activities of serum GPT and oxidative activity of hepatic mitochondria

Ex. group	Serum GPT activity (U/ml)	O <sub>2</sub> consumption (ng atom/mg protein/min)	P/O ratio	Respiratory control	ATP synthesis (nmole/mg protein/min)
LF	19.90 ± 1.94 * N. S.	99.26 ± 3.58 <sup>N. S.</sup>	4.14 ± 0.50 <sup>N. S.</sup>	2.02 ± 0.09 <sup>N. S.</sup>	413.21 ± 55.46 <sup>**</sup>
LA	20.66 ± 1.58 <sup>N. S.</sup>	84.08 ± 6.51 <sup>N. S.</sup>	3.38 ± 0.19 <sup>N. S.</sup>	1.84 ± 0.13 <sup>N. S.</sup>	281.64 ± 19.34 <sup>b</sup>
HF	25.83 ± 2.67 <sup>N. S.</sup>	97.24 ± 5.04 <sup>N. S.</sup>	3.86 ± 0.17 <sup>N. S.</sup>	2.27 ± 0.16 <sup>N. S.</sup>	376.80 ± 27.69 <sup>ab</sup>
HA	21.55 ± 1.23 <sup>N. S.</sup>	97.03 ± 9.50 <sup>N. S.</sup>	3.49 ± 0.26 <sup>N. S.</sup>	2.26 ± 0.37 <sup>N. S.</sup>	360.22 ± 32.08 <sup>ab</sup>
CD	25.99 ± 1.40	106.99 ± 4.75	3.33 ± 0.13	2.07 ± 0.13	358.04 ± 25.64

\* Each value represents the mean ± SEM of 6 rats(8 rats for GPT activity).

\*\* Means of groups(CD excluded) not sharing common superscript letters within a column are significantly different at  $\alpha=0.05$ .

NS means not significant.

Table 8. Erythrocyte hemolysate transketolase activity and TPP effect of rats

Ex. group	Pentose disappearance (µg pentose/ml hemolysate/hr)		Hexose disappearance (µg hexose/ml hemolysate/hr)	
	- TPP	+ TPP	- TPP	+ TPP
LF	334.08 ± 18.91 * N. S.	338.29 ± 17.27 <sup>N. S.</sup>	23.19 ± 1.54 <sup>ab</sup>	24.40 ± 1.55 <sup>ab</sup>
LA	323.04 ± 6.03 <sup>N. S.</sup>	318.01 ± 14.20 <sup>N. S.</sup>	25.86 ± 1.37 <sup>a</sup>	26.67 ± 1.78 <sup>a</sup>
HF	307.78 ± 11.07 <sup>N. S.</sup>	324.18 ± 7.66 <sup>N. S.</sup>	24.96 ± 1.48 <sup>a</sup>	24.91 ± 1.42 <sup>ab</sup>
HA	297.93 ± 8.27 <sup>N. S.</sup>	310.88 ± 10.90 <sup>N. S.</sup>	19.71 ± 1.16 <sup>b</sup>	20.76 ± 1.92 <sup>b</sup>
CD	335.40 ± 4.19	325.35 ± 9.70	26.61 ± 1.84	25.32 ± 1.44

\* Each value represents the mean ± SEM of 8 rats.

\*\* Means of groups(CD excluded) not sharing common superscript letters within a column are significantly different at  $\alpha=0.05$ .

NS means not significant.

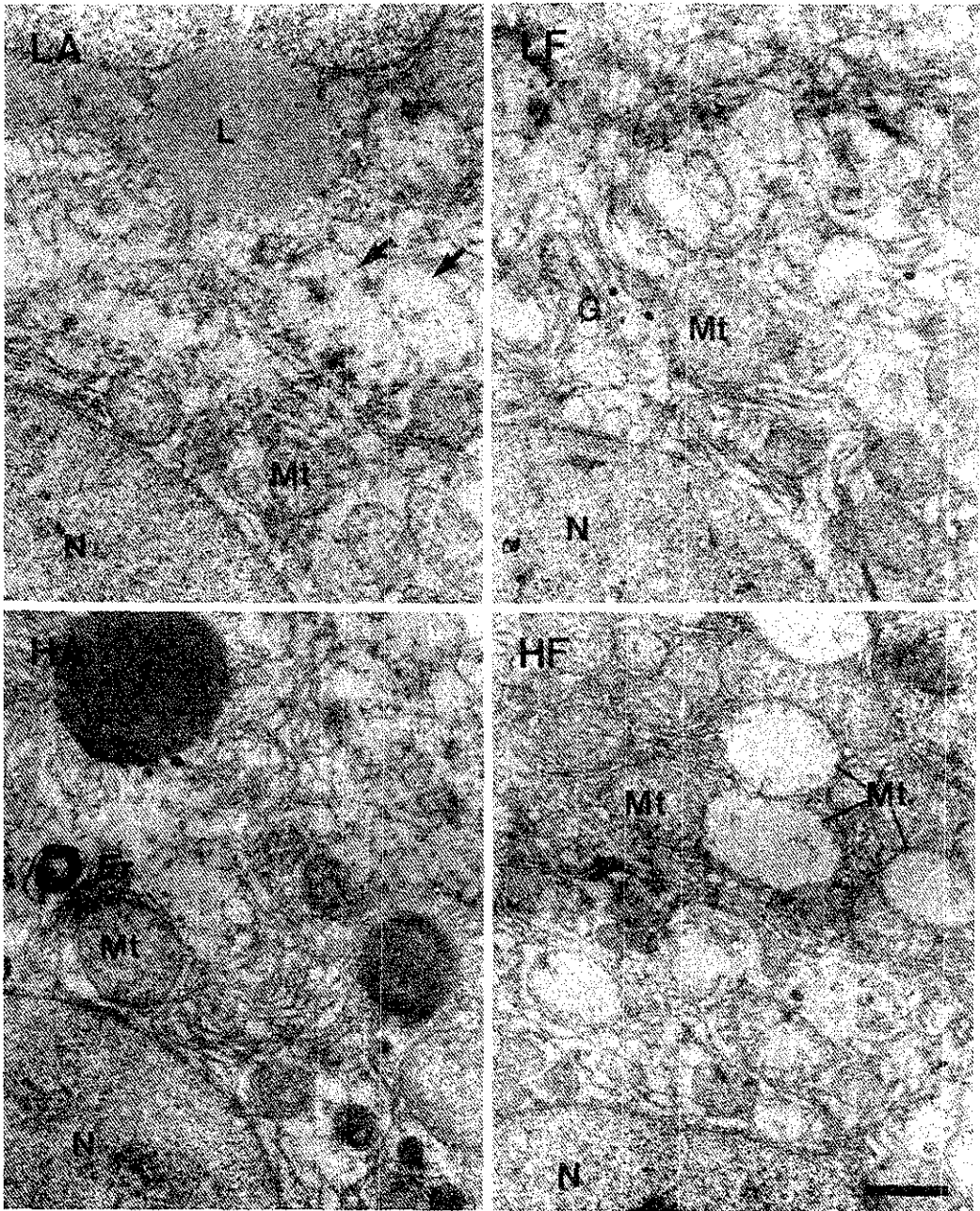


Fig.1. Electron micrograph of thin-sectioned rat liver cells.

Mitochondria were drastically decomposed at the arrows in photo LA.

Symbols are N : nucleus, Er : endoplasmic reticulum, L : lipid droplet, G : golgi apparatus, Mt : mitochondrion and P : peroxisome.

Scale line indicates 1  $\mu$ m.

유의하게 높았다. 간부게비에 대한 에탄올과 식이 지방 효과에 관한 이원변량 분석에서 에탄올 효과는  $P<0.001$ 으로 유의하였다. 단백질 함량과 지질 함량은 유의한 차이를 보이지 않았다. 간의 과산화지질 함량은 군간에 통계적으로 유의한 차이는 없었으나 에탄올섭취군에서 높은 경향이었다.

표 6은 간의 지질 조성을 보여주는데, 4군간의 간조직의 TG와 인지질 함량은 차이가 없었으나, TG함량은 CD군의 2배 이상으로 높았다. 고지방식에서 총 cholesterol 함량이 다소 높은 경향이었으며, 지방에 의한 효과는 유의하였다( $P<0.05$ ).

#### 혈장 GPT 활성과 간 mitochondria 산화능

간기능을 간접적으로 나타내는 혈장 GPT 활성과 간세포 mitochondria 산화능이 표 7에 나타나 있다. 혈장 GPT 활성은 군간에 차이가 없었으며, 흰쥐 간 mitochondria의 P/O ratio 및 respiratory control도 군간에 차이가 없었으나, 산소 소모량과 합성된 ATP량은 LA군이 LF군에 비하여 유의하게 낮게 나타났다.

#### 적혈구의 transketolase 활성과 TPP 효과

알콜섭취로 인하여 결핍되기 쉬운 비타민 B<sub>1</sub>의 영양상태를 평가하기 위하여 측정된 transketolase 활성과 TPP 효과는 표 8에 나타난 바와 같다. Pentose 소모량으로 계산된 결과는 군 간의 차이가 없었으며, hexose 생성량에 의한 transketolase 활성은 LA군이 HA군보다 유의하게 높았으나 TPP 효과는 없었다.

#### 간세포의 형태

그림 1은 간세포의 전자현미경 사진으로서 세포 소기관의 형태가 나타나 있다. 모든 군에서 간세포 내에 뚜렷한 지방 축적은 보이지 않았으며 핵의 형태도 정상이었다. 그러나 LA군과 HF군에서 mitochondria가 퇴행되어 형태가 변형되었으며 특히 LA군에서 더 뚜렷하였다.

## 고 찰

인체 또는 동물을 대상으로 하여 알콜중독증과 같은 만성적인 알콜섭취 상태에서의 체내 대사의 변화에 관한 연구들은 많이 진행되었으나, 일반적인 음주자의 알콜섭취 정도에 해당하는 알콜섭취와 영

양상태에 관한 연구는 비교적 드물다. 일반적인 음주자의 경우는 정상적인 식생활을 유지하므로 알콜 중독증에서와 같이 심각한 영양불량은 드물다고 사려된다. 최근 한국인의 음주습관에 관한 논문<sup>26)</sup>에 의하면 한국 남성의 경우 음주횟수와 음주량이 건강상태에 영향을 미치고 있으나 그 정도는 크지 않았다. 본연구에서는 이처럼 일반적인 음주상황과 유사한 조건에서 흰쥐에서의 에탄올과 식이지방함량에 의한 영향을 보고자 하였는데, 에탄올에서 취한 칼로리가 총칼로리 섭취량의 22%로서 moderate drinking에 해당하였다.

알콜의 에너지 효율과 성장에 미치는 효과를 검토해 볼 때, 에탄올섭취군의 칼로리섭취량이 에탄올을 섭취하지 않은 군과 동량임에도 불구하고, 에탄올섭취군의 성장률이 저하된 원인을 두가지로 생각할 수 있다. 하나는 에탄올이 내는 에너지의 비효율적인 이용으로서 산소소모량이 증가하거나 알콜산화에너지가 열생성(thermogenesis)으로 소모되는 것이며<sup>27)</sup>, 다른 하나는 알콜칼로리섭취로 인하여 감소된 식이섭취로 약 20% 줄어든 영양소 섭취 부족을 들 수 있다. 특히 저지방식에서 성장장애가 더 뚜렷한 것은 성장기에 축적되어야 하는 체지방이 탄수화물에서 합성되어 에너지 효율이 저하되었다고 추측된다.

고지혈증과 지방간은 알콜섭취와 관련된 지질대사의 이상증세로 들 수 있다<sup>27, 28)</sup>. 고지혈증은 소장에서의 중성지방의 합성과 chylomicron의 분비 증가, 간에서의 triglyceride 합성증가와 very low density lipoprotein(VLDL) 합성 및 분비증가와 lipoprotein lipase의 활성감소로 인한 말초조직에서의 triglyceride 제거 감소에 기인한다고 할 수 있다.<sup>27)</sup> Baraona와 Lieber<sup>29)</sup>는 흰쥐의 만성적 알콜섭취 후 생성된 고지혈증의 원인이 지질 제거의 저하 때문이 아니고, VLDL합성 증가에 기인한다고 보고하였다. Baboon에서의 알콜성 hypertriglyceridemia 발생기전에 관한 Savolainen 등<sup>30)</sup>의 연구에서 hypertriglyceridemia는 간에서 분비되는 chylomicron과 유사한 VLDL입자의 증가에 의해 일차적으로 생성된다고 보고되었다.

본연구에서 저지방식에서는 에탄올섭취에 의한 hypertriglyceridemia가 뚜렷한 반면에 고지방 식이



군에서는 차이가 없음을 혈장에 축적되는 triglyceride 함량에 식이지방이 직접적으로 기여하지 않았음을 시사한다.

Lieber와 Spritz<sup>21)</sup>는 인체를 대상으로 하여 알콜과 식이지방량이 간조직에 미치는 영향용 조사한 결과, 열량의 5%의 식이지방을 함유한 식이보다 36%의 식이지방을 함유한 식이를 섭취했을 때 간장내 지방축적이 뚜렷하였으며 축적된 지방은 체내에서 생합성된 것과 식이성 지방으로 구성되었다. 또한 Lieber등<sup>22)</sup>은 영양이 부족한 저지방식이와 알콜을 섭취한 흰쥐에서 지방간이 생성되었으며 간에 축적된 지방은 생합성된 지방이었음을 보고하였다. Lieber와 DeCarli<sup>23)</sup>는 열량의 36%에 해당하는 알콜을 흰쥐에게 주었을 때 식이지방 함량이 열량의 25% 정도까지는 간장내 지방의 축적에 미치는 영향이 미미하였으나 35% 이상에서는 현저한 지방 축적을 야기시켰다고 보고하였다. 본연구 결과에서는 지방 함량과 알콜섭취에 의한 간장내 지방축적이 나타나지 않았으므로 간세포에서의 지질대사가 원활했음을 의미하며, 이것은 혈장 GPT 활성이 정상이었음과 일치된다. 알콜섭취군의 간부세포가 비알콜군에 비하여 높았으며, 이러한 현상은 타 논문<sup>24, 25)</sup>에서도 보고되었다.

혈중 cholesterol 농도는 알콜과 고지방식으로 인하여 증가되는 것으로 보고되었으나 본연구에서는 별 영향이 없었다. 인체를 대상으로 한 연구<sup>22, 23)</sup>에서 적당량의 알콜섭취 후 HDL-cholesterol 농도가 증가하였으며, 알콜을 먹인 돼지의 혈장 HDL-cholesterol의 증가도 보고되었으나<sup>26)</sup> 이러한 현상은 섭취한 알콜의 량과 섭취기간은 물론, 식이의 열량, cholesterol, 포화지방 및 탄수화물 함량의 상호작용에 의한 것일 수 있다<sup>27)</sup>. 본연구에서 사용된 실험동물인 흰쥐는, 표 6에서 나타난 바와 같이, 본래 HDL-cholesterol 농도가 높게 유지되어 알콜에 의한 영향에 민감하지 않았을 것으로 사려된다.

Kanayama등<sup>28)</sup>과 Takada등<sup>29)</sup>은 열량의 35%에 해당하는 고지방식이 15%의 저지방식에 비하여 만성적으로 알콜을 섭취시킨 쥐에서 알콜 대사를 촉진시켰으며, 이것은 alcohol dehydrogenase에 의한 경로 외의, 즉 microsomal ethanol oxidizing system(MEOS)에 의한 산화가 촉진되었기 때문이

라고 설명하였다.

Mitochondria는 에탄올의 중간대사 산물인 acetaldehyde가 산화되는 세포내 기관으로서 알콜섭취로 인해 손상되기 쉬운 소기관이며<sup>30)</sup>, mitochondria의 형태 변화는 알콜을 섭취한 인체나 동물에서 흔히 나타나며 호흡계의 효소활성의 감소와 ATP합성저해 등이 보고되었다<sup>31)</sup>. 본연구에서는 알콜과 식이지방량이 간 mitochondria의 호흡능에는 영향을 미치지 않았으나, ATP 합성 정도는 저지방알콜군이 저지방비알콜군 보다 32%나 감소되어 알콜섭취로 인한 간 mitochondria의 손상이 추측되었으며, 전자현미경을 통하여 mitochondria의 형태변형이 관찰되었다.

산소를 요구하는 microsomal의 대사경로는 과산화지질을 생성할 수 있다. 만성적 알콜섭취로 인하여 증가된 microsomal NADPH oxidase 활성을 증가시켜 과산화수소생성을 증가시키고 따라서 지질과산화물 축진시킬 수 있다는 이론에도 불구하고 상반되는 실험 결과들이 보고되었다<sup>32, 33)</sup>. 일반적으로 과량의 알콜 투여는 지질과산화물 축진<sup>34, 35)</sup>시키나, 소량은 효과가 나타나지 않았다<sup>36)</sup>. 항산화제가 및 항산화제가 충분히 공급된 상태에서는 오히려 알콜을 섭취한 쥐에서 과산화지질함량이 감소되었으며, 그 이유로서 catalase에 의한 알콜의 산화와 동시에 과산화수소의 제거로 지질과산화가 억제될 수도 있음이 논의되었다<sup>37)</sup>. 본연구에서 알콜섭취시 과산화지질 함량이 유의한 차이는 아니었으나 증가하는 경향이었으며, 따라서 식이의 영양소 함량, 특히 항산화제의 함량에 따라 알콜에 의한 지질과산화 현상이 상반된 결과를 가져올 수 있으므로 계속적인 연구가 필요하다. Sinaceur등<sup>38)</sup>은 알콜섭취시 mitochondria에서 superoxide 생성이 증가하였다고 보고하였으며, Keen등<sup>39)</sup>과 Valenzuela등<sup>40)</sup>은 superoxide dismutase 활성의 변화를 보았다는 점 등에서 지질과산화와 관련된 효소들의 활성에 관한 항산화제와 알콜의 상호작용에 대한 연구가 계속되어야겠다.

만성적인 알콜섭취시 비타민 B<sub>1</sub>의 섭취부족, 활성형으로의 전환장애, 간장내의 저장량 감소 및 장에서의 비타민 B<sub>1</sub>의 수송과 흡수장애 등으로 인하여 비타민 결핍증세가 가능하나<sup>41)</sup>, 본연구에서는 비타

민 B<sub>1</sub> 결핍증세가 보이지 않았다.

### 요 약

식이지방과 moderate drinking에 해당하는 에탄올섭취가 흰쥐의 성장, 간조직 및 혈액의 생화학적 특성에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 160g 정도의 Sprague-Dawley 종 숫쥐 40마리를 5군(저지방군, 저지방에탄올군, 고지방군, 고지방에탄올군 및 일반고형사료군)으로 나누어 8주간 실험식으로 사육한 후 분석한 결과는 다음과 같다.

1) 8주간의 평균 칼로리 섭취량은 식이지방량과 에탄올섭취에 의한 영향이 없었으며, 에탄올섭취군은 총 칼로리의 22%에 해당하는 에탄올을 섭취하여 지방섭취량에 따른 차이는 없었다. 체중증가는 저지방에탄올군과 일반고형사료군에서 저조하였다.

2) 혈장 triglyceride 농도는 에탄올섭취군에서 높았으며, 저지방에탄올군은 저지방군에 비하여 2배나 되었다. 반면에 혈장 총 cholesterol과 HDL-cholesterol 농도는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

3) 간조직의 단백질 함량, 총지질, triglyceride 및 cholesterol 함량에 있어서는 알콜과 식이지방량에 의한 차이는 없었으며 과산화지질 함량은 알콜 섭취군과 일반사료군에서 높은 경향이었다.

4) Mitochondria 산화능은 저지방에탄올군에서 저하되었으며 전자현미경에 의한 간세포 mitochondria의 형태 변형이 관찰되었다.

### 문 헌

1. Halstead, C. H. : Alcoholism and malnutrition. Introduction to the symposium. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 2705(1980)
2. Pathogenesis of alcohol-induced hypertriglyceridemia. *Nutr. Rev.*, **45**, 215(1987)
3. Lieber, C. S. : Alcohol and the liver : Metabolism of ethanol, metabolic effects and pathogenesis of injury. *Acta Med. Scand.*, *Suppl.* **703**, 11(1985)
4. Mezey, E. : Alcoholic liver disease : roles of alcohol and malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 2709(1980)
5. Kricka, L. J., Clark, P. M. S. : Biochemistry of alcohol and alcoholism. John Wiley & Sons, New York, pp. 84-100(1979)
6. Lieber, C. S., Spritz, N., DeCarli, L. M. : Fatty liver produced by dietary deficiencies : its pathogenesis and potentiation by ethanol. *J. Lipid Res.*, **10**, 283(1969)
7. Lieber, C. S., Jones, D. P., DeCarli, L. M. : Effects of prolonged ethanol intake : production of fatty liver despite adequate diets. *J. Clin. Invest.*, **44**, 1009(1965)
8. Rao, G. A., Larkin, E. C. : Alcoholic fatty liver : a nutritional problem of carbohydrate deprivation and concomitant ethanol ingestion. *Nutr. Res.*, **4**, 903(1984)
9. Mitchell, M. C., Herlong, H. F. : Alcohol and nutritional : caloric value, bioenergetics, and relationship to liver damage. *Ann. Rev. Nutr.*, **6**, 457(1986)
10. Badaway, A. A. B. : Nutrition and the biochemical pathology of the alcohol-induced liver injury. *Alcohol and alcoholism*, **20**, 175(1985)
11. Lieber, C. S., DeCarli, L. M. Quantitative relationship between amount of dietary fat and severity of alcoholic fatty liver. *Am. J. Clin. Nutr.*, **23**, 474(1970)
12. Lieber, C. S., Spritz, N. : Effects of prolonged ethanol intake in man : Role of dietary, adipose, and endogenously synthesized fatty acids in the pathogenesis of the alcoholic fatty liver. *J. Clin. Invest.*, **45**, 1400(1966)
13. 최영선, 정경희, 조성희 : 알콜과 식이지방량이 흰쥐의 성장, 간기능 및 혈액의 생화학적 특성에 미치는 영향. *한국영양학회지* **20**, 432(1987)
14. 정경희, 조성희, 신응남, 최경호, 최영선 : 알콜과 식이지방량이 흰쥐의 간 지질조성과 간 조직형태에 미치는 영향. *한국영양학회지*, **21**, 154(1988)
15. Bergmeyer, H. U. : Methods of enzymatic analysis. 2nd English ed. Academic Press,

- New york, Vol. I, 752(1974)
16. Brin, M. : Method of thiamin assessment. *Methods in Enzymology. Vitamins and coenzymes, Part A*, **18**, 125(1970)
  17. Folch, J., Lee, M., Stanley, S. G. H. : A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497(1957)
  18. Sardesai, V. M., Manning, J. A. : The determination of triglycerides in plasma and tissues. *Clin. Chem.*, **14**, 156(1968)
  19. Pearson, S., Stern, S., MaGarack, T. H. : A rapid accurate method for the determination of total cholesterol in serum. *Anal. Chem.*, **25**, 813(1953)
  20. Chen, P. S., Toribara, T. Y., Warner, H. : Microdetermination of phosphorus. *Anal. Chem.*, **28**, 1756(1956)
  21. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. : Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**, 351(1979)
  22. Gornall, A. G., Bardwill, C. J., Davis, M. M. : Biuret method for protein. *J. Biol. Chem.*, **177**, 751(1949)
  23. Estabrook, R. W. : Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP : O ratios. *Methods in Enzymology. Oxidation and phosphorylation*, **10**, 41(1967)
  24. Luft, J. H. : Improvement in epoxy resin embedding method. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, 409(1961)
  25. Reynolds, E. S. : The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **17**, 208(1963)
  26. 조희숙 외 3명 : 음주습관이 중년층의 건강과 식습관에 미치는 영향, 전국대학생학술연구논문발표회 논문집(기초과학분야) 한국학술진흥재단 179(1987)
  27. Baraona, E., Lieber, C. S. : Effects of ethanol on lipid metabolism. *J. Lipid Res.* **20**, 289(1979)
  28. Woollett, L. A., Baldner-Shank, G. L., Aprahamian, S., Engen, R. L., Beitz, D. C. : Adaptation of lipogenesis and lipolysis to dietary ethanol. *Alcoholism : Clinical and Experimental Research*, **11**, 336(1987)
  29. Baraona, E., Lieber, C. S. : Effects of chronic ethanol feeding on serum lipoprotein metabolism in the rat. *J. Clin. Invest.*, **49**, 769(1970)
  30. Savolainen, M. J., Baraona, E., Leo, M. A., Lieber, C. S. : Pathogenesis of the hypertriglyceridemia at early stages of alcoholic liver injury in the baboon. *J. Lipid Res.*, **27**, 1073(1986)
  31. Takada, A., Matsuda, Y., Takase, S. : Effects of dietary fat on alcohol-pyrazole hepatitis in rats : The pathogenetic role of the nonalcohol dehydrogenase pathway in alcohol-induced hepatic cell injury. *Alcoholism : Clinical and Experimental Research*, **10**, 403(1986)
  32. Moderate alcohol consumption increases plasma high-density lipoprotein cholesterol. *Nutr. Rev.*, **45**, 8(1987)
  33. Valimaki, M., Nikkila, E. A., Taskinen, M-R., Ylikahri, R. : Rapid decrease in high density lipoprotein subfractions and postheparin plasma lipase activities after cessation of chronic alcohol intake. *Atherosclerosis*, **59**, 147(1986)
  34. Topping, D. L., Weller, R. A., Nader, C. J., Calvert, G. D., Illman, R. J. : Adaptive effects of dietary ethanol in the pig : changes in plasma high-density lipoproteins and fecal steroid excretion and mutagenicity. *Am. J. Clin. Nutr.*, **36**, 245(1982)
  35. Glueck, C. J., Hogg, E., Allen, C., Gartside, P. S. : Effects of alcohol ingestion on lipids and lipoproteins in normal man : isocaloric metabolic studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 2287(1980)
  36. Kanayama, R., Takada, A., Takase, S., Mat-

- suda, Y. : Effect of dietary fat upon alcohol metabolism in rat. *Biochem. Pharmacol.*, **33**, 3282(1984)
37. MacDonald, C. M. : The effect of ethanol on hepatic lipid peroxidation and on the activities of glutathione reductase and peroxidase. *FEBS Letters*, **35**, 227(1973)
38. Valenzuela, A. , Fernandez, N. , Fernandez, V. , Ugarte, G. , Videla, L. A. : Effect of acute ethanol ingestion on lipoperoxidation and on the activity of the enzymes related to peroxide metabolism in rat liver. *FEBS Letters*, **111**, 11(1980)
39. Shaw, S. , Jayatilleke, R. , Ross, W. A. , Gordon, E. R. , Lieber, C. S. : Ethanol induced lipid peroxidation : potentiation by chronic alcohol feeding and attenuation by methionine. *J. Lab. Clin. Med.*, **98**, 417(1981)
40. Sinaceur, J. , Ribiere, C. , Sabourault, D. , Nordmann, R. : Superoxide formation in liver mitochondria during ethanol intoxication : Possible role in alcohol hepatotoxicity. *Free Radicals Liver Inj. , Proc. Int. Meet. , 1st*, 175 (1985)
41. Keen, C. L. , Tamura, T. , Lönnerdal, B. , Hurley, L. S. , Halsted, C. H. : Changes in hepatic superoxide dismutase activity in alcoholic monkeys. *Am. J. Clin. Nutr.*, **41**, 929(1985)
42. Hoyumpa, A. M. : Mechanisms of thiamin deficiency in chronic alcoholism. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 2750(1980)

(1989년 5월 22일 접수)