

식이 Vitamin E와 Selenium이 납중독된 흰쥐에 있어서 조혈작용과 항산화적 해독기구에 미치는 영향

이순재¹ · 박규영 · 김관유

호성여자대학교 식품영양학과

Effects of Dietary Vitamin E and Selenium on Hematopoiesis and Antioxidative Detoxification Mechanism in Lead Poisoned Rats

Soon-Jae Rhee¹, Gyu-Young Park and Kwan-You Kim

Dept. of Food Science and Nutrition, Hyosung Women's University, Kyungsan 713-702, Korea

Abstract

The protective effects of dietary vitamin E and selenium on peroxidative damage and hematopoietic inhibition by lead poisoning were investigated in rats. Male Sprague-Dawley rats weighing $150 \pm 5g$ were divided into six groups according to dietary vitamin E and/or selenium levels, i.e. control (vitamin E, 40mg/kg diet), 0E(without vitamin E, Se), 40E(vitamin E, 40mg/kg diet ; without Se), 200E (vitamin E, 200mg/kg diet ; without Se), 200ES (vitamin E, 200mg/kg diet ; Se, 0.5ppm) and 0ES (without vitamin E ; Se, 0.5ppm) groups. All experimental groups were fed ad libitum 2000ppm lead in diet except control for 4 weeks. Hemoglobin contents and hematocrit values of lead groups were lower than control group except 200ES group and were the lowest in 0E group. Aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) activities of blood and liver were sequentially reduced in 200ES, 200E, 0ES, 40E and 0E groups, compared to control, whereas urinary aminolevulinic acid (ALA) excretions were increased in the groups which represented low ALAD activity. Hepatic superoxide dismutase (SOD) activities was lower in 0E, and higher in 40E, 200E and 200ES groups, compared with control. Glutathione peroxidase (GPX) activities of liver were reduced in 0E and 40E groups, but those of 0ES, 200E and 200ES groups were significantly increased. Especially GPX activities in 200ES group was higher 4-fold than 0E and 40E. Liver vitamin E contents in lead poisoned groups were reduced, but 200E and 200ES groups were not different from control group. The reduced glutathione contents in liver were lowest in 0E and 40E groups, compared with control, whereas levels of the oxidized form were opposite phenomena of that. Liver lipid peroxide values of 0E, 0ES, 40E and 200E groups were 6.4, 2.9, 2.1, and 1.3 fold higher than control, respectively, but 200ES group was not different from control.

Key words : lead, peroxidative damage, hematopoietic inhibition, vitamin E, selenium

서 론

납은 산업장의 폐수나 자동차와 같은 내연기관의 배기가스 등으로 인해 자연계에 널리 오염되어 있으므로 쉽게 인체내에 침입하여 여러가지 임상적 중독현상을 일으킨다¹⁻⁵⁾.

최근 납의 중독과 그의 해독작용에 관한 연구가 급진전되어 이러한 중금속의 중독현상이 동물의 영양상

태에 따라 그 독성이 증감될 수 있다고 증명되었다³⁻⁵⁾. 저자 등^{7,8)}도 흰쥐에 납을 중독시켰을 때 hemoglobin 함성에 관여하는 δ -aminolevulinic acid dehydratase (ALAD)가 납에 의해 SH기가 불활성화됨으로써 그 활성이 저해되고 따라서 aminolevulinic acid (ALA)가 뇨중으로 크게 배설되었으나, 식이중에 selenium (Se)를 급여한 실험군에서는 이러한 조혈저해현상이 현저하게 완화되었다. 또한 이때 납에 의한 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX) 및 glutathi-

¹ To whom all correspondence should be addressed

one S-transferase (GST) 등의 항산화제 효소활성의 저하현상도 식이 Se에 의해 증가되므로써 과산화적 손상이 크게 감소되었는데, 이러한 Se의 작용은 생체내의 GPX, GSH 등 SH 화합물질의 SH기에 Se이 치환되어 그 생리적 활성을 증가시킴으로써 기여한다고 한다¹¹⁾. 이와 같이 Se은 중금속의 해독작용으로써 뿐만 아니라 항산화제로 널리 알려져 있다. 또한 강력한 항산화제로 알려진 vitamin E는 비록 Se과 그 기전은 다르지만 세포막의 microsome과 mitochondria에 많이 분포되어 있는 불포화지방산의 peroxidation 과정에서 chain reaction을 방지하여 과산화물질 형성을 방지함으로써 궁극적으로 생체막을 보호하여 세포의 정상적 기능을 유지시키는데 역시 기여한다고 알려져 있다^{11,12)}. 그러나 이와같은 vitamin E나 Se을 각각 별도로 식이에 급여하면 납중독된 동물에 있어서 oxygen free radical로 인해 유도되는 과산화적 손상과 조절저해작용에 대한 완화작용은 있지만 충분한 해독은 불가능하다. 그러므로 본 연구에서는 납중독시 서로 기전이 다른 이 두 항산화제를 동시 투여했을 때 이들의 상호 상승효과가 조절작용과 항산화적 방어계에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 흰쥐에 납을 투여하고 식이내 함량을 달리한 vitamin E와 Se를 동시에 급여하면서 일정기간 사육한 후 본 실험을 행하였다.

재료 및 방법

동물 및 식이

실험동물은 무게가 150±5g 정도되는 Sprague-Dawley종 수컷을 구입하여 실험 시작하기 전 7일간 일정한 환경에서 적응시킨 후 각 group으로 나누어 Table 1과 같은 내용으로 4주간 사육하였으며 식이의 기본구성은 Table 2와 같고 납공급원으로는 lead acetate를, Se은 sodium selenite를 식이에 혼합하여 급여하였다. 물과 식이는 자유롭게 섭취케 하였다.

Table 1. Classification of experimental groups

Group	Vitamin E (mg/kg of diet)	Se ¹⁾ (ppm)	Pb ²⁾ (2000ppm)
Control	40	0	-
OE	0	0	+
4OE	40	0	+
20OE	200	0	+
200ES	200	0.5	+
OES	0	0.5	+

¹⁾ Sodium selenite : Na₂SeO₃

²⁾ Lead acetate : (CH₃COO)₂Pb · 3H₂O

식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

식이섭취량은 매일, 그리고 체중은 전 실험기간을 통하여 이틀에 한번씩 일정한 시간에 측정하였다. 식이효율은 전 체중증가량을 같은 시간동안의 식이섭취량으로 나누어 줌으로써 계산하였다.

혈액, 장기 및 뇨의 채취

뇨의 채취는 실험 마지막주 3일간 metabolic cage에서 뇨를 채취하여 냉장보관한 후, 분석에 사용하였다. 혈액의 채취는 실험기간 종료후 사육한 쥐를 12시간 절식시킨 후 ethyl ether하에서 마취시켜 복부 대동맥으로 혈액을 채취하여 heparin 처리된 용기에 담아 분석에 사용하였으며, 간은 적출하여 생리식염수로 씻어 내고 무게를 측정하였다.

Hemoglobin 함량과 hematocrit치 측정

Hemoglobin 측정은 cyanmethemoglobin¹³⁾법으로 측정하였다. 즉, cyanide solution 5ml에 0.02ml의 혈액을 가하고 잘 혼합한 다음 spectrophotometer를 사용하여 540nm에서 비색정량하였다. Hematocrit치 측정은 혈액을 채취한 후 heparin으로 처리된 모세관법¹⁴⁾으로 2/3 정도 채운 다음 micro capillary centrifuge를 사용하여

Table 2. Composition of basal diet

(g/1,000g diet)

Ingredients	Basal diet
Corn starch ¹⁾	670
Casein ²⁾	180
Corn oil ³⁾	50
Salt mix ⁴⁾	40
Vitamin mix ⁵⁾	10
Cellulose ⁶⁾	50
kcal/g	3.85

¹⁾ Pung Jin Chem. Co.

²⁾ Lactic casein, 30mesh, New Zealand Dairy Board, Willington, N.Z.

³⁾ Dong Bang Oil Co.

⁴⁾ Salt mix : g per 100g of salt mix ; CaCO₃, 30.0g ; CaHPO₄, 7.5g ; K₂PO₄, 32.2g ; NaCl, 16.7g ; MgSO₄ · 7H₂O, 10.2g ; ferric citrate, 2.75g ; MnSO₄, 0.51g ; KI, 70mg ; CuCl₂ · 5H₂O, 35mg ; ZnCl₂, 25mg ; CoCl₂ · 5H₂O, 5mg ; (NH₄)Mo₇O₂₄ · 4H₂O, 5mg

⁵⁾ Vitamin mix : g per 1kg diet ; thiamine-HCl, 20mg ; riboflavin, 20mg ; pyridoxine, 20mg ; folic acid, 10mg ; nicotinic acid, 90mg ; d-calcium pantothenate, 60mg ; biotin, 1mg ; menadione, 45mg ; vitamin B₁₂(0.1% triturate in mannitol), 20mg ; retinyl acetate, 2,000IU ; cholecalciferol, 1,000IU ; choline, 1.5g ; inositol, 0.1g ; vitamin C, 0.9g ; δ-aminobenzoic acid, 0.1g

⁶⁾ CMC (sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber)

11,000rpm에서 5분간 원심분리 시킨후 packed red cell volume의 백분율을 측정하였다.

혈액 및 간조직의 ALAD 활성 측정

혈액중의 ALAD 측정은 Mauzerall와 Granik¹⁵⁾와 Joseph 등¹⁶⁾의 방법에 준하였으며 간조직중의 ALAD 측정은 Cerkwilowski와 Forbes¹⁷⁾의 방법에 따라 측정하였다.

뇌중의 ALA 배설량 측정

뇌중의 ALA 배설량은 Wada 등¹⁸⁾의 방법에 의하여 spectrophotometer로 556nm에서 그 흡광도를 측정하였다.

간조직중의 SOD, GPX, GST 활성 측정

간조직중의 SOD 활성 측정은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund¹⁹⁾의 방법을 이용하였으며, GPX 활성측정은 산화형 glutathione (GSSG)이 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 340nm에서 NADPH의 흡광도가 감소하는 것을 이용한 Lawrence와 Burk²⁰⁾의 방법에 따라 행하였다. 그리고 GST 활성측정은 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB)과 환원형 glutathione을 기질로 하여 25°C에서 20분간 반응하는 동안에 생성된 GSH-DNCB conjugate의 분자흡광도계수 ($E^{1\text{cm}}_{340\text{nm}} = 9.6\text{nm}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 효소활성을 산출하는 Habig 등²¹⁾의 방법에 의하여 측정하였고, 이 효소활성의 단위는 1분간 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 conjugated DNCB nmol로 나타내었다.

간조직중의 vitamin E, glutathione함량 및 과산화지질 측정

간조직중의 vitamin E 측정은 간조직 마쇄액 1.0ml를 Kayden 등²²⁾ 및 Taylor²³⁾의 방법에 따라 조직중의

vitamin E를 hexane으로 추출하여 30°C에서 질소가스로 건조시킨 후 이것을 시료로 하여 ferric-chloride diphyridyl법²⁴⁾에 의해 측정하였다. Glutathione의 농도 측정은 Bernt와 Bergmeyer²⁵⁾의 방법에 따라서 실시하였다. 즉 간조직의 산추출물을 얻고 이 산추출액으로부터 산화형 glutathione (GSSG)은 glutathione reductase 반응을 이용하였으며, 이 반응에서 소모된 NADPH량을 340nm에서 측정하였고, 환원형 glutathione (GSH)은 glyoxalase 반응을 이용하여 생성된 s-lactoyl-GSH를 240nm에서 측정하였다. 과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid (TBA)와 반응하는 malondialdehyde량을 측정하는 Satoh²⁶⁾방법을 이용하였다.

단백질 정량

각 시료의 단백질량은 표준품으로 bovine serum albumin을 사용하여 Lowry법²⁷⁾을 이용하여 정량하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군의 평균 간에 차이가 있는가를 검정하기 위하여 분산분석 (ANOVA검정)을 수행하였으며, 분산분석 결과 유의성이 발견된 경우 Tukey's HSD test에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

식이섭취량, 체중증가 및 식이효율

식이섭취량은 Table 3에서와 같이 각 실험군사이에 유의성이 없었다. 체중증가량은 대조군에 비해 납투여군이 낮았으며 vitamin E 나 Se의 영향은 없었다. 식이효율은 0E군, 40E군에서 대조군보다 낮았으나 타 실험군에서는 차이가 없었다. 체중당 간장의 무게도 식이군별 간에 차이가 없었다.

Table 3. Food intake, weight gain, liver weight and food efficiency ratio of experimental rats

Group	Food intake (g/day)	Weight gain (g/4wks)	FER	Liver weight (g/100g body wt)
Control	17.02±0.91 ^{NS}	129.20±0.02 ^a	0.27±0.01 ^a	3.49±0.25 ^{NS}
0E	15.40±0.56	110.30±2.51 ^b	0.24±0.05 ^b	3.52±0.31
40E	15.10±0.73	107.59±3.66 ^b	0.24±0.02 ^b	3.77±0.13
200E	15.90±0.86	114.00±2.50 ^b	0.25±0.03 ^b	3.58±0.41
200ES	15.70±0.77	116.00±3.00 ^b	0.25±0.01 ^b	3.66±0.32
0ES	14.72±0.39	110.43±2.71 ^b	0.25±0.01 ^a	3.78±0.21

All values are mean ± SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different from the other group at p<0.05 by Tukey's test. NS : Not significant at p>0.05 by Tukey's test

혈액 중 hemoglobin 함량과 hematocrit치

혈중 hemoglobin 함량과 hematocrit치를 측정 한 결과는 Table 4와 같다. Hemoglobin 함량은 200ES를 제외한 모든 실험군이 대조군에 비해 감소되었으며, 그 중에서도 0E군이 가장 낮았다. Hematocrit치도 같은 경향이였다.

혈액 및 간장 중의 ALAD 활성

혈액 중 ALAD 활성은 Table 5에서와 같이 대조군에 비해 납을 투여한 모든 군에서 현저하게 감소하였다.

Table 4. Values of hemoglobin and hematocrit of blood in lead poisoned rats

Group	Hemoglobin (g/100ml)	Hematocrit (%)
Control	11.83±0.25 ^a	43.09±1.04 ^a
0E	9.59±0.24 ^b	36.74±0.92 ^b
40E	9.82±0.27 ^{bc}	37.19±0.68 ^{bc}
200E	10.45±0.27 ^{cd}	39.21±0.88 ^{bcd}
200ES	11.03±0.36 ^{cd}	40.11±0.91 ^{cd}
0ES	10.73±0.40 ^{cd}	38.99±0.66 ^{cd}

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different from the other group at p<0.05 by Tukey's test

Table 5. Effects of vitamin E and selenium on aminolevulinic acid dehydratase activity in blood and liver, and urinary aminolevulinic acid concentration of lead poisoned rats

Group	ALAD activity in blood	ALAD activity in liver	ALA content in urine
	(μmol PBG/ml RBC/min)	(μmol PBG/g tissue/min)	(mg/L)
Control	59.47±4.10 ^a	175.23±5.65 ^a	2.40±0.23 ^a
0E	12.88±1.45 ^b	101.26±3.12 ^b	9.56±0.58 ^b
40E	14.24±1.94 ^{bc}	115.21±5.20 ^b	9.26±0.83 ^b
200E	20.49±1.16 ^{cd}	132.95±4.21 ^c	8.53±0.66 ^b
200ES	23.32±1.25 ^c	168.48±3.69 ^d	5.45±0.62 ^c
0ES	19.33±1.33 ^d	129.32±3.55 ^c	7.57±0.89 ^b

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different from the other group at p<0.05 by Tukey's test

Table 6. Effect of vitamin E and selenium on SOD, GPX and GST activities in liver of lead poisoned rats

Group	SOD	GPX	GST
	(unit/mg protein)	(nmol NADPH/mg protein/min)	(nmol DNCB/mg protein/min)
Control	10.29±0.06 ^a	112.25± 4.18 ^a	133.07± 2.08 ^a
0E	9.46±0.24 ^b	63.18± 8.90 ^b	108.47± 7.88 ^b
40E	11.89±0.36 ^c	77.22± 9.42 ^b	125.79±11.31 ^{ab}
200E	11.48±0.37 ^c	187.25±27.32 ^c	135.86± 6.10 ^a
200ES	11.25±0.57 ^c	266.31±27.85 ^d	132.05±12.07 ^a
0ES	10.75±0.24 ^{bc}	246.12±17.07 ^d	139.97±15.11 ^a

All values are mean±SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different from the other group at p<0.05 by Tukey's test

그러나 0E 군에 비해 40E, 0ES, 200E, 200ES 순위로 증가하는 경향이였다. 간조직중의 ALAD 활성도 혈액 중에서도 비슷한 경향이였으나 vitamin E 함량 증가 및 Se의 첨가에 따른 상승효과가 혈액 중에서도 보다 더 높게 나타났다.

뇌중 ALA 함량을 측정 한 결과 (Table 5) ALAD 활성과는 반대의 현상으로 0E, 40E 및 0ES군에서는 대조군에 비해 약 4배에서 3배정도 각각 높았다. 그러나 200ES군에서는 대조군보다는 약 2배정도 높았지만 0E, 40E군에 비해서는 거의 1/2가까이 낮아졌다. 따라서 식이중 vitamin E 함량의 증가나 Se의 첨가는 혈중 및 간조직중의 ALAD 활성을 증가시키고 ALA의 배설을 현저하게 감소시킴으로써 혈액중의 hemoglobin 함량이나 hematocrit치를 높일 수 있었다.

간조직 중의 SOD, GPX 및 GST활성

간조직 중의 SOD 활성을 측정 한 결과 40E, 200E, 200ES 등에서는 다소 증가되었으나 0E군에서는 오히려 감소하였는데 이러한 결과는 Pb에 의한 oxygen radical의 생성으로 그 활성이 증가되므로 유리기 산소를 제거하기 위해 증가되나 vitamin E, Se이 결여된 0E 군에서는 이와 최¹³⁾의 보고에서와 같이 세포막의 기능

적 손상으로 그 활성이 감소된 것으로 생각된다.

GPX와 GST 활성은 비슷한 경향으로 Se를 첨가하지 않은 식이군인 OE, 40E군에서 급격히 감소되는 경향이었으나 Se를 첨가하였거나 vitamin E를 충분히 첨가한 OES, 200E 및 200ES군은 현저하게 증가하여 대조군보다 그 활성이 높았으며, 특히 200ES군은 OE, 40E의 약 4배정도 높았다. 또 vitamin E를 충분히 공급시킨 200E군보다 vitamin E는 부족하나 Se를 첨가시킨 OES군에서 GPX활성의 증가를 보이는 것은 Se이 GPX구성요소로서 중요 역할을 함을 알 수 있다^{7,20}.

이와 같이 Pb투여에 의해 GPX활성이 감소된 전보⁷에서 보고했듯이 납에 의한 조직의 과산화적 손상으로 세포의 생리적 기능의 감소로 보이나, vitamin E나 Se를 첨가함으로써 이들이 세포의 미세구조를 보호한 것으로 보인다. 특히 이 두가지 항산화제의 동시 투여군인 200ES군에서 더 높은 활성을 나타낸 것은 vitamin E와 Se의 상호 보완효과에 의한 결과로 생각된다.

간조직의 vitamin E, glutathione의 함량

간조직중의 vitamin E함량은 OE, 40E 및 OES군에서는 Pb투여로 감소되었으나 충분한 양의 vitamin E를 첨가한 200E, 200ES군에서는 감소되지 않고 대조군과 같은 수준이었다. 간조직중의 glutathione함량은 Table 7에서와 같이 환원형 GSH는 대조군에 비해 OE, 40E군에서 낮았으나 GSSG는 OE 및 40E군들이 대조군보다 높았다. 따라서 GSH/GSSG비를 보면 대조군에 비해 모든 군에서 낮았으며 특히 OE군은 1/3정도로 낮았다. 이와같이 vitamin E나 glutathione 등의 항산화 물질의 함량이 Pb투여에 의해 급격히 감소되었는데 이러한 결과는 Pb투여로 인한 지질과산화에 vitamin E가 소모

되었음을 시사함과 동시에 간조직 중의 vitamin E함량은 식이중 vitamin E 급여농도에 비례하는 경향이었으며, Se의 영향은 없었다. 이와 같이 조직 중의 GSH함량이나 vitamin E의 함량 모두가 식이내 vitamin E를 충분히 급여한 200E, 200ES군에서는 대조군과 유의성이 없고, 또 200E와 200ES 두군사이에는 서로 차이가 없는 것으로 보아 충분한 vitamin E급여는 조직중 vitamin E, GSH함량을 정상 농도 수준으로 유지시킨다고 볼 수 있다.

간조직의 과산화지질 값의 변동

간조직중의 과산화지질 값은 (Table 7) OE, OES, 40E, 200E군에서 대조군에 비해 각각 6.4, 2.9, 2.1, 1.3배씩 높았으나 200ES군만은 대조군과 차이가 없었는데 이러한 결과로 미루어볼때 식이 vitamin E와 Se의 수준조절은 Pb로 인한 과산화적손상을 완화시키는데 상호 상승효과를 볼 수 있었다.

Oxygen free radical은 생체내의 내인적 혹은 외인적 요인에 의해 생성되어 세포의 성분이나 기질, 특히 불포화지방산이 다량 존재하는 생체막에 연쇄적인 과산화적 손상을 입힌다^{29,30}. 그러나 생체는 이들 oxygen free radical로부터 생체를 보호하는 효소적(SOD, GPX, catalase, GST), 비효소적(vitamin E, GSH, Se) 항산화기구가 있다^{31,32}.

본 실험의 결과에서 보면 Pb투여에 의해 SOD, GPX 및 GST와 같은 항산화적 해독효소의 활성이 간조직중의 GSH, vitamin E 공급이 결여된 OE군에서 현저히 저하되었다. 그러나 항산화제인 vitamin E를 충분히 공급한 200E군에서는 효소활성의 증가 및 조직의 항산화 물질의 함량이 증가되었으며 더구나 Se를 동시 공급한 200ES군에서는 200E군이나 OES군에 비해 현저한 효

Table 7. Effect of dietary vitamin E and selenium on vitamin E and glutathione contents and lipid peroxide value in liver of lead poisoned rats

Group	Vitamin E ($\mu\text{g}/\text{mg}$ protein)	Glutathione			Lipid peroxide value (nmol MDA/mg protein)
		GSH ($\mu\text{mol}/\text{g}$ wet wt)	GSSG	GSH/GSSG	
Control	9.80 \pm 0.85 ^a	4.39 \pm 0.36 ^a	0.19 \pm 0.07 ^a	23.11	0.89 \pm 0.10 ^a
OE	4.65 \pm 0.34 ^b	3.96 \pm 0.67 ^b	0.39 \pm 0.06 ^b	8.36	5.56 \pm 0.81 ^b
40E	4.64 \pm 0.27 ^b	3.83 \pm 0.65 ^b	0.39 \pm 0.06 ^b	10.63	1.30 \pm 0.13 ^c
200E	11.10 \pm 1.40 ^c	4.63 \pm 0.28 ^a	0.31 \pm 0.13 ^a	14.94	1.17 \pm 0.11 ^c
200ES	11.02 \pm 0.84 ^c	4.60 \pm 0.79 ^a	0.31 \pm 0.07 ^a	14.84	0.84 \pm 0.05 ^a
OES	4.72 \pm 0.61 ^b	4.18 \pm 0.76 ^a	0.33 \pm 0.08 ^b	11.45	2.25 \pm 0.11 ^d

All values are mean \pm SE (n=10). Values within a column with different superscripts are significantly different from the other group at p<0.05 by Tukey's test

과를 보여 간조직의 과산화물질의 값이 대조군과 차이가 없었으므로써 vitamin E와 Se의 각각 급여보다는 동시 투여로 항산화제의 상호 보완작용에 의한 상승효과를 나타낸다고 볼 수 있었다. 이러한 결과는 vitamin E는 불포화지방산의 peroxidation 과정에서 chain reaction을 방지하여 peroxide형성을 미리 저하시키는 역할을 하는데^{33,34)} 비해 Se은 생물체내 redox system의 중요 조절효소인 GSH-peroxidase나 GSH의 구성요소로서 이미 형성되어진 유독성의 지질과산화물을 제거해주는 과정에 관여하므로^{28,32)} 기전이 다른 두 항산화제가 궁극적으로는 세포막의 불포화지방산의 과산화를 최대한 방지하여 생체막의 최적구조를 유지하는데 공헌하는 서로 관련에 있는 항산화제이기 때문으로 생각된다.

그 결과로 Pb투여에 의해 heme 합성시 aminolevulinic acid (ALA)로부터 porphobilinogen (PBG)을 합성하는데 관여하는 ALAD활성이³⁵⁾ 크게 저해되어 조혈작용이 악화되었는 혈액 및 간장에서의 ALAD활성도 역시 200ES군에서 가장 높은 활성을 나타내었고 뇨중 ALA배설이 감소되면서 Hb, Hct가 상승되었다고 볼 수 있는 것도 이러한 항산화제들이 역시 ALAD활성에 직접 관여는 않더라도 생체막의 최적조건을 유지하는데 기여하였기 때문으로 사료된다.

이상의 결과를 미루어 볼때 vitamin E 혹은 Se을 각각 급여시 보다는 이들 항산화제를 동시 급여시 상호 보완작용의 영향으로 보다 높은 해독효과가 있었다고 볼 수 있었다. 그러므로 본 연구에서는 납과 같은 중금속의 독성을 해독하는 방편으로써 적절한 수준의 기전이 다른 항산화제들을 식이로 공급할 필요성을 제시하며 앞으로 이에 관련된 더 깊은 연구가 절실하다고 사료된다.

요 약

납중독된 흰쥐에 항산화적 방어와 조혈기능에 미치는 식이 vitamin E와 Se의 상호보완에 의한 상승효과를 관찰코저 체중이 $150 \pm 5g$ 되는 Sprague-Dawley종의 흰쥐 수컷에 납을 투여하지 않은 대조군과 2000ppm의 납을 식이중에 투여하면서 vitamin E함량과 Se의 첨가에 따라 0E (vitamin E, 0mg/kg diet; Se, 0), 40E (vitamin E, 40mg/kg diet; Se, 0), 200E (vitamin E, 200mg/kg diet; Se, 0), 200ES (vitamin E, 200mg/kg diet; Se, 0.5ppm), 0ES (vitamin E, 0mg/kg diet; Se, 0.5ppm)군으로 나누어 4주간 사육한 후 간조직 중의 항

산화적 방어효소계 활성 및 생리적 항산화물질의 함량과 과산화지질량을 측정하고 조혈기능을 관찰하였다. Hb함량과 Hct는 200ES군을 제외한 모든군이 대조군에 비해 감소되었으며 특히 0E군이 가장 낮았다. 혈액의 ALAD활성은 대조군에 비해 200ES, 200E, 0ES, 40E 및 0E군 순위로 낮았으며 간조직 중의 ALAD 활성도 비슷한 경향이었다. 뇨중 ALA의 배설은 ALAD활성과 반대의 현상이었다. 간조직 중의 SOD활성은 40E, 200E, 200ES 등에서는 대조군보다 다소 증가되었으나 0E군에서는 감소되었다. GPX 활성은 0E, 40E군에서는 감소되었으나 0ES, 200E 및 200ES군은 현저하게 증가되었으며 특히 200ES군은 0E, 40E의 약 4배정도 높았다. GST활성은 비슷한 경향이었다. 간조직 중의 vitamin E는 납의 투여로 대조군에 비해 감소되었으나 200E 및 200ES군에서는 대조군과 차이가 없었다. 간조직 중의 GSH 함량은 대조군에 비해 0E, 40E군에서 가장 낮았으며 GSSG는 그 반대의 현상이었다. 간조직 중의 지질과산화량은 대조군에 비해 0E, 0ES, 40E, 200E군에서 각각 6.4, 2.9, 2.1, 1.3배씩 높았으나 200ES군은 차이가 없었다. 그러므로 식이 중의 항산화제의 적절한 첨가는 납중독으로 인한 과산화적 손상과 조절해작용을 현저하게 완화시킬 수 있음을 알 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 1992년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 지방대학육성과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

문 헌

1. Grandjean, P. : Widening perspectives of lead toxicity ; A view of health effects of lead exposure in adults. *Environ. Res.*, **17**, 303 (1978)
2. Guine, V. F. : Lead poisoning. *Am. J. Med.*, **52**(3), 283 (1972)
3. Quarterman, J. and Morrison, J. N. : The effects of dietary calcium and phosphorus on the retention of lead in rats. *Br. J. Nutr.*, **34**, 351 (1975)
4. Suzuki, T. and Yoshida, A. : Effect of dietary supplementation of iron and ascorbic acid on lead toxicity in rats. *J. Nutr.*, **109**, 982 (1979)
5. Mahaffey, K. R. : Nutritional factors in lead poisoning. *Nutr. Rev.*, **39**, 353 (1981)
6. Rastogi, S. C., Clausen, J. and Srivastava, K. C. : Selenium and lead mutual detoxifying effect. *Toxicol.*, **6**, 377 (1976)
7. 이순재 : 식이 selenium이 납중독된 흰쥐 간장의 항산화적 해독기능에 미치는 영향. *한국노화학회지*, **1**

- (2), 125 (1991)
8. 방진숙, 이순재 : 식이 selenium이 납중독된 흰쥐에 있어서 δ -aminolevulinic acid dehydratase활성에 미치는 영향. 한국영양학회지, **24**(6), 526 (1991)
 9. De Bruin, A. : Effect of lead exposure on the level of δ -aminolevulinic acid dehydratase activity. *Med. Lavoro*, **59**, 411 (1977)
 10. Thompson, J., Jones, D. D. and Beasley, W. H. : The effect of metal ions of δ -aminolevulinic acid dehydratase. *Bri. J. Ind. Med.*, **340**, 32 (1977)
 11. Tappel, A. L. : Vitamin E as the biological lipid antioxidant. *Vitamins and Hormones*, **20**, 493 (1962)
 12. 이순재, 최원경 : 가열유와 vitamin E가 흰쥐 간장내의 과산화적 손상에 미치는 영향. 한국영양학회지, **20**(2), 111 (1991).
 13. Davidshon, I. and Nelson, D. A. : *Clinical diagnosis by laboratory methods*. Saunder Co. Philadelphia, p. 125 (1969)
 14. 백태홍, 김천호, 전세열 : 영양학 실험. 수확사, p.55 (1984)
 15. Meuzerall, D. and Granik, S. : The occurrence and determination of δ -aminolevulinic acid and porphobilinogen in urine. *J. Biol. Chem.*, **219**, 435 (1956)
 16. Joseph, B., Weissberg, B. A., Ferd, L., Frank, A. and Osaki, M. D. : δ -Aminolevulinic acid dehydratase activity in circulating blood cells. *J. Med.*, **284**(11), 555 (1971)
 17. Cerkilewaski, F. N. and Forbes, R. M. : Influence of dietary selenium on lead toxicity in the rat. *J. Nutr.*, **106**, 778 (1976)
 18. Wada, O., Yano, Y. and Nakao, K. : A simple method for the quantitative analysis of urinary δ -aminolevulinic acid to evaluate lead absorption. *J. Indust. Med.*, **26**, 204 (1971)
 19. Marklund, S. and Marklund, G. : Involvement of superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, **47**, 469 (1974)
 20. Lawrence, R. A. and Burk, R. F. : Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res. Commun.*, **71**, 952 (1976)
 21. 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)
 22. 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)
 23. Tayler, S. L. : Sensitive fluorimetric method for tissue tocopherol analysis. *Lipid*, **11**, 503 (1976)
 24. Hawk, P. B., Oser, B. L. and Summerson, W. H. : *Ferric chloride dipyriddy method (Emmenrie-Engel reaction)*. Practical Physiochem. 13th ed. J. LA. Churchill, TD, p.1272 (1956)
 25. Bernst, E. and Bergmeyer, H. U. : *Methods of enzymatic analysis ; Glutathione*. 2nd English ed. Academic Press, Vol. 4, p.1641 (1974)
 26. Satoh, K. : Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica Chemica Acta*, **90**, 37 (1978)
 27. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
 28. Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G. and Hoekstra, W. G. : Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, **179**, 588 (1973)
 29. Haber, F. and Weiss, J. : The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by salt. *Pro. Roy. Soc. Ser. A.*, **147**, 332 (1934)
 30. Misra, H. and Fridovich, I. : The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. *J. Biol. Chem.*, **247**, 6960 (1972)
 31. McCord, J. M. and Fridovich, I. : Superoxide dismutase ; An enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, **244**, 6049 (1969)
 32. 이순재, 전수영 : Cadmium 투여 흰쥐에 있어서 metallothionein 합성과 항산화적 해독기구에 미치는 식이 selenium의 영향. 한국영양학회지, **26**(3), 286 (1993)
 33. Vatassery, G. T., Angerhofer, C. K., Knox, C. A. and Deshmusk, D. S. : Concentrations of vitamin E in various neuroanatomical regions and subcellular fractionations, and the uptake of vitamin E by specific areas of rat brain. *Biochem. Biophys. Acta*, **792**, 118 (1984)
 34. 박규영, 이순재 : 식이 불포화지방산과 vitamin E 함량이 흰쥐 간장내의 지질과산화에 미치는 영향. 한국영양학회지, **21**(5), 295 (1988)

(1993년 8월 18일 접수)