

Coenzyme Q₁₀과 Vitamin E 첨가식이가 Adriamycin을 투여한 흰쥐의 체내 지질과산화에 미치는 영향

서정숙[†] · 양경미 · 정영아

영남대학교 식품영양학과

Effects of Dietary Coenzyme Q₁₀ and Vitamin E on Lipid Peroxidation in Adriamycin-treated Rat

Jung-Sook Seo[†], Kyung-Mi Yang and Young-Ah Joung

Dept. of Food and Nutrition, Yeoungnam University, Kyungsan 713-749, Korea

Abstract

The present study was designed to evaluate the effects of dietary vitamin E and coenzyme Q₁₀ supplementation on adriamycin (ADR)-induced lipid peroxidation in rats. After feeding the experimental diets for 6 weeks. ADR treatment significantly decreased growth performance of rats. But this decrement was not modified by supplementation of vitamin E or coenzyme Q₁₀. Lipid peroxide values of plasma and heart mitochondria were elevated by ADR treatment. But these values were significantly decreased according to vitamin E or coenzyme Q₁₀ supplementation. Adriamycin treatment elevated glutathione peroxidase (GSH-Px) activity of rats, but this increment was modified by vitamin E supplementation. There was a tendency of higher superoxide dismutase (SOD) activity in ADR-treated rats. However, vitamin E or coenzyme Q₁₀ administration reduced this enzyme activity. With ADR treatment, arachidonic acid (20 : 4) was greatly increased, but docosahexaenoic acid (22 : 6) was not detected. Arachidonic acid was decreased and docosahexaenoic acid increased by supplementation of higher level of vitamin E or coenzyme Q₁₀. Present data showed that dietary vitamin E and coenzyme Q₁₀ influenced on ADR-induced lipid peroxidation in rats, and also the degree of antioxidative effect was greater in vitamin E-supplemented rats.

Key words : lipid peroxidation, antioxidant, adriamycin, vitamin E, coenzyme Q₁₀

서 론

생체내의 지질과산화는 노화 및 여러 퇴행성 질환과 관련되어 많은 관심을 불러 일으키고 있으며 생체이물질의 독성도 지질과산화를 통해 일어난다고 보고

되고 있다¹⁾. 이러한 무질서한 지질과산화의 손상에 대한 보호기전으로 생체내에서 항산화 효과를 갖는 물질들의 중요성이 부각되고 있다.

항산화제로 널리 알려진 vitamin E는 주로 세포막, 적혈구막 그리고 미토콘드리아막에서 유리기 포착제로서 산화적 손상에 대한 보호작용을 하고, 막 속의 인지질과 황을 함유한 단백질과 결합하여 막 안정화

[†] To whom all correspondence should be addressed

에 기여한다는 보고들이 발표되었다^{2,3)}. 반면에 vitamin E와 구조가 유사하고, 미토콘드리아 전자 전달계의 구성 성분으로서 중요한 coenzyme Q₁₀의 항산화력에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 그러나 Davies와 Hochstein⁴⁾은 흰쥐의 경우 생체막에서 coenzyme Q₁₀량과 유리기들(free radicals) 생성량 사이에 상호 관련성이 있으며, coenzyme Q₁₀이 결핍되었을 때 미토콘드리아에서 지질과산화 반응이 촉진되어 지질과산화물 생성이 증가된다고 보고 하였고, 또한 Novoselova 등⁵⁾은 막에서의 coenzyme Q₁₀ 농도 변화가 막 성분비 이상을 초래한 결과 막에서 유리기들에 대한 민감도가 증진되어 지질과산화 반응이 촉진된다고 보고하였다. 이러한 연구보고들로 미루어 coenzyme Q₁₀이 유리기 포착제로서 작용하거나 막 안정화에 기여할 것으로 여겨지며, 본 연구자들은 선행된 연구⁶⁾에서 coenzyme Q₁₀의 항산화작용 가능성을 제시한 바 있다.

따라서 본 연구에서는 항암제로 널리 이용되고 있는 ADR 투여로 유발될 수 있는 심장내 지질과산화 반응에 대한 vitamin E와 coenzyme Q₁₀의 항산화제로서의 방어효과를 비교·검토하고자 한다.

재료 및 방법

실험동물의 사육

이유한 자 3일된 평균체중이 160.1±15.6g인 Sprague-Dawley종 숫쥐 60마리를 1주일 동안 기본식으로 적응시킨 후 체중에 따라 각 처리당 10마리씩 6군으로 임의 배치한 후 일정조건(온도 22±1°C, 습도 60±1%, 채광 8:00 AM~8:00 PM)에서 6주간 사육한 후 희생시켰다. Adriamycin 투여는 매주 일정시각에 일정량(2mg/Kg body weight)을 복강내 주사로 투여하였다. 각 실험군에 대한 처리는 Table 1과 같이 대조군(C), ADR 투여군(AF), 수준별 vitamin E 투여군(AE₁, AE₂), 수준별 coenzyme Q₁₀ 투여군(AQ₁, AQ₂)으로 구분하였고, 기본식이의 구성성분은 Table 2에 나타나 있다.

시료의 수집

사육한 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 ether로 가볍게 마취시켜 복부 대동맥에서 heparin처리한 주사기로 채혈 한 다음 3,000rpm에서 10분간 냉장 원심분리하

Table 1. Experimental design

Group	Diet composition	Treatment
C	Basal diet	Saline ³⁾
AF	Basal diet	ADR ⁴⁾
AE ₁	Basal diet + Vitamin E ¹⁾	ADR
AE ₂	Basal diet + Vitamin E ²⁾	ADR
AQ ₁	Basal diet + Co Q ₁₀ ⁵⁾	ADR
AQ ₂	Basal diet + Co Q ₁₀ ⁶⁾	ADR

¹⁾0.1g of α-tocopherol acetate/kg of diet

²⁾0.5g of α-tocopherol acetate/kg of diet

³⁾2.0mg of saline/kg body weight/week

⁴⁾0.1mg of adriamycin in saline/kg of body weight/week

⁵⁾0.1g of coenzyme Q₁₀/kg of diet

⁶⁾0.5g of coenzyme Q₁₀/kg of diet

Table 2. Composition of basal diet used experiment

Ingredient	Content(%)
Casein	23.5
Corn starch	40.4
Glucose	11.5
Sucrose	5.8
Soybean oil	10.0
α -Cellulose	4.0
Mineral mixture ¹⁾	3.5
Vitamin mixture ²⁾	1.0
DL-methionine	0.3
Total	100.0

¹⁾The mineral mixture based on the pattern of Rogers and Harper (1965) contained the following (g/100 g mixture): CaCO₃ 29.29, CaHPO₄ · 2H₂O 0.43, KH₂PO₄ 34.31, NaCl 25.06, MgSO₄ · 7H₂O 9.98, Fe(C₆H₅O₇) · 5H₂O 0.623, CuSO₄ · 5H₂O 0.156, MnSO₄ · H₂O 0.121, ZnCl₂ 0.02, KI 0.0005, (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O 0.0025, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.0015.

²⁾ 100g of vitamin mixture contained the following: Vitamin A acetate 50,000 IU, Vitamin D 10,000 IU, Vitamin E acetate 500mg, Vitamin K 500mg, Thiamin HCl 120mg, Phrydioxine HCl 800mg, Cyanocobalamin 0.05mg, Ascorbic acid 3,000mg, D-biotin 2mg, Folic acid 20mg, Calcium pantothenate 50mg, PABA 500mg, Niacin 600mg, Inositol 600mg, Choline chloride 20,000mg, Riboflavin 400mg.

여 혈장을 분리시켰다. 심장은 MSE medium (225mM mannitol, 75mM sucrose, 0.1mM EDTA and 20mM tris-HCl, pH 7.4)으로 perfusion시켜 적출한 후 Mela와 Seitz⁷⁾의 방법을 응용하여 심장 미토콘드리아와 사이토졸을 분리하였다.

성장률 및 사료효율

매주 한번씩 일정한 시각에 체중과 식이 섭취량을 측정하였고 그 결과를 이용하여 식이 효율을 계산했다.

과산화지질의 정량

혈장과 심장 미토콘드리아 분획의 지질 과산화물 함량은 thiobarbituric acid (TBA) 와 반응하여 생성된 malondialdehyde (MDA) 률을 측정하는 Ohakawa 등⁸⁾의 방법을 이용하여 측정하였다.

과산화지질 대사효소 활성도

심장 조직의 catalase 활성도는 Aebi 방법⁹⁾을 이용하여 H₂O₂의 분해를 240nm에서 흡광도의 감소로 측정하였다. 1분 동안 1μ mole의 H₂O₂를 분해시키는 catalase 활성도를 1unit로 정의하였다. 심장 조직의 GSH-Px 활성도는 산화형 glutathione이 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 NADPH의 흡광도가 감소하는 것을 이용한 Paglia와 Valentine¹⁰⁾ 그리고 Lawrence와 Burk¹¹⁾의 방법을 보완하여 340nm에서 NADPH 흡광도가 감소되는 속도를 관찰하여 측정하였다. 효소의 활성단위는 mg protein당 1분 동안 산화되는 NADPH nmole수로 정의하였다. 심장 조직의 SOD 활성도는 riboflavin의 광화학적 환원으로 생성된 O₂²⁻에 의한 nitrobluetetrazolium (NBT)의 환원을 SOD가 억제하는 정도로써 측정한 Winterbourne 등¹²⁾의 방법으로 측정하였다. NBT의 최대환원을 50% 저지한 SOD의 런을 1unit로 정의하였고 단백질 농도를 기준으로 하여 SOD의 unit을 표기하였다.

지방산 조성

심장 미토콘드리아에서 지방산의 조성변화는 Folche 등¹³⁾의 방법으로 지질을 추출정제한 후 Metcalfe와 Schwarz¹⁴⁾의 방법을 이용하여 BF₃-methanol로 지방산을 methyl ester화 시켜 gas chromatography를 사용하여 지방산 조성을 분석하였고 그 분석 조건은 Table 3과 같다.

단백질 정량

심장 미토콘드리아 및 조직 분획의 단백질 정량은 bovine serum albumin 표준단백질 용액을 사용하여 Lowry 등¹⁵⁾의 방법으로 측정하였다.

통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 평균±표준 편차로 표시하였고 각 처리군간의 평균치의 통계적 유의성은

Table 3. Operation condition for the determination of mitochondrial fatty acid in rat heart by gas chromatography

Instrument	G. C. (Hewlett Packard 5890 A) Integrator (Hewlett Packard 3390 A)
Column	PEG20M SCOT fused silica capillary column (25m, 0.32mm)
Temperature	Injection : 250°C Detector (FID) : 250°C Column oven : 160°C to 210°C, 4°C /min
Flow rate	Carrier (He) : 3ml/min, split ratio 60 : 1 H ₂ : 20 ml/min Air : 300ml/min
Sample injection	3μl
Attenuation	2
Chart speed	1 cm/min
Peak width	0.02
Threshold	2

Dunkan's new multiple range test¹⁶⁾를 이용하여 검증하였다.

결과 및 고찰

체중증가량, 사료섭취량 및 사료효율의 변화

일일 평균 체중 증가량과 사료 효율(Table 4)은 대조군과 비교했을 때 모든 처리군들이 유의적으로 감소하였으나 사료섭취량은 ADR 단독 투여군이 vitamin E나 coenzyme Q₁₀을 공급시킨 군들 보다도 유의적으로 증가되어 대조군과 같은 경향으로 나타났다. 체중 증가량에 있어서 ADR투여에 의한 감소현상은 vitamin E나 coenzyme Q₁₀의 공급으로 조절되지 못하였다.

Adriamycin 투여가 체중 증가량에 미치는 영향은 토끼에게 ADR (2.25mg/B. W. kg) 을 일정기간 동안 투여했을 때 정상군에 비해 체중 증가량이 낮아졌다는 Jaenke¹⁷⁾의 보고와 같은 경향을 보였다. Van Vleet 등¹⁸⁾은 토끼에게 ADR (1.2mg/B. W. kg) 을 1주일에 2번 투여했을 경우 체중 증가량이 정상군에 비해 낮게 나타났으며 vitamin E와 selenium를 공급시켰을 때에도 이에 대한 회복효과를 보이지 않았다고 보고하였다. 따라서 ADR투여로 인해 체중 증가량이 감소된 결과에 대해서 vitamin E와 selenium이 보호작용을 하지 못한 것을 알 수 있으며, 본 실험의 결과 역시

Table 4. Effect of vitamin E and coenzyme Q₁₀ supplementation on growth performance in adriamycin-treated rats

Group	B. W. G. ^a (g/day)	Feed intake (g/day)	F. E. R. ^d
C	6.16±0.65 ^{a1,2)}	18.20±1.20 ^a	0.34±0.03 ^a
AF	4.24±0.36 ^b	17.12±2.21 ^{ab}	0.26±0.02 ^{bc}
AE ₁	4.07±0.48 ^b	15.37±1.18 ^c	0.29±0.03 ^b
AE ₂	4.49±0.68 ^b	16.07±1.31 ^{bc}	0.29±0.03 ^b
AQ ₁	3.98±0.52 ^b	16.11±1.39 ^{bc}	0.29±0.02 ^c
AQ ₂	4.10±0.44 ^b	15.74±1.01 ^{bc}	0.26±0.02 ^b

^aValues shown are mean ± S. D.^bMeans with the same letter are not significantly different ($p<0.05$)^aB. W. G. : Body Weight Gain^dF. E. R. : Feed Efficiency Ratio**Table 5. Effect of vitamin E and coenzyme Q₁₀ supplementation on heart and liver weight in adriamycin-treated rats**

Group	Liver		Heart	
	Total (g)	Relative (g/100g B. W.) ^a	Total (g)	Relative (g/100 B. W.)
C	14.67±1.36 ^{a1,2)}	3.61±0.18 ^a	1.17±0.11 ^a	0.29±0.02 ^b
AF	12.83±1.49 ^b	3.83±0.22 ^a	1.07±0.08 ^b	0.32±0.02 ^a
AE ₁	12.54±1.45 ^b	3.87±0.26 ^a	1.02±0.09 ^b	0.31±0.01 ^a
AE ₂	13.23±1.88 ^b	3.89±0.25 ^a	1.09±0.11 ^b	0.32±0.02 ^a
AQ ₁	12.12±1.27 ^b	3.85±0.38 ^a	1.05±0.08 ^b	0.32±0.04 ^a
AQ ₂	12.13±1.61 ^b	3.79±0.38 ^a	1.04±0.07 ^b	0.33±0.02 ^a

^aValues shown are mean ± S. D.^bMeans with the same letter are not significantly different ($p<0.05$)^aB. W. : Body Weight

vitamin E와 coenzyme Q₁₀의 작용이 이와 유사한 경향을 나타내었다. 사료 섭취량의 경우 대조군과 비교해서 볼 때 vitamin E와 coenzyme Q₁₀ 공급군에서는 유의적으로 감소되었으나 ADR만을 투여한 군은 차이를 보이지 않았다. 따라서 ADR 단독 투여군을 대조군과 비교해서 볼 때 사료 섭취량은 정상 수준이나 체중 증가율의 감소가 일어났으므로 사료효율이 저하된 것을 알 수 있으며, 이때 vitamin E와 coenzyme Q₁₀공급은 사료효율의 증가에 별다른 영향을 미치지 못하였다.

심장과 간무게

실험식이로 6주 동안 사육한 환쥐의 간과 심장의 무게는 Table 5와 같다. 간과 심장의 총무게를 보면 대조군에 비해 ADR을 투여시킨 전 처리군이 모두 유의적으로 낮게 나타났다. 체중에 대한 상대적인 간

무게에 있어서는 대조군과 유사한 경향을 보인 반면 심장의 경우에는 ADR 단독 투여군과, 동시에 vitamin E나 coenzyme Q₁₀을 공급한 군이 유의적인 차이를 보였다. 그러므로 ADR 투여에 의한 심장의 변화를 알 수 있었으며 이때 vitamin E와 coenzyme Q₁₀공급이 별다른 효과를 나타내지 못했다. 이러한 결과는 ADR (2.0mg/B. W. kg)을 며칠동안 연속적으로 투여한 결과 체중 증가량에 대한 상대적인 심장무게 감소가 일어났으며 이때 coenzyme Q₁₀의 공급으로 정상적으로 증가시켰다는 Bertazzoli와 Ghione¹⁸⁾의 보고와는 다른 양상을 보였다.

Adriamycin의 축적 부위는 주로 심장, 간, 폐, 그리고 신장이며 그 중 심장에서 가장 심한 축적이 일어나므로 과산화물 생성에 더 큰 영향을 나타내어 심장에서 그 독성이 보다 심한 것으로 알려지고 있다. 따라서 본 실험의 경우도 이와 관련하여 간 보다도

심장에서 ADR 투여에 의한 비대현상이 초래된 것으로 사료된다.

지질 과산화물 함량의 변화

Table 6에 나타난 바와 같이 혈장과 심장 미토콘드리아 분획에서의 지질 과산화물 함량은 대조군에 비해 모든 처리군이 증가되었다. 또한 ADR 단독 투여군과 vitamin E나 coenzyme Q₁₀을 공급시킨 군들을 비교해서 볼 때 vitamin E나 coenzyme Q₁₀을 공급시킨 군에서 혈장과 심장 미토콘드리아 분획의 지질과 산화물 함량이 유의적으로 감소되었다. 그러나 vitamin E를 공급시킨 군과 coenzyme Q₁₀을 공급시킨 군들을 비교해 볼 때 vitamin E 공급군이 식이 첨가량과 비례하여 더 큰 감소를 나타내었다.

Mimnaugh 등²⁰은 ADR 대사산물인 semiquinone기가 다른 유리기들과 지질 과산화물 형성을 증가시켜 여러가지 부작용을 초래하게 되나 vitamin A, E, C 와 coenzyme Q₁₀, riboflavin-butylate 그리고 환원형 glutathione과 같은 항산화제 기능을 가진 물질들을 공급시켰을 때, 심장과 간등 여러조직에서 지질과 산화물 함량이 감소되었다고 하였다. Legha 등²¹과 Kharasch와 Novak²²는 각각 *in vivo*와 *in vitro* 실험에서 ADR 투여와 동시에 vitamin E를 줄여주거나 투여할 경우 지질 과산화물을 형성을 저하시켜 심장독성에 대해 보호작용을 나타내었다고 보고했다. 그러나 토끼와 쥐에 있어서 ADR에 의한 지질 과산화물 증가 및 독성 현상에 대해 vitamin E가 보호작용을 나타내지 못했다는 상반된 보고도 발표되었다¹⁸.

한편, vitamin E와 유사한 구조와 성질을 가지고 있으며 주로 미토콘드리아 호흡체계의 구성성분으로서 ATP 합성에 관련성이 있는 coenzyme Q₁₀의 경우에는 그 항산화력에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이다. Hino 등²³과 Folkers 등²⁴의 보고에 의하면 ADR 투여후 일어난 부작용에 대해 coenzyme Q₁₀ 공급이 여러가지 보호효과를 보였으며 그 예로는 심장 미토콘드리아에서 지질과산화물을 함량을 저하시키고 호흡체계를 정상적으로 유지시켰으며 심장기능과 생화학적 형태학적 변화에 대해 보호작용을 나타낸 것을 들 수 있다고 하였다. 본 실험의 결과 역시 coenzyme Q₁₀ 투여에 의해 지질 과산화물 함량이 저하되었으며 이는 지질과산화물에 대한 coenzyme Q₁₀의 항산화 가능성을 제시한 다른 보고들과 유사한 경향임을 알 수 있으나 그 효과에 있어서 vitamin E의 수준에는 미치

Table 6. Effect of vitamin E and coenzyme Q₁₀ supplementation on lipid peroxide levels in adriamycin-treated rats

Group	LPO ²³	
	Plasma (MDA nmol/ml)	Heart (MDA nmol/mg protein)
C	3.92±1.64 ^{d, 1, 2)}	0.21±0.05 ^d
AF	9.07±1.68 ^a	0.47±0.15 ^a
AE ₁	5.02±1.55 ^{cd}	0.31±0.08 ^{bcd}
AE ₂	4.63±1.73 ^{cd}	0.25±0.08 ^{cd}
AQ ₁	6.75±0.75 ^b	0.34±0.05 ^b
AQ ₂	5.99±1.13 ^{bcd}	0.28±0.07 ^{bcd}

^{1) Values shown are mean ± S. D.}

^{2) Means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)}

^{3) LPO : TBA-reacting substances}

지 못한 것으로 나타났다.

과산화지질 대사효소 활성도

Catalase 활성도

심장 조직의 catalase 활성도 변화는 Table 7에 제시된 것과 같이 ADR 단독 투여군과 동시에 vitamin E 나 coenzyme Q₁₀ 공급군들 모두 대조군에 비하여 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다.

생체내 지질 과산화 반응에 대한 방어 효소들로는 catalase, GSH-Px 그리고 SOD 등이 있는데 이들 효소 중 catalase는 심장에서 비교적 적은 양 분포해 있으며 hydrogen peroxide를 물로 환원시킴으로써 지질과산화물에 의한 세포손상을 방지하는 역할을 하고 있다.

또한 항암제인 ADR은 주로 심장 마이크로솜에서 정상호흡과정시 유입된 산소 분자와 반응하여 superoxide 및 hydrogen peroxide와 hydroxyl기를 형성시키게 된다. 그러므로 superoxide기를 제거시키는 SOD 그리고 hydrogen peroxide를 제거시키는 GSH-Px나 catalase와 같은 효소들에 의해 그 독성이 저하되는 것으로 보고되고 있다²⁵. Mimnaugh 등²⁰에 의하면 *in vitro* 실험에서 쥐 간의 미토콘드리아를 분리시켜 ADR을 투여하여 과산화 반응을 유도한 다음 catalase를 투여했을 때 과산화 억제에 별다른 효과를 나타내지 못했으며 Babson 등²⁴은 ADR 투여 시 catalase의 활성변화가 전혀 일어나지 않았다고 보고함으로써 ADR에 의해 유도된 지질과산화 반응에 catalase가 별다른 영향을 미치지 못한 것으로 간주하

였다.

본 실험의 결과 역시 심장 세포질에서 catalase 활성도는 ADR 단독투여와 동시에 vitamin E나 coenzyme Q₁₀ 공급으로 뚜렷한 변화를 나타내지는 않았다. 그러나 심장에서는 catalase 활성도가 낮으며 또한 심장의 지질 과산화물 분해에 GSH-Px가 더 밀접한 관계를 갖고 있다는 Doroshow 등²⁵⁾의 보고와 본 실험의 결과를 미루어 생각해 볼 때, 심장에서 ADR에 의해 유도된 지질 과산화에 미치는 catalase의 영향은 다른 방어효소들에 비해 비교적 적은 것으로 사료된다.

Glutathione peroxidase 활성도

Adriamycin을 투여한 흰쥐의 GSH-Px 활성도에 대하여 vitamin E나 coenzyme Q₁₀을 공급시킨 결과는 Table 7에 나타나 있다. 대조군에 비해서 ADR를 투여한 처리군이 유의적으로 증가되었으며, vitamin E의 공급에 의해 GSH-Px 활성도는 대조군 수준으로 감소되었다. 그러나 coenzyme Q₁₀의 공급은 ADR 처리에 의해 변화된 GSH-Px 활성도에 별다른 영향을 미치지 못하였다.

Adriamycin의 대사 과정중 생성된 유리기들과 그 이차산물들은 주로 심장에서 환원형 glutathione과 glutathione 산화·환원 효소계에 의해 중화되며 그中最 중요한 해독 요소는 selenium을 함유한 GSH-Px로 알려져 있다. Dimitrov 등²⁶⁾와 Pascoe와 Reed²⁷⁾가 토키와 쥐에게 ADR을 투여했을 때 간과 심장에서 α -tocopherol과 환원형 glutathione 뿐만 아니라 GSH-Px 활성도가 현저하게 감소되었으며 그 독성도 완화되었다고 보고한 것과 달리 Thayer²⁷⁾는 GSH-Px 활성도와 환원형 glutathione 함량이 크게 증가되었다고 보고하였으며 이러한 현상은 과산화 반응에 대한 생체

내 적응 방법중 하나로 간주하였다.

이러한 보고는 본 실험의 결과와 유사하며 이는 심장에서 지질과산화 방어 효소중 catalase 활성도가 별 다른 효소변화를 발휘하지 못한 보상작용으로서 GSH-Px가 가장 중요하게 작용한 것으로 여겨진다. 또한 ADR 처리에 대한 GSH-Px의 현저한 증가는 본 실험결과로 제시된 심장 미토콘드리아의 지질 과산화물 생성량과 상관관계를 보여 vitamin E나 coenzyme Q₁₀의 공급으로 회복되었으며, 그 효과는 coenzyme Q₁₀보다는 vitamin E가 더 우수한 것으로 나타났다.

Superoxide dismutase 활성도

Table 7에 제시된 바와 같이 SOD 활성도는 대조군과 비교해서 볼 때 ADR 단독 투여군이 유의적으로 증가되었고 vitamin E를 공급시킨 군들은 공급량과 비례하여 유의적으로 낮은 수치를 보였다. Coenzyme Q₁₀의 공급에 의해서도 ADR 처리에 의한 영향을 완화시켰으나 공급량에 따른 차이는 보이지 않았다.

Superoxide dismutase는 superoxide anion이 hydrogen peroxide로 변화되는 것을 촉매하는 효소로서 생체내 xanthine oxidase와 같은 효소계나 방사선 조사 및 생체 이물질들에 의해 변화가 일어나게 된다. Doroshow²⁵⁾은 ADR 투여로 산소 소비량이 증가되어 심장 세포질에서 superoxide 생성이 10배 이상 높아졌으나 세포내의 SOD 활성도는 변화가 유도되어 세포 및 조직 손상에 보호작용을 하게 된다고 보고했으며 본 실험의 결과 역시 ADR 단독 투여군에 있어서 SOD 활성도의 증가는 ADR에 의한 유리기들의 생성이 높아진 것으로 여겨진다.

Superoxide anion에 대한 vitamin E의 효과를 보면, α -tocopherol이 주로 막에 결합되어 있는 산화·환원계 효소로 부터 생성된 superoxide anion을 제거시키

Table 7. Effect of vitamin E and coenzyme Q₁₀ supplementation on lipid peroxide metabolizing enzyme activities in adriamycin-treated rats (unit/mg protein)

Group	Catalase	GSH-Px	SOD
C	6.11 \pm 0.76 ^{a1, 2)}	98.19 \pm 15.67 ^b	43.73 \pm 7.36 ^b
AF	6.03 \pm 1.43 ^a	115.37 \pm 25.20 ^a	66.81 \pm 20.76 ^a
AE ₁	6.08 \pm 1.40 ^a	109.01 \pm 15.65 ^{ab}	43.30 \pm 9.52 ^b
AE ₂	5.45 \pm 1.20 ^a	111.53 \pm 17.84 ^{ab}	29.31 \pm 5.29 ^c
AQ ₁	5.92 \pm 0.78 ^a	117.82 \pm 19.62 ^a	37.35 \pm 5.29 ^{bc}
AQ ₂	5.88 \pm 0.76 ^a	116.49 \pm 19.86 ^a	45.79 \pm 7.80 ^b

¹⁾Values shown are mean \pm S. D.

²⁾Means with the same letter are not significantly different ($p<0.05$)

는 것으로 알려져 있다. 또한 Mimnaugh²⁰⁾의 결과에 의하면 쥐 심장과 마이크로솜에서 ADR에 의해 유도된 지질 과산화반응은 SOD에 의해 저하되었으며 α -tocopherol의 첨가로 그 효과는 더욱 증대되었다. 본 실험의 결과에서 ADR 단독 투여군에 비해 vitamin E 공급군이 SOD 활성도가 낮아진 것으로 보아 지질과 산화에 대해 저해효과를 나타낸 것으로 사료된다. 그러나 coenzyme Q₁₀은 높은 농도의 vitamin E를 공급시킨 군에 비해 SOD 활성이 높게 유도된 것으로 보아, ADR 투여에 의한 SOD 활성도 변화에 coenzyme Q₁₀ 보다도 vitamin E가 더 중요하게 작용하는 것으로 보인다.

지방산 조성 변화

심장 미토콘드리아 분획의 지방산 조성은 Table 8 과 같다. Palmitic acid(16 : 0), stearic acid(18 : 0), linolenic acid(18 : 2) 그리고 arachidonic acid(20 : 4) 가 90% 이상을 차지하고 있었으며 그 외에 소량의 docosahexaenoic acid(22 : 6)로 구성되어 있었다. Adriamycin 단독 투여군에 있어서는 arachidonic acid 가 다른 처리군들에 비해서 가장 높게 나타난 반면에 docosahexaenoic acid는 관찰되지 않았다. 그러나 높은 수준의 vitamin E나 coenzyme Q₁₀을 공급시켰을 때 arachidonic acid는 감소하는 대신 docosahexaenoic acid는 증가되었다. Adriamycin 처리에 대하여 vitamin E나 coenzyme Q₁₀공급이 지방산 조성에 미치는 영향은 높은 수준의 vitamin E가 coenzyme Q₁₀보다 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다.

생체막에서 지방산 조성은 phosphatidylethanola-

mine(PE)과 phosphatidylcholine(PC)이 70-80%를 차지하고 있어 생체막은 거의 인지질로 구성되어 있음을 알 수 있다²⁸⁾. May와 McCay²⁹⁾에 의하면 흰쥐의 체내에서 지질 과산화 반응이 일어나면 생체막의 불포화 지방산중 PE와 PC의 순서, 단체의 지방산과 공액 이중 결합수의 증가, 그리고 막의 기능이 변화된다고 한다. 생체막에서의 지방산 조성은 여러 인자들에 의해서 영향을 받는데, Moure 등³⁰⁾은 식이 성분에 의해 지방산 조성의 차이가 나타난다고 보고했으며 또한 Schinozawa 등³¹⁾은 ADR과 같은 약물들이 막 성분과 결합하여 막 구성을 변화시켜 지방산 조성에도 영향을 미치게 된다고 하였다.

Vitamin E는 세포막에 주로 존재하면서 유리기들을 제거시켜 arachidonic acid나 docosahexaenoic acid와 같은 생체막 인지질의 산화에 대해 보호작용을 나타낸다고 알려져 왔다^{2,3,29)}. 그러나 Rohem 등³²⁾의 보고처럼 vitamin E가 결핍된 상태에서 ozone에 노출시켰을 때 arachidonic acid가 오히려 증가되었다는 상반된 보고도 있다. 또한 quinone을 함유하고 있는 지용성 계열의 coenzyme Q₁₀ 역시 막의 인지질과 결합하여 막을 안정화시킴으로써 막의 정상적인 구조와 기능 유지에 중요한 역할을 한다고 보고되고 있다²⁾.

따라서 본 실험에서는 ADR 투여로 인한 docosahexaenoic acid와 같은 불포화 지방산의 감소를 vitamin E와 coenzyme Q₁₀의 공급으로 저하시킬 수가 있었으며, 그 공급량에 비례하여 vitamin E가 막 성분인 인지질에 더 중요한 안정제로 작용하였음을 알 수 있었다.

Table 8. Fatty acid composition of the heart mitochondria of rats

Fatty acid\Group	C	AF	AE ₁	AE ₂	AQ ₁	AQ ₂	(%)
14 : 0	16.74	11.43	4.29	-	8.96	6.76	
16 : 0	10.77	16.25	22.33	18.11	17.49	33.53	
18 : 0	22.32	19.57	23.35	24.77	19.88	28.71	
18 : 1	5.54	7.14	9.64	8.60	8.02	3.03	
18 : 2	9.68	10.58	11.66	11.65	11.78	3.71	
18 : 3	4.72	-	-	5.07	-	-	
20 : 0	-	-	-	-	0.99	-	
20 : 1	9.81	0.53	5.89	1.60	5.51	1.66	
20 : 2	-	-	-	7.66	-	-	
20 : 4	16.18	34.50	21.83	16.20	27.39	19.34	
22 : 6	4.24	-	-	6.36	-	3.26	
Total	100.00	100.00	99.99	100.02	100.02	100.00	

요 약

본 연구는 항암제로서의 효능을 가진 ADR을 투여하여 유도된 흰쥐의 체내 지질과산화에 대하여 vitamin E와 coenzyme Q₁₀의 항산화효과를 구명하고자 실시되었다. 흰쥐의 성장상태는 ADR의 투여로 대조군에 비하여 저하되었으나 vitamin E나 coenzyme Q₁₀공급에 의하여 별다른 영향을 받지 못했다. 혈장과 심장 미토콘드리아 분획에서의 지질과산화물 함량은 ADR 단독 투여군에서 현저하게 증가되었으나 vitamin E나 coenzyme Q₁₀의 공급량에 비례하여 저하되었고 그 작용 능력은 vitamin E가 더 우수한 것으로 나타났다. 지질과산화물 대사효소 활성도에 있어서는 catalase 활성도가 전 처리군에서 유의적 차이를 보이지 않은 반면 GSH-Px 활성도는 ADR투여로 대조군에 비해 증가되었으나 vitamin E의 공급으로 대조군의 수준으로 저하되었다. Adriamycin에 의해 증가된 SOD 활성도는 vitamin E와 coenzyme Q₁₀공급에 의해서 모두 영향을 받았으나 coenzyme Q₁₀보다는 vitamin E에 의해 더 큰 효과를 나타내었다. 심장 미토콘드리아 분획의 지방산 조성은 ADR 단독 투여군에 있어서는 arachidonic acid가 다른 처리군들에 비해서 가장 높게 나타난 반면에 docosahexaenoc acid는 관찰되지 않았다. 그러나 높은 수준의 vitamin E나 coenzyme Q₁₀을 공급시켰을 때 arachidonic acid는 감소하는 대신 docosahexaenoc acid는 증가되었으며 높은 수준의 vitamin E가 coenzyme Q₁₀보다도 더 큰 보호작용을 나타내었다.

이상의 결과를 종합해서 볼 때 ADR 투여로 인해 심장에서 일어난 지질과산화 반응에 대해 vitamin E나 coenzyme Q₁₀이 정상 수준에는 미치지 못하나 지질과산화 방어계 효소변화를 통해 보호작용을 나타낸다는 것을 알 수 있었다. 또한 심장에서 ADR에 의한 지질과산화 반응을 억제시키는 능력에 있어서는 농도에 비례하여 vitamin E가 coenzyme Q₁₀보다도 더 우수한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 1990년도 학술연구조성비지원 (과제번호 : 903-1509-015-1)에 의하여 수행된 결과이며, 연구비를 지원하여 준 한국과학재단에 깊은

사의를 표하는 바이다.

문 헌

- Summerfield, F. W. and Tappel, A. L. : Effects of dietary polyunsaturated fats and vitamin E on aging and peroxidative damage to DNA. *Arch. Biochem. Biophys.*, **233**, 408(1984)
- Pascoe, G. A. and Reed, D. J. : Vitamin E protection against chemical-induced cell injury. :II. Evidence for a threshold effect of cellular α -tocopherol in prevention of adriamycin toxicity. *Arch. Biochem. Biophys.*, **256**, 159(1987)
- Kharasch, E. D. and Novak, R. F. : Inhibitory effects of anthracenedione antineoplastic agents on hepatic and cardiac lipid peroxidation. *J. Pharma. Exp. Ther.*, **226**, 500(1983)
- Davies, K. J. A. and Hochstein, P. : Ubiquinone radicals in liver : Implications for a mitochondrial Q cycle in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **107**, 1292(1982)
- Novoselova, E. G., Kolomiytseva, I. K., Obo- lnikova, E. A., Samokhvalov, G. I. and Kuzin, A. M. : The role of ubiquinones in the regulation of lipid metabolism in rat thymocytes. *Bull. Exp. Biol. Lipid Peroxi. Med.*, **4**, 440(1985)
- Seo, J. S., Han, I. K. and Chung, H. J. : Effects of dietary coenzyme Q₁₀ on adriamycin-induced myocardial ultrastructural changes in rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **18**, 62(1989)
- Mela, L. and Seitz, S. : Isolation of mitochondria with emphasis on heart mitochondria from small amounts of tissue. *Methods in Enzymology*, **55**, 39 (1979)
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. : Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**, 351 (1979)
- Aebi, H. : Catalase. In "Methods of enzymatic analysis" Hans Ulrich Bergmeyer (eds.). p. 673 (1974)
- Paglia, D. E. and Valentine, W. N. : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **70**, 158(1967)
- Lawrence, R. A. and Burk, R. F. : Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **71**, 952(1976)
- Winterbourn, C. C., Hawkins, R. E., Brian, M. and Carrell, R. W. : The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J. Lab. Clin. Med.*, **85**, 337(1975)
- Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G.

- H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal source. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497(1957)
14. Metcalfe, L. D. and Schwitz, A. A. : The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, **33**, 363(1961)
 15. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. T. : Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
 16. Ott, L. : *An introduction to statistical methods and data analysis*. PWS Publisher, Boston.
 17. Jaenke, R. S. : Delayed and progressive myocardial lesions after adriamycin administration in the rabbit. *Cancer Res.*, **36**, 2958(1976)
 18. Van Vleet, J. F., Greenwood, L., Ferrans, V. J. and Rebar, A. H. : Effect of selenium-vitamin E on adriamycin cardiomyopathy in rabbits. *Am. J. Vet. Res.*, **39**, 997(1978)
 19. Bertazoli, C. and Ghione, M. : Adriamycin associated cardiotoxicity : Research on prevention with coenzyme Q. *Pharma. Res. Commun.*, **9**, 235(1977)
 20. Mimnaugh, E. G., Trush, M. A., Bhatnagar, M. and Gram, T. E. : Enhancement of reactive oxygen-dependent mitochondrial membrane lipid peroxidation by the anticancer drug adriamycin. *Biochem. Pharma.*, **34**, 847(1985)
 21. Legha, S. S., Wang, Y. M., Mockay, B., Ewer, M., Hortobagyi, G. N., Benjamin, R. S. and Ali, M. K. : Clinical and pharmacologic investigation of the effects of α -tocopherol on adriamycin cardiotoxicity. *Ann. N. Y. Acad.*, **21**, 411(1982)
 22. Hino, Y., Yoo, S. B., Kagiyama, A. and Ogura, R. : Effect of riboflavin-butyrate on cardiac glutathione reductase affected by adriamycin. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **31**, 139(1985)
 23. Folkers, K., Choe, J. Y. and Combs, A. B. : Reactive coenzyme Q₁₀ from electrocardiographic abnormalities caused by the toxicity of adriamycin in the rat. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**, 5178(1978)
 24. Babson, J. R., Abell, N. S. and Reed, D. J. : Protective role of the glutathione redox cycle against adriamycin-mediated toxicity in isolated hepatocytes. *Biochem. Pharma.*, **30**, 2299(1981)
 25. Doroshow, J. H., Locker, G. Y. and Myers, C. E. : Enzymatic defenses of the mouse heart against reactive oxygen metabolites. Alterations produced by doxorubicin. *J. Clin. Invest.*, **65**, 128(1980)
 26. Dimitrov, N. V., Hay, M. B., Siew, S., Hudler, D. A. and Ullrey, D. E. : Abrogation of adriamycin-induced cardiotoxicity by selenium in rabbits. *Am. J. Pathol.*, **126**, 376(1987)
 27. Thayer, W. S. : Evaluation of tissue indications of oxidative stress in rats treated chronically with adriamycin. *Biochem. Pharma.*, **37**(11), 2189(1988)
 28. Chow, C. K. : Nutritional influence on cellular antioxidant defense systems. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 1066(1979)
 29. May, H. E. and McMAY, P. B. : Reduced triphosphopyridine nucleotide oxidase-catalyzed alterations of membrane phospholipids. I. Nature of lipid alterations. *J. Biol. Chem.*, **243**, 2288(1968)
 30. Mouri, K., Ikesu, H., Esaks, T. and Igarashi, O. : The influence of marine oil intake upon levels of lipid, α -tocopherol and lipid peroxidation in serum and liver of rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **30**, 307(1984)
 31. Shinozawa, S., Etowa, K., Araki, Y. and Oda, T. : Effect of coenzyme Q₁₀ on the survival time and lipid peroxidation of adriamycin (Doxorubicin) treated mice. *Acta Med. Okayama*, **38**, 57(1984)
 32. Rohem, J. N., Hadley, J. G. and Menzel, D. : The influence of vitamin E on the lung fatty acids of rats exposed ozone. *Arch. Environ. Health*, **24**, 237(1972)

(1991년 3월 13일 접수)