

알코올의 섭취가 식이내 Selenium과 Vitamin E 수준을 달리한 흰쥐의 체내 Selenium 수준과 심장 및 간조직에 미치는 영향

김갑순[†] · 채기수 · 정승용*

경남전문대학 식품영양과

*경상대학교 식품영양학과

The Effect of Alcohol Administration on Selenium Concentration and Cell Morphology of Heart and Liver of Rats Fed with the Different Levels of Selenium and Vitamin E

Kap-Soon Kim[†], Ki-Su Chae and Seoung-Yong Chung*

Dept. of Food Nutrition, Kyungnam Junior College, Pusan 616-701, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of alcohol administration on selenium concentration and cell morphology in tissues of rats fed with the different levels of selenium (Se) and vitamin E. Seventy two male rats of Sprague-Dawley strain weighing about 58~62g were divided into 12 groups. The dietary Se levels were 0mg (L-), 0.4mg (C-) and 10mg (H-), and the dietary vitamin E levels were 0mg (-L) and 150mg (-C) per kg diet, respectively. Alcohol-administrated groups (-A) received the triple distilled potable water solution containing 10% of ethanol from the 3rd week of experimental periods. The obtained experimental results are summarized as follows. Se concentration in blood and urine made difference in accordance with Se level in diet and tended to be low in alcohol administrated groups. Se concentration in liver and kidney was also directly proportional to the dietary Se level, and it tended to be low in each alcohol group, but Se concentration in kidney tended to be increased by alcohol administration. Myocardium in rats showed lysosome increasing, fat droplet, mitochondrial swelling, and in particular, bad intracellular edema, in H-group fed with high Se and in L-group with low Se. It also showed such phenomena in the alcohol administrated group. In HC-group fed with excessive Se and normal vitamin E, there appeared no noticeable change in liver tissue. However, in the alcohol administrated HCA-group, there came out fat droplet. Especially, in the alcohol administrated LLA-group, not fed with sufficient Se and vitamin E, there were found lysosome increasing and a number of fat droplet.

Key words : selenium, vitamin E, alcohol, electron microscopy, cell morphology

서 론

Selenium (Se)은 생체 세포에서 glutathione 존재하여서 지질과산화와 같은 유기과산화물과 과산화수소를 H₂O로 바꿔게 하여 ·OH 생성을 억제하는 glutathione peroxidase (GSH-Px)의 필수 구성 성분¹⁾으로 Se은 세포막 손상을 방지하고 산화에 예민한 세포부위를 보

호하는 기능을 가진다²⁾.

또한 vitamin E는 세포내 불포화 지방산의 과산화의 연쇄반응을 방지하여 정상적인 세포막 구조의 유지를 지속시킨다³⁾. 그러므로 Se과 vitamin E는 생체내에서 영양적으로 상호보완관계를 갖고 서로 다른 기전으로 free radical의 생성을 억제하여 항산화작용을 한다⁴⁾. 따라서 식이내 Se과 vitamin E의 결핍은 GSH-Px의 activity가 저하됨으로 이에 관련된 장애와 세포막의 손상으로 각 조직 기능이 저하되고, 특히 간장 및 심근

[†]To whom all correspondence should be addressed

조직의 변화를 일으키며^{5,6)}, 여러가지 결핍증세가 인간과 여러 동물에서 밝혀지고 있다.

한편 알코올은 체내 대사과정에서 알코올 그 자체 및 알코올 대사물질이 간조직의 손상을 일으키므로 만성적 알코올의 섭취는 간에 중성지방을 축적시켜 지방간을 일으키고 과량의 NADH가 생성되어 NADH oxidase의 활성이 높아져 ·OH와 O₂와 같은 oxygen radical을 형성하여 지질과산화물을 촉진 시키지만⁷⁾ 항지방간 인자와 항산화제가 충분히 공급되어지면 알코올섭취는 과산화지질함량이 오히려 감소한다고 하였다⁸⁾. 그러므로 만성적 알코올섭취로 인한 간세포의 지방의 증가는 곧 지방의 산화 억제에 관계하는 Se과 vitamin E의 대사에 영향을 미치는데, 알코올섭취와 혈액내의 Se의 수준은 negative의 상관관계를 가지며 혈액내 vitamin E 수준도 내려간다고 하는 보고 등^{9,10)}이 있지만, 알코올과 Se의 상호 관련된 기능에 관한 연구 결과가 일치되지 않고⁹⁻¹²⁾, 특히 Se의 결핍으로 인한 지질 과산화의 촉진에 대한 알코올의 영향은 명확히 밝혀져 있지 않다.

따라서 본 실험에서는 알코올, Se 및 vitamin E의 지질과산화에 관련된 상호기능을 밝히기 위하여 지질과산화와 radical scavenger enzyme 활성에 미친 결과를 토대로 체내 Se이 많이 분포되어 있는 심장, 간, 혈

액 및 소변의 Se 수준³⁾과 Se의 결핍시 가장 손상이 많이 오는 심장, 간세포⁶⁾의 형태변화를 광학 전자 현미경을 통해 조사, 연구하였다.

재료 및 방법

실험 동물의 사육

평균체중이 58~62g인 Sprague-Dawley계의 젖豚 수컷 흰쥐 72마리를 실험시작하기 전 고형사료로 3일간 사육시켜 환경에 적응시킨뒤 체중에 따라 난괴법에 의해 6마리씩 12군으로 나누어 7주간 Table 1에 표시한 내용으로 한마리씩 stainless steel cage (30×30×50cm)에 분리 사육하였다. 알코올 투여군은 실험시작 3주부터 10% 알코올용액을 급수물로 공급해 주었다. 실험동물의 사육시 일어날 수 있는 무기질의 오염을 방지하기 위하여 실험 시작전 사육에 필요한 모든 기구는 0.4% EDTA (ethylene diamine tetra acetate)로 헹군 뒤 사용하였고 물은 3차 증류수를 주었으며 물과 식이는 제한 없이 먹게 하였다.

실험 동물의 식이

실험식은 Table 2와 같이 쥐의 Se 요구량을 식이

Table 1. Grouping of experimental animals

Experimetal groups ¹⁾	Dietary Se level (mg/kg diet)	Dietary α-tocopherol levels (mg/kg diet)	Administration alcohol
HCA	10	150	+
HC	10	150	-
HLA	10	0	+
HL	10	0	-
CCA	0.4	150	+
CC	0.4	150	-
CLA	0.4	0	+
CL	0.4	0	-
LCA	0	150	+
LC	0	150	-
LLA	0	0	+
LL	0	0	-

¹⁾ HCA ; alcohol-administrated high selenium, control tocopherol diet group
 HC ; high selenium, control tocopherol diet group
 HLA ; alcohol-administrated high selenium, low tocopherol diet group
 HL ; high selenium, low tocopherol diet group
 CCA ; alcohol-administrated control selenium, control tocopherol diet group
 CC ; control selenium, control tocopherol diet group
 CLA ; alcohol-administrated control selenium, low tocopherol diet group
 CL ; control selenium, low tocopherol diet group
 LCA ; alcohol-administrated low selenium, control tocopherol diet group
 LC ; low selenium, control tocopherol diet group
 LLA ; alcohol-administrated low selenium, low tocopherol diet group
 LL ; low selenium, low tocopherol diet group

kg당 0.40mg을 기준으로 하여 kg당 0mg (low Se군), 0.4mg (control Se군), 10mg (high Se군)으로 달리하고 vitamin E도 수준으로 식이 1kg당 0mg (low tocopherol)과 150mg (control tocopherol)으로 하였다. 단백질의 급원은 methionine이 제한되고, Se이 적게 함유되어있는 soy protein을 주었고, 당질의 급원으로 sucrose를 주었다. 지방의 급원은 총지방산의 60%가 linolenic acid인 들깨기름을 사용하였다. 알코올투여는 급수물에 ethanol을 10%(v/v) 수준으로 혼합하여 주었다.

혈액, 뇨의 채취

실험기간 종료 후 12시간을 굶긴 뒤 diethylether로 마취시킨 뒤 cardiac puncture 방법으로 채혈하여 3000 rpm에서 15분간 원심분리시켜 혈장을 얻어 바로 냉동(-40°C)보관 하였다.

실험 마지막 주에 실험 동물을 대사장(metabolic cage)으로 옮겨 2일간 적응시킨 뒤 3일간 뇨를 채취하였다. 뇨의 부패방지를 위해서 뇨 채취병에 0.1% HCl 과 toluene을 소량 넣어 주었고 채취한 뇨는 2차 증류수로 100ml로 되게 희석한 후 원심분리하여 상등액을 취하여 Se분석을 위해 냉동(-40°C)보관하였다.

간, 심장 및 신장 채취

혈액을 채취한 즉시 실험동물로 부터 심장, 신장, 간장을 떼어내어 무게를 측정하고 간은 0.9% 생리식염수로 perfusion을 하여 떼어낸뒤 다시 생리식염수에 씻은 다음 여과지로 생리식염수를 제거한 뒤 무게를 재고 냉동(-40°C)보관 하였다.

혈액, 간, 신장 및 소변의 Se 분석

채취하여 냉동보관하였던 혈액, 간, 신장 및 소변의 일정량을 Kjeldahl flask에 넣어 nitric, perchloric, sulfuric acid를 넣고 습식분해시킨 뒤 2차증류수로 희석하여 Saed 방법¹⁵⁾으로 Atomic Absorption spectrometer 30 (GTA-96, Graphite Tube Atomizer, Varian)으로 Table 3의 조건으로 분석하였다.

간장과 심장의 전자현미경을 통한 조직학적 검사

전자현미경적 관찰을 위해서 실험동물을 ether로 마취시킨 뒤 복부 및 흉부 정중선을 따라 절개하고 간과 심장을 적출한 즉시 2.5% glutaraldehyde용액(0.1M phosphate buffer, pH 7.4, 4°C)에 담구어 각각의 조직을 1×1×1mm 크기로 잘랐는데 심장은 좌심실 및 심중격의 조직을 채취하였다.

Table 2. Composition of experimental diets

Ingredients	HCA	HC	HLA	HL	CCA	CC	CLA	CL	LCA	LC	LLA	LL
Sucrose (g)	660	660	660	660	660	660	660	660	660	660	660	660
Soy protein (g)	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200
Perilla oil (g)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Salt mixture (g) ¹⁾	⁴⁰	⁴⁰	⁴⁰	⁴⁰	⁴⁰	⁴⁰	⁴⁰	⁴⁰	⁴⁰	⁴⁰	⁴⁰	⁴⁰
Vitamin A, D mixture (ml) ²⁾	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vitamin E, K mixture (ml) ³⁾	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Water soluble vitamin (g) ⁴⁾	**	*	*	**	**	*	*	**	**	*	*	*
Vitamin B ₁₂ (ml) ⁵⁾	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ethanol (10%)	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-

¹⁾ Composition of salt mixture (g/kg diet) : calcium phosphate dibasic 20g, sodium chloride 2.96g, potassium citrate monohydrate 8.8g, potassium sulfate 2.08g, magnesium oxide 0.96g, manganese carbonate 0.14g, ferric citrate 6H₂O 0.24g, zinc carbonate 0.064g, cupric carbonate 0.012g, potassium iodate 0.0004g, chromium potassium sulfate 0.0002g, sucrose to make 40.0g, ²⁾ HSe ; 10mg/kg diet ³⁾ CSe : 0.4mg/kg diet ⁴⁾ LSe ; 0mg/kg diet

²⁾ Vitamin A, D mixture (mg/ml corn oil) : vitamin A 0.1mg, vitamin D 0.01mg

³⁾ Vitamin E, K mixture : α -tocopherol acetate (** ; Cto : 150mg/kg diet, * ; Lto : 0mg/kg diet), menadion 2mg, corn oil 2ml

⁴⁾ Water soluble vitamin mixture (mg/kg diet) : choline chloride 2,000mg, thiamin hydrochloride 10mg, riboflavin 20mg, nicotinic acid 120mg, pyridoxine 10mg, calcium pantothenate 100mg, biotin 0.5mg, folic acid 4mg, inositol 500mg, para-amino benzoic acid 100mg

⁵⁾ Vitamin B₁₂ solution : vitamin B₁₂ 1mg/100ml distilled water

⁶⁾ + : administration of alcohol, - : non-administration of alcohol

이들 조직편은 2시간 동안 2.5% glutaraldehyde 용액에 고정된 후 1% OsO₄ 용액(0.1M phosphate buffer, pH 7.4, 실온)으로 2시간 동안 후 고정하였다.

고정된 조직들은 계열 ethanol 용액(30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%)으로 탈수한 후 propylene oxide로 치환하여 Luft 방법¹⁶⁾에 의한 epon 혼합물에 포매하였다. 포매된 조직들을 1 μ m 두께로 박절하여 alkaline toluidine blue로 단염색하여 관찰부위를 결정 한 다음 diatome knife를 이용, Porter-Blum MT-2B ultra-microtome으로 두께 40~60nm로 초박절한 후 Reynolds 방법¹⁷⁾에 의해 uranyl acetate 및 lead citrate로 2중 전자염색을 한 후 Jeol JEM-100CX 전자현미경으로 가속전압 80KV에서 관찰하였다.

통계처리

모든 실험 결과는 통계처리하여 실험군당 평균치와 표준오차를 계산하였고 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's

Table 3. The operation conditions of AA for Se analysis

Instrument parameters	Conditions
Lamp position	1
Lamp current (mA)	7
Slit width (nm)	1.0
Slit height	Normal
Wavelength (nm)	196.0
Flame	Air-acetylene
Sample introduction	Manual
Replicates	1
Measurement time (sec)	40.0
Delay time (sec)	2
Background correction	on

Table 4. Se content in blood and urine of rats (ppm/ml)

Group	Blood	Urine
HCA	1.27 \pm 0.14 ^{1,2,c}	0.52 \pm 0.18 ^b
HC	1.70 \pm 0.31 ^c	0.76 \pm 0.10 ^b
HLA	1.26 \pm 0.30 ^c	0.61 \pm 0.17 ^b
HL	1.54 \pm 0.21 ^c	0.71 \pm 0.13 ^b
CCA	0.19 \pm 0.04 ^b	0.06 \pm 0.02 ^a
CC	0.28 \pm 0.05 ^b	0.09 \pm 0.03 ^a
CLA	0.21 \pm 0.06 ^b	0.04 \pm 0.01 ^a
CL	0.26 \pm 0.05 ^b	0.06 \pm 0.03 ^a
LCA	0.03 \pm 0.01 ^a	0.02 \pm 0.01 ^a
LC	0.04 \pm 0.01 ^a	0.03 \pm 0.01 ^a
LLA	0.05 \pm 0.01 ^a	0.03 \pm 0.01 ^a
LL	0.04 \pm 0.01 ^a	0.06 \pm 0.02 ^a

¹⁾ Mean \pm S.E.M.
²⁾ Values within a column not followed by the same letter are significantly different at $\alpha=0.05$ level by Duncan multiple test

multiple test와 t-test로 각 실험군 평균치간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

혈액과 소변의 Se 함량

혈액과 소변의 Se 함량은 Table 4에 나타난 바와 같이 식이내 Se의 수준에 따라 유의적 차이를 보여 Se이 결핍된 군들(-)이 가장 낮았고, 과잉으로 섭취한 군들(H-)이 가장 높게 나타났다. 식이내 vitamin E의 영향은 보이지 않았고 알코올섭취에 따른 영향으로 알코올 섭취군이 섭취하지 않은 군에 비해서 낮은 양상을 보였다.

Testolin 등¹⁸⁾은 흰쥐에게 140일간 Se를 결핍시켰을 때 결핍 3주만에 control군에 비해서 혈장내 Se이 33% 감소하였고, Burk 등¹⁹⁾은 혈액내 Se의 수준은 Se의 섭취량이 과잉일 경우와 부족일 경우 체내 Se의 좋은 index가 된다고 하였다. 알코올섭취군이 비섭취군에 비해 Se 수준이 낮은 이유는 알코올 섭취로 인한 식이 섭취량의 감소^{9,13,18,19)} 때문이며, Karkkainen¹⁰⁾, Mussalo²⁰⁾ 보고에서 알코올섭취자들의 혈액내 trace elements들의 상관관계를 관찰하였을 때 알코올섭취와 혈액내 Se 수준은 부의 상관관계를 갖는다고 하였으며, 소변과 분변을 통한 Se의 손실과 같은 Se의 대사변화 때문이라고 하였다.

본 실험에서도 알코올의 섭취군들의 혈액내 Se의 수준이 낮은 것은 식이 섭취량¹³⁾과 알코올 섭취에 기인된 것으로 생각된다.

Se의 섭취가 부족 또는 과잉될때 사람과 동물에서 체내의 Se의 수준을 일정수준으로 유지시키려는 regulatory mechanism이 있다²¹⁾. Se의 섭취가 부족 하거나 과잉일 경우에는 체내의 흡수와 보유가 달라지는데 Burk는 식이내 Se의 수준에 반비례하여 결핍시 체내 보유가 증가되고 과잉시에는 감소 하였음을 밝혔다^{22,23)}. 한편 사람의 경우도 Se의 섭취량에 따른 체내 Se 항상성 유지는 1일 11~30 μ g을 섭취하는 중국사람은 7.4 μ g/day²⁴⁾인 반면에 호주의 여성은 1일 섭취량도 많으며 Se의 평형도 24 μ g/day²⁵⁾이며 미국 남자는 54~80 μ g/day²⁶⁾이나 직접 관여하는 인자가 무엇인지를 밝혀지지 않았지만 흡수, 배설, 보유, 재분배 등으로 유지시키는 것으로 사료 된다. 본 실험에서 Se 과잉군인 H-군에서 소변으로 배설되는 Se량이 크고, 결핍된 L-군에서 소변으로 배설되는 Se량이 적은 것은 Se의 항상성 유지 mechanism에 의한 것으로 사료 된다.

신장과 간장의 Se 수준

간과 신장의 Se의 수준은 Table 5에 나타난 바와 같이 식이 수준에 비례하여 H-군이 유의적으로 가장 높고, L-군이 가장 낮았다. 간장에서 알코올 섭취로 인한 Se의 농도 변화는 알코올을 섭취하지 않은 각군에 비하여 알코올을 섭취한 각군에서 Se농도가 낮은 경향을 보였으나 신장에서는 반대의 결과로 높은 경향을 보였다. 이는 Whanger와 Butler²⁷⁾의 실험에서 흰쥐에게 Se의 수준을 0.2, 1.0, 2.0, 4.0mg/kg diet로 달리하여 주었을 때 간, 신장 등 여러 조직의 Se의 수준이 식이 수준에 비례 하였다는 결과에 일치하고, Aaseth 등²¹⁾과 다른 연구자^{23,28)}는 알코올성 간경변환자의 체내 Se농도 측정결과에서 혈액뿐만 아니라 각 조직에서 Se가 낮은 이유는 Se을 비롯한 무기질 배설을 증가시키기 때문이라 하였다.

간과 심장의 전자현미경 관찰

이와 같이 식이 군들을 달리하여 7주간 사육한 흰쥐의 간과 심장의 조직변화를 전자현미경을 통해 알아 보았다.

Selenium을 정상적으로 섭취한 군

Fig. 1에 나타난 바와 같이 Se을 정상적으로 섭취한 C군에서는 심근세포내 윤곽이 불규칙한 장원형의 핵이 있고 그 주위에 mitochondria, Golgi장치 및 당원 과립이 풍부하였다. 근섬유의 배열은 규칙적이었고, Z-line이 잘 나타났다. 근섬유축 사이에는 sarcomere의 길이와 비슷한 mitochondria가 있었고 그사이에 sar-

coplasmic reticulum과 T-tubule이 있었다.

근섬유 사이의 intercalated disc는 형질막이 뚜렷하였고 desmosome이 잘 발달 되었다. 간질 조직에는 교원 섬유가 많았으며 크기가 다른 모세혈관이 많았다. 모세혈관의 내피세포는 평탄하였고 기저막으로 둘러 싸였다. 기저막 주위는 pericyte가 있었다.

Selenium을 과잉으로 섭취한 군

Se을 과잉으로 섭취한 H-군으로 vitamin E가 부족되며 알코올 섭취군(HLA)에서는 심근 세포내 lysosome이 증가되었고 지방적이 분포 되었으며 간질 조직에 부종이 일어났다 (Fig. 2).

Selenium이 결핍된 군

식이 Se이 결핍되며 정상 vitamin E 및 알코올을 섭

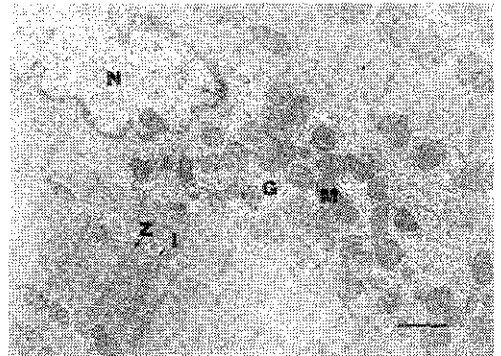


Fig. 1. Myocardium fed control selenium and vitamin E diet. Bar length ; 500nm
M : Mitochondria N : Nucleus
G : Glycogen particles Z : Z band I : I band

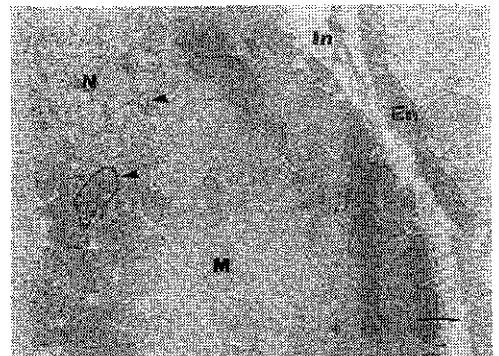


Fig. 2. Myocardium fed high selenium diet with alcohol. Lysosomes (arrow heads) are increased. The interstitium is edematous. Bar length ; 500nm
En : Endothelium in : Interstitium
M : Mitochondria N : Nucleus

Table 5. Selenium content in liver and kidney of rats (ppm/wet g)

Group	Liver	Kidney
HCA	1.27 ± 0.11 ^{1,2cd}	1.71 ± 0.20 ^c
HC	1.46 ± 0.11 ^d	0.97 ± 0.26 ^c
HLA	1.23 ± 0.15 ^d	2.48 ± 0.24 ^c
HL	1.20 ± 0.20 ^d	2.22 ± 0.19 ^{bc}
CCA	0.20 ± 0.02 ^{ab}	1.30 ± 0.14 ^{bc}
CC	0.31 ± 0.04 ^{abc}	0.09 ± 0.18 ^{abcd}
CLA	0.39 ± 0.04 ^{bc}	1.30 ± 0.29 ^{cd}
CL	0.43 ± 0.10 ^c	0.94 ± 0.10 ^{abcd}
LCA	0.07 ± 0.01 ^{ab}	0.48 ± 0.10 ^{ab}
LC	0.12 ± 0.02 ^{ab}	0.53 ± 0.15 ^{abc}
LLA	0.06 ± 0.01 ^a	0.66 ± 0.14 ^{abc}
LL	0.07 ± 0.02 ^{ab}	0.39 ± 0.12 ^a

¹⁾ Mean ± S.E.M.

²⁾ Values within a column not followed by the same letter are significantly different at α=0.05 level by Duncan's multiple test

취한 군인 LCA에서는 심근 세포의 종창이 현저하였고 lysosome이 증가되었으며(Fig. 3) vitamin E가 결핍된 군(LL)은 심근 세포의 종창이 현저하고 lysosome의 증가, 지방적의 출현이 일어났으며 간질 조직의 부종과 간질 모세혈관의 내피 세포 종창도 일어났다(Fig. 4 및 5). Vitamin E 결핍, 알코올 섭취한 LLA군은 심근 세포의 종창, lysosome의 증가, 지방적 출현 그리고 mitochondria의 종창, 간질 조직의 부종, 모세혈관 내피 세포의 심한 종창이 일어났다(Fig. 6 및 7).

Se의 결핍증세는 여러동물에서 각각 다르게 나타났으며^{5,6,19,22,29} 특히 사람의 경우, 지역적 풍토병으로 중국에 사는 10세미만의 어린이와 가임기 여성에게서 심근 경색증(cardiomyopathy)이 동반되는 Keshan disease³⁰가 있음을 발표 하였으며, Vanvleet 등³¹와 Veibovitz 등³²의 연구와 Bell 등²⁹의 연구에서 돼지, 오리, 무지개송어의 Se, vitamin E 결핍시 심근장애, 혈관종창, 미토콘드리아

의 종창, 섬유세포 증식 등이 일어났음을 보고 하면서 이는 GSH-Px의 저하로 과산화물의 증가로 인한 심근 세포의 손상 때문이라고 하였다. 이전의 실험 결과¹⁴에서 식이내 Se이 결핍되고 알코올을 섭취한 군들에서 과산화에 관련된 효소 즉, GSH-Px, glutathione S-transferase, superoxide dismutase, catalase의 활성이 유의적인 차이를 보였던 것으로 미루어 보아 심근의 손상을 가져왔다고 볼 수 있으며 특히 Se과 vitamin E가 결핍된 쥐에서 알코올의 섭취로 더욱 심근 조직의 손상을 가져온것은 Se과 vitamin E의 결핍으로 GSH-Px 등 radical scavenger enzyme들의 활성 변화로 peroxide가 제거되지 않을 뿐만 아니라 oxygen으로 유도된 radical이 제거되지 않았다고 사료 된다.

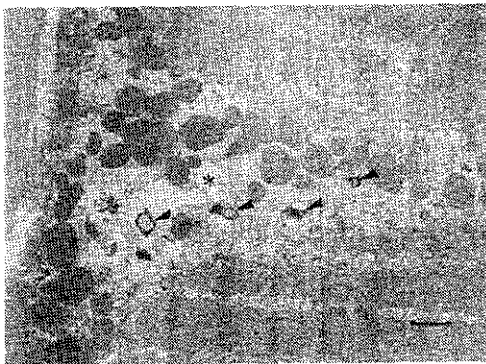


Fig. 3. Myocardium fed low selenium diet with alcohol. Intracellular edema (*) and increase of lysosome (arrow heads) are demonstrated. Bar length ; 500nm

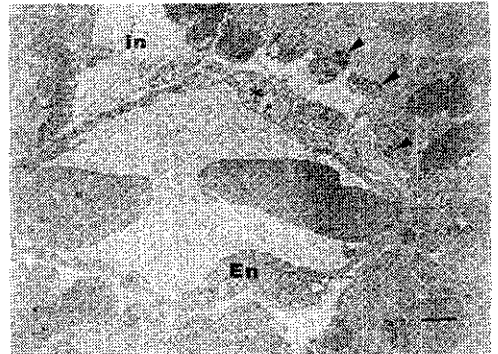


Fig. 5. Myocardium fed low selenium and vitamin E diet. Lysosome(arrow heads) are increased in the cardiomyocyte. Capillary endothelium is swollen (*). Interstitium is edematous. Bar length ; 500nm
In : Interstitium
En : Endoplasmic reticulum, rough-surfaced

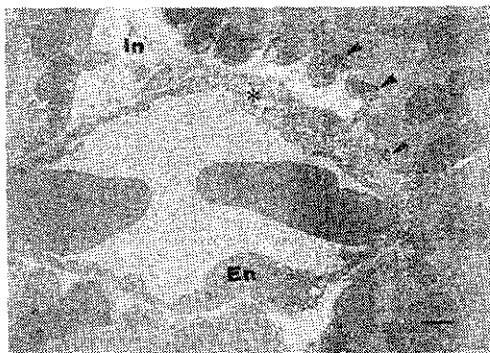


Fig. 4. Myocardium fed low selenium and vitamin E diet. The cardiomyocytes reveal marked intracellular edema (*). Bar length ; 500nm
M : Mitochondria



Fig. 6. Myocardium fed low selenium and vitamin E diet with alcohol. Lysosomes (arrow heads) and fat droplets (small arrows) appear in the cardiomyocytes. Intracellular edema is noted (*). Bar length ; 500nm

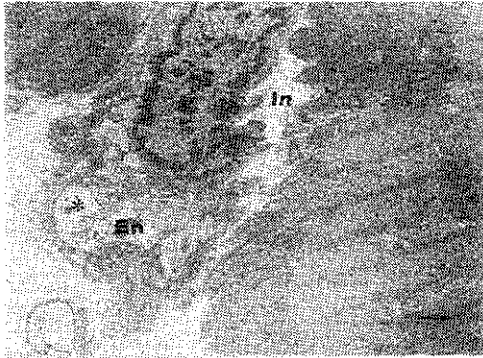


Fig. 7. Myocardium fed low selenium and vitamin E diet with alcohol.
 Capillary endothelium is markedly swollen(*). Interstitium is edematous. Bar length ; 500nm
 En : Endothelium In : Interstitium

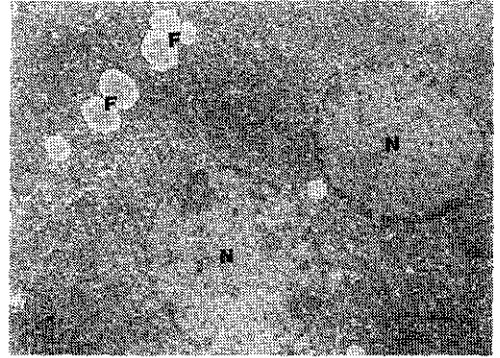


Fig. 10. Liver fed high selenium and low vitamin E diet with alcohol.
 Fat droplets are present in the hepatocytes. Other cell organelles are intact. Bar length ; 500nm
 F : Fat droplet N : Nucleus

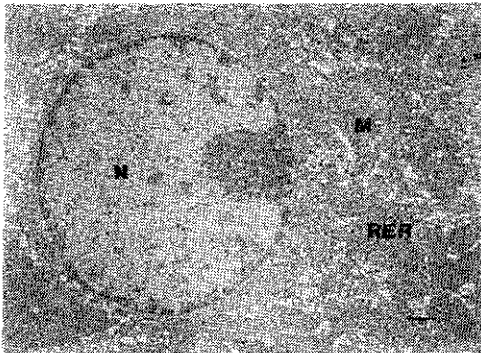


Fig. 8. Liver fed control selenium and vitamin E diet.
 Bar length ; 500nm M : Mitochondria N : Nucleus
 RER : Rough Endoplasmic Reticulum

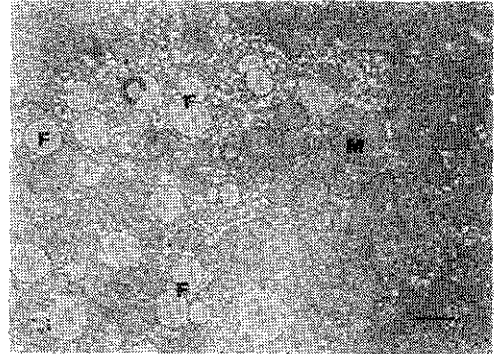


Fig. 11. Liver fed low selenium diet with alcohol.
 Large numbers of fat droplets appear in the hepatocyte. Bar length ; 500nm
 F : Fat droplet M : Mitochondria

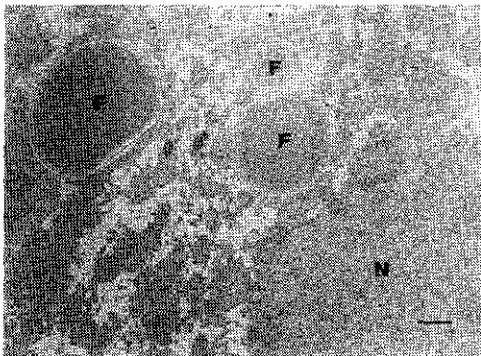


Fig. 9. Liver fed high selenium diet with alcohol.
 Large fat droplets appear in the hepatocyte. Bar length ; 500nm
 F : Fat droplet N : Nucleus

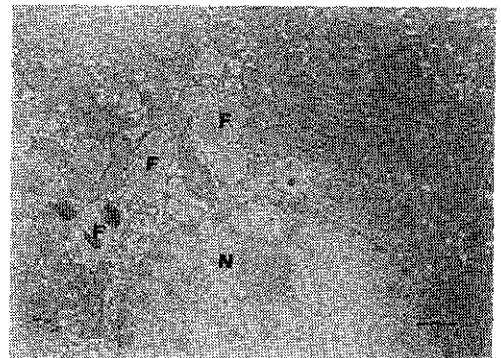


Fig. 12. Liver fed low selenium diet with alcohol.
 Fat droplets are accumulated in the hepatocytes. Bar length ; 500nm
 F : Fat droplet N : Nucleus

간세포의 전자현미경 관찰

Selenium을 정상적으로 섭취한 군

Fig. 8에서 보는바 처럼 간세포의 핵은 둥글고 세포 한가운데 위치하였고 heterochromatin이 핵막에 따라 분포하였다. 세포질내에는 층상의 rough-surfaced endoplasmic reticulum (RER)이 매우 풍부하였고 그 사이에 원형, 혹은 장원형의 mitochondria가 다수 있었다. 그의 Golgi장치, 당원과립, 소량의 SER 및 유리 ribosome이 있었으며 담세관 (bile conaliculus) 주위에 lysosome 및 peroxisome이 분포되었다.

Selenium을 과잉으로 섭취한 군

Se을 과잉으로 섭취하고 vitamin E를 정상적으로 섭취한 HC-군들은 특이한 변화가 없었으나 알코올을 투여한 HCA군과, vitamin E가 결핍된 HLA에서만 지방적이 나타났을뿐 그외의 특기한 이상은 관찰되지 않았다 (Fig. 9 및 10).

Selenium이 결핍된 군

Vitamin E의 결핍, 그리고 알코올 섭취된 LLA군은 lysosome의 많은 증가와 지방적이 많이 증가 되었다 (Fig. 11 및 12). 이는 식이내 vitamin E수준이 낮고 알코올 섭취군에서 간내의 TG 축적이 그대로 반영된 것으로 지방간이 생긴 것으로 사료된다. 지방간은 간 무게에 지방이 5% 이상일 때를 말하며 특히 TG가 증가하는 증상이다. 지방간은 산소의 산화 촉진에 자극을 주는 것으로 과산화물 유발하여 간조직의 손상을 일으킨다. 섭취된 알코올의 90% 이상이 빠른 속도로 간에서 대사되는데 과량의 NADH가 생성되어 2-glycerophosphate농도를 증가시키므로 지방산 합성이 증가되어 간에 중성지방을 축적시켜 지방간을 일으키고 NADH oxidase활성 증대로 H₂O₂의 생성량이 많아져 지질과산화반응이 촉진되므로 본 실험에서 Se이 결핍되고 vitamin E의 결핍, 그리고 알코올을 섭취한 LLA군에서 lysosome의 많은 증가는 식이내 Se와 알코올의 영향으로 지방적의 출현이 왔고 따라서 지방간의 생성으로 인한 조직 손상을 말하는 것이다. Burk 등¹⁰⁾은 흰쥐 실험에서 Se의 결핍으로 오는 간괴사는 지방의 과산화 때문이라고 하였다.

요 약

알코올의 섭취가 Se과 vitamin E 수준을 달리한 흰쥐의 체내 Se 수준 및 심장, 간세포 형태에 미치는 영향을

살펴보기 위하여 평균 체중이 58~62g인 Sprague-Dawley계의 젖을 갖는 수컷 쥐 72마리를 12군으로 나누어 Se의 수준을 식이 kg당 0mg, 0.4mg, 10mg으로 달리하고 vitamin E는 식이 kg당 0mg, 150mg으로 하여 7주간 사육시켰다. 알코올 섭취는 실험시작 3주째부터 ethanol을 급수물에 10% 맞추어 섭취군과 비섭취군으로 나누어서 섭취군에서는 제한없이 먹게 하였다. 얻어진 결과를 요약하면 다음과 같다. 혈액과 소변의 Se의 수준은 식이내 Se 수준의 차이에 따라 유의적인 차이를 보여 식이내 Se수준이 높은 H-군, 정상적으로 섭취한 C-군, 결핍된 L-군의 순으로 높았으며 알코올 섭취군들은 낮은 경향을 보였다. 간장, 신장의 Se의 농도는 식이 Se 수준에 비례하여 H-, C-, L- 순으로 높았으며 알코올섭취로 인한 Se농도의 변화는, 알코올을 섭취한 군들의 Se 농도가 낮은 경향이나 신장에서는 반대로 높은 경향이 있었다. 전자현미경을 통한 관찰에서 심근세포 조직형태의 변화는 식이내 Se수준이 높은 H-군들, Se수준이 낮은 L-군에서 lysosome의 증가 및 지방적 출현, mitochondria의 증창, 특히 모세혈관의 내피세포에 심한 증창이 일어났고, 알코올을 섭취한 군들에도 심근세포의 증창, lysosome의 증가, mitochondria 변화를 보였다. Se을 과잉으로 섭취하고 vitamin E를 정상으로 섭취한군 (HC-)에서는 특이한 변화가 없었으나 알코올을 투여한 HCA군에서 지방적이 나타났다. 특히 Se과 vitamin E이 결핍되고 알코올을 섭취한 LLA군에서는 lysosome의 증가 및 지방적이 많이 증가 하였다.

문 헌

1. Rotruck, J. T., Pope, A. L., Gontter, H. E., Hafeman, D. G. and Hoekstra, W. G. : Selenium : Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, **179**, 588 (1973)
2. Hafemn, D. G. and Hoekstra, W. G. : Lipid peroxidation *in vivo* during vitamin E and selenium deficiency in the rat as monitored by ethane evolution. *J. Nutr.*, **107**, 666 (1977)
3. Tappel, A. L. : Vitamin E as biological lipid antioxidant. *Vit. Horm.*, **20**, 493 (1962)
4. Omaye, S. T. and Tappel, A. L. : Effect of dietary selenium on glutathione peroxidase in the chick. *J. Nutr.*, **104**, 747 (1974)
5. Van Vleet, J. F., Ferrans, V. J. and Ruth., G. R. : Ultrastructural alterations in nutritional cardiomyopathy of selenium vitamin E deficient swine I. *Fiber Lesions Laboratory Investigation*, **37**, 188 (1977)
6. Veibovitz, B., Hu, M. and Tappel, A. L. : Dietary supplements of vitamin E, β -carotene, coenzyme Q₁₀ and selenium protect tissues against lipid peroxidation in

- rat tissue slices. *J. Nutr.*, **120**, 97 (1990)
7. Lieber, C. S. and Decarli, L. M. : Ethanol oxidation by hepatic microsomes—adaptive increase after ethanol feeding. *Science*, **162**, 917 (1968)
 8. Hong, Y. S., Ham, Y. A. and Sung., N. E. : The effect of vitamin A and E on lipid peroxidation in ethanol administered rat liver microsomes. *Ewha Med.*, **7**, 3 (1984)
 9. Dutta, S. K., Miller, P. A., Greenberg, L. B. and Levander, O. A. : Selenium and acute alcoholism. *Am. J. Clin. Nutr.*, **38**, 713 (1983)
 10. Karkkainen, P., Mussaio-Rauhamaa, H., Poikolainen, K. and Lehto, J. : Alcohol intake correlated with serum trace elements. *Alcohol*, **23**, 279 (1988)
 11. Johansson, U., Johansson, F., Joelsson, B., Brglund, M. and Akesson, B. : Selenium status in patients with liver cirrhosis and alcoholism. *Brit. J. Nutr.*, **55**, 227 (1986)
 12. Dutta, S. K., Miller, P. A., Greenberg, L. B. and Levander, O. A. : Selenium and acute alcoholism. *Am. J. Clin. Nutr.*, **38**, 713 (1983)
 13. 김갑순, 김민식, 김두진, 채기수 : 식이내 Se수준과 알콜섭취가 흰쥐의 지질과산화와 지방대사에 미치는 영향. *한국식품영양학회지*, **4**(1), 21 (1991)
 14. 김갑순, 정승용, 김석환 : 식이내 selenium과 vitamin E가 alcohol을 섭취한 흰쥐의 간지질과산화에 관련된 효소의 활성에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **22**(2), 116 (1993)
 15. Saed, K. : Direct electrothermal atomisation atomic absorption spectrometric determination of selenium in whole blood and serum with continuum-source background correction. *J. Anal. Atomic Spect.*, **2**, 151 (1987)
 16. Luft, J. H. : Improvement on epoxyresin embedding method. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, 409 (1961)
 17. Reynolds, E. S. : The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **7**, 208 (1963)
 18. Testolin, G., Ciappellano, S., Lanzola, E. and Allegri, M. : Effect of various dietary selenium intakes on the levels of blood glutathione-peroxidase and selenium in long-term fed rats. *Ann. Nutr. Metab.*, **31**, 304 (1987)
 19. Burk, R. F., Laurence, R. A. and Lane., J. M. : Liver necrosis and lipid peroxidation in the rat as the result of paraquat and diquat administration. *J. Clin. Invest.*, **65**, 1024 (1980)
 20. Mussalo, R. H., Piokolainen, K., Karkkainen-P, P. and Lehto, J. : Decreased serum selenium and magnesium levels in drunkenness. *Arrestees*, **20**, 95 (1987)
 21. Aaseth, J., Thomassen, Y., Alexander, J. and Norheim, G. : Decreased serum selenium in alcoholic cirrhosis. *N. Engl. J. Med.*, **303**, 944 (1980)
 22. Arthur, J. R. : Effect of selenium and vitamin E status on plasma creatine kinase activity in calves. *J. Nutr.*, **118**, 747 (1988)
 23. Burk, R. F., Whitney, R., Frank, H. and Pearson, W. N. : Tissue selenium levels during the development of dietary liver necrosis in rats fed torula yeast diets. *J. Nutr.*, **95**, 420 (1968)
 24. Luo, X. M., Wei, H. J., Yang, C. L., Xing, J., Qiao, C. H., Feng, Y., Liu, J., Liu, Q., Wu, Q., Liu, Y. X., Stoecker, B., Spallholz, J. E. and Yang, S. P. : Selenium intake and metabolic balance of 10 men from a low selenium area of China. *Am. J. Clin. Nutr.*, **42**, 31 (1985)
 25. Levander, O. A., Sutherland, B., Morris, V. C. and King, J. C. : Selenium balance in young men during selenium depletion and repletion. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 2662 (1981)
 26. Levander, O. A. and Morris, V. C. : Dietary selenium levels needed to maintain balance in North American adults consuming self selected diets. *Am. j. Clin. Nutr.*, **39**, 809 (1984)
 27. Whanger, P. D. and Butler, J. : Effect of various dietary levels of selenium as selenite or selenomethionine on tissue selenium levels and glutathione peroxidase activity in rats. *J. Nutr.*, **118**, 846 (1988)
 28. Boyne, R. and Arthur, J. R. : The response of selenium-deficient mice to *Candida albicans* infection. *J. Nutr.*, **116**, 816 (1986)
 29. Bell, J., Pirie., B. J. S., Adron, J. W. and Cowey, C. B. : Some effects of selenium deficiency on glutathione peroxidase activity and tissue pathology in rainbow trout (*Salmo gairdner*). *Br. J. Nutr.*, **55**, 305 (1986)
 30. Keshan Disease Research Group : Observations on effect of sodium selenite in prevention of Keshan disease. *Chin. Med. J.*, **92**, 471 (1979)

(1993년 7월 26일 접수)