

## 식이내 Selenium과 Vitamin E가 Alcohol을 섭취한 흰쥐의 간 지질 과산화에 관련된 효소의 활성에 미치는 영향

김갑순<sup>†</sup> · 정승용\* · 김석환\*\*

경남전문대학 식품영양과

\*경상대학교 식품영양학과

\*\*동아대학교 식품영양학과

## The Effect of Selenium and Vitamin E on Activity of Enzyme Related to the Lipid Peroxidation in Rat with Alcohol Administration

Kap-Soon Kim<sup>†</sup>, Seung-Yong Chung\* and Suk-Whan Kim\*\*

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

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

\*\*Dept. of Food and Nutrition, Donga University, Pusan 604-714, Korea

### Abstract

The purposes of this study were to investigate the effect of selenium (Se) and vitamin E on activity of enzyme relevant to lipid peroxidation in alcohol administrated rats. Seventy two male rats of Sprague-Dawley strain weighing about 58~62g were divided into 12 groups. The dietary Se levels were 0, 0.4 and 10mg and the dietary vitamin E levels were 0 and 150mg per kg diet, respectively. Alcohol-administrated groups received drinking water solution containing 10% of ethanol from the 3-weeks of experimental periods. The obtained experimental results are summarized as follow : The  $\gamma$ -GTP activity in plasma was higher in alcohol administrated groups and high selenium group (HSe) and low selenium group (LSe) than in control groups (CSe). The  $\gamma$ -GOT and GPT activities were higher in alcohol groups. The  $\gamma$ -GTP activity was significantly influenced by alcohol in LSe groups than in other groups. The glutathione peroxidase (GSH-Px) activity of plasma was significantly lower in LSe groups than HSe and CSe groups. The GSH-Px activity of microsomal and cytosolic fraction was slightly lower in alcohol groups and was about a half value lower in HSe and LSe groups than CSe groups. There was negative correlation between plasma Se level and GSH-Px activity of cytosolic fraction in HSe groups ( $r = -0.662, p < 0.001$ ) and positive correlation in LSe groups ( $r = 0.640, p < 0.001$ ). The GSH S-transferase activity in microsomal and cytosolic fraction was slightly higher in alcohol administrated but vitamin E nonadministrated groups, and significantly higher in LSe groups than in other groups. The catalase activity in mitochondria was lower in HSe than CSe groups, but rather higher in LSe groups. The superoxide dismutase (SOD) activity in cytosolic fraction of liver was not found any effect in all groups. The cytochrome P-450 was higher in alcohol groups, but significantly lower in HSe groups. In conclusion, the deficiency of Se and vitamin E develops the hyperoxidation of liver lipid through the increase of activity of enzyme related to the lipid peroxidation and alcohol administration appears to further increase of hyperoxidation of liver lipid.

**Key words** : selenium, vitamin E, alcohol, GSH-Px,  $\gamma$ -GOT, GPT,  $\gamma$ -GTP, GSH S-transferase, catalase, SOD, cytochrome P-450

### 서 론

물질문명의 발달과 경제수준의 향상으로 생활이 윤택해지면서 영양학적으로 불균형의 섭취와 사회의 세

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

분화에 따른 stress로 알코올의 섭취가 증가하고 있는 추세이다. 따라서 알코올의 섭취에 따라 여러가지 영양장애로 성인병을 초래하여 사망의 원인이 되기도 한다.

알코올은 체내 대사과정에서 알코올 그자체와 알코올 대사산물이 간에 작용하여 간조직의 손상을 일으키는데 알코올의 만성적 섭취는 hepatic triglyceride (TG)의 축적으로 지방간을 유도하고<sup>1)</sup> 간 세포의 공역 이중결합(diene conjugation)이 증가하고 collagen이 침착되며<sup>2)</sup> radical scavenger enzyme 활성에 영향을 미치는바, 과량의 NADH가 생성되어 NADH oxidase 활성이 높아져 ·OH와 같은 oxygen radical을 형성하여 지질과 산화를 촉진한다<sup>3)</sup>.

Selenium (Se)의 생리적 기능이 예전에는 독성에만 관심을 가졌으나<sup>4)</sup> 최근에는 여러동물에서 Se이 영양학적으로 중요한 원소임이 증명되었고<sup>5-7)</sup> 인간에게도 필수영양소임이 밝혀졌다<sup>8,9)</sup>. Se은 glutathione peroxidase의 필수구성성분<sup>10)</sup>으로 세포에서 glutathione을 사용하여 lipid hydroperoxide와 같은 organic hydroperoxide와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 H<sub>2</sub>O로 바꿔게하여 free radical 생성을 방지한다<sup>11)</sup>. 또한 vitamin E는 세포막을 구성하고 있는 불포화지방산의 peroxidation의 chain reaction을 방지하여 peroxide의 형성을 저지하는 작용으로<sup>12)</sup> Se과 vitamin E는 서로 도와서 세포에서 내, 외적요인으로 생성되는 free radical의 형성을 방지하고 세포와 세포막의 구성성분의 과산화로부터 방지하여 세포막과 세포를 보호한다<sup>13)</sup>.

만성적 알코올 섭취로 간세포의 지방 증가는 지방의 항산화에 관계하는 Se과 vitamin E의 대사에 영향을 미치며 또한 알코올 그 자체가 산화적 과정에 영향을 미친다면 Se과 vitamin E 결핍의 stress factor로 작용할 수 있지만 알코올 섭취는 식이섭취량의 감소를 초래하여 체중증가 저하로 Se과 vitamin E의 요구량을 감소시켜 항산화대사를 촉진할 수도 있다. 그러므로 본 연구에서는 Se, vitamin E 및 알코올의 생체내에서의 생화학적인 기능과 작용기전을 살펴 보기 위해서 흰쥐를 이용하여 식이내 Se의 수준과 vitamin E의 수준이 알코올을 섭취한 흰쥐의 체내 지질과산화와 이에 관련된 효소의 활성에 미치는 영향을 살펴 보고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 실험동물의 사육

평균체중이 58~62g인 Sprague-Dawley계의 젖뎀 수컷 흰쥐 72 마리를 실험시작하기 전 고형사료로 3일간

Table 1. Classification of experimental animals

Experimental groups <sup>1)</sup>	Dietary Se level (mg/kg diet)	Dietary Vt. E levels (mg/kg diet)	Administration alcohol(10%)
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	-

<sup>1)</sup>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 high 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

사육시켜 환경에 적응시킨뒤 체중에 따라 난피법에 의해 6마리씩 12군으로 나누어 7주간 Table 1에 표시한 내용으로 한마리씩 stainless steel cage (30×30×50cm)에 분리사육하였다. 알코올섭취군은 실험시작 3주부터 급수용 물에 10% ethanol 용액을 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 사용하여였고 물과 식이는 제한없이 먹게 하였다.

#### 실험동물의 식이

실험식이는 Table 2와 같이 쥐의 Se 1일요구량인 식이 kg당 0.4mg을 기준으로 하여 kg당 무첨가(low Se군), 0.4mg(control Se군), 10mg(high Se군)으로 달리 하고 vitamin E도 식이 1kg당 150mg과 무첨가군으로 하였다. 단백질의 급원은 methionine이 제한되고 Se이 적게 함유되어있는 soy protein을 주었고, 당질의 급원으로 sucrose를 주었다. 지방의 급원은 총지방산의

Table 2. Composition of experimental diets

Exp. groups Ingredient	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) <sup>1)</sup>	Ⓐ 40	Ⓐ 40	Ⓐ 40	Ⓐ 40	Ⓑ 40	Ⓑ 40	Ⓑ 40	Ⓑ 40	ⓒ 40	ⓒ 40	ⓒ 40	ⓒ 40
Vt. A, D mixture (ml) <sup>2)</sup>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vt. E, K mixture (ml) <sup>3)</sup>	**	**	*	*	**	**	*	*	**	**	*	*
Water soluble vitamin (g) <sup>4)</sup>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Vitamin B12 (ml) <sup>5)</sup>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ethanol (10%) <sup>6)</sup>	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-

<sup>1)</sup> 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 6H<sub>2</sub>O 0.24g, zinc carbonate 0.064g, cupric carbonate 0.012g, potassium iodate 0.0004g, chromium potassium sulfate 0.0002g, sucrose to make 40.0g, Ⓐ HSe ; 10mg/kg diet Ⓑ CSe ; 0.4mg/kg diet ⓒ LSe ; 0mg/kg diet

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

<sup>3)</sup> Vitamin E, K mixture :  $\alpha$ -tocopherol acetate ( \*\* ; Cto : 150mg/kg diet, \* ; Lto : 0mg/kg diet), menadion 2mg, corn oil 2ml

<sup>4)</sup> 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

<sup>5)</sup> Vitamin B<sub>12</sub> solution : vitamin B<sub>12</sub> 1mg/100ml distilled water

<sup>6)</sup> + : administration of alcohol, - : non-administration of alcohol

60%가 linolenic acid인 들깨기름을 사용하였다. 알코올 투여는 급수용 물에 총열량의 36%에 해당되도록 ethanol을 10% 수준으로 혼합하여 주었다.

#### 혈액 채취

7주 사육 후 12시간을 절식시킨 뒤 ether로 마취시켜 심장채혈법으로 채혈하여 0°C에 약 1시간 방치한 후 3,000rpm에서 15분간 원심분리시켜 혈장을 얻어 냉동(-40°C) 보관 하였다.

#### 효소원의 조제

채혈한 후 간장은 0.9% 생리식염수로 탈혈을 하여 적출한 후 생리식염수로 씻은 다음 여과지로 물기를 제거한 뒤 무게를 측정하였다. 그리고 각 간엽에서 고르게 일정량을 취하여 1g당 0.25M sucrose용액을 5배 가하고 빙냉하면서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 마쇄액은 600×g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취하고 10,000×g에서 20분간 원심 분리하여 mitochondria 분획을 얻었다. 그리고 상층액은 다시 105,000×g에서 1시간 초원심분리하여 cytosolic fraction과 microsomal fraction을 분리하였다.

Mitochondrial fraction과 microsomal fraction은 0.

25M sucrose용액에 현탁시킨 다음 재 원심분리시켜 얻은 침전물을 취하여 소량의 0.25M sucrose용액에 재현탁시킨 뒤 mitochondria fraction은 catalase 활성측정에 사용하였고, microsomal fraction은 glutathione peroxidase, glutathione S-transferase 활성, cytochrome P-450 함량 측정용으로, cytosolic fraction은 glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, superoxide dismutase (SOD) 활성측정에 사용하였다.

#### 효소의 활성 측정

##### $\gamma$ -GTP, GOT 및 GPT 활성 측정

혈장중  $\gamma$ -GTP, GOT 및 GPT의 활성은 시판되고 있는 Kit 시약(아산제약 주식회사)로 측정하였다.

##### Glutathione peroxidase 활성 측정

Paglia와 Valentine의 방법<sup>14)</sup>으로 산화형 glutathione 이 glutathione reductase와 NADPH에 의하여 환원될 때 NADPH의 흡광도가 340nm에서 감소하는 것을 측정하였다.

즉 0.1M Tris HCl (pH 7.2)buffer 2.5ml와 0.04M 환원형 glutathione 75 $\mu$ l를 넣고 6mM NADPH 용액(0.1M Tris buffer NADPH, 5 $\mu$ g/ml) 0.1ml에 0.25mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를

넣은 뒤 25°C에서 5분간 먼저 preincubation 시킨 뒤 여기에 0.1ml의 시료와 glutathione reductase 0.1ml를 혼합하여 25°C에서 5분간 incubation 시킨 뒤 하였다. 효소활성의 1단위는 1분간 1nmol의 산화형 NADPH를 생성하는 효소의 양으로 나타내었다.

Glutathione S-transferase의 활성측정

Habig 등<sup>15)</sup>의 방법에 준해 pH 6.5의 0.1M potassium phosphate buffer 2.8ml와 시료 0.1ml에 0.04M 환원형 glutathione 75 $\mu$ l를 잘 혼합시킨 뒤 25°C에서 5분간 preincubation하여 0.12M 2,4-DNCB (2,4-dinitrochlorobenzene)을 25 $\mu$ l를 넣어 섞은 뒤 25°C에서 2분간 incubation하여 바로 20% TCA 0.2ml를 넣고 원침시켜 나온 상층액을 증류수를 대조로 하여 340nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

효소의 활성단위는 1mg의 단백질이 1분간 반응하여 생성시킨 thioether의 양을 nmoles로 표시하였다.

Catalase의 활성측정

Aebi<sup>16)</sup>의 방법으로 측정하였다. 즉 50mM potassium phosphate buffer (pH 6.8)에 기질인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10.5mM 및 0.1ml 시료를 가하여 3ml가 되게 하고 이것을 25°C에서 30초간 반응시켜 240nm에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 흡광도 변화로 효소활성도를 측정하였다.

효소의 활성은 1분간 1mg의 단백질이 분해시킨 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 량을  $\mu$ moles로 표시하였다.

Superoxide dismutase의 활성측정

알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund<sup>17)</sup>의 방법으로 하였다. 즉, 50mM Tris HCl buffer (10mM EDTA 함유, pH 8.6)에 0.5mM의 pyrogallol에 liver homogenate 0.1ml를 가하여 최종 반응액이 3.0ml가 되도록하였다. 이 반응액을 25°C에서 10분간 반응시킨 다음 1N HCl 0.1ml를 가하여 반응을 종료시키고 440nm에서 흡광도의 변화를 읽고 효소활성을 산정하였다. 효소활성의 unit는 효소액을 넣지 않고 반응시킨 0.5mM pyrogallol용액의 자동산화를 50% 억제하는 단백질 양으로 정하였다.

단백질의 정량

과산화지질 측정에 사용한 시료의 단백질량은 Biuret<sup>18)</sup> 방법으로, 기타의 효소원 시료의 단백질량은 Lowry 등<sup>19)</sup>의 방법으로 정량하여 효소 활성 산정에 이용하였으며 bovine serum albumin (Sigma)을 표준품으로 사용하였다.

Cytochrome P-450 정량

Cytochrome P-450 함량측정은 Omura와 Sato<sup>20)</sup>의 방법에 의해서 시험관에 microsomal suspension 5ml를 넣고 19K needle를 통해 1분간 CO<sub>2</sub> gas를 bubbling 시킨 후 환원제로 sodium dithionite (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) 30mg을 넣고 잘 혼합한 다음 1분간 더 bubbling 시킨 후 400~500nm에서 microsomal suspension에 sodium dithionite만을 가한 reduced microsomal suspension과 CO bound microsome 간의 difference spectrum을 그렸다.

450~490nm에서 흡광도의 차이를 cytochrome P-450 CO<sub>2</sub> complex에 의한 흡광량으로 하고 Omura와 Sato<sup>20)</sup>에 의한 cytochrome P-450 complex의 mole 흡광계수 91mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>을 이용하여 cytochrome P-450 양을 계산하였다.

Microsomal cytochrome P-450의 양은 단백질 1mg 당 moles로 표시하였다.

통계처리

모든 실험 결과는 실험군당 평균치와 표준오차를 계산하였고  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple test와 T-test로 각 실험군 평균치간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

혈장 중의  $\gamma$ -GTP, GOT, GPT

혈장중의  $\gamma$ -GTP, GOT, GPT활성 측정 결과는 Table 3과 같다. 혈장의  $\gamma$ -GTP는 알코올 섭취군에서 유의적으로 높았으며, 식이내 Se과 vitamin E가 동시에 결핍된 LL-군에서 알코올 섭취에 더욱 민감한 반응을 나타냈다. 그러나 정상적인 Se수준을 유지한 CSe군에서는 알코올이  $\gamma$ -GTP활성에 미치는 영향은 HSe군과 LSe군에서 보다는 덜 예민한 반응을 보였다. 이와같은 현상은 Se과 vitamin E 결핍시 과산화물의 증가와 증가된 GSH를 분해하기 위해서 GSH 분해 효소<sup>21)</sup>인  $\gamma$ -GTP가 증가 되었다고 사료되며 또 Se과 vitamin E 결핍으로 과산화물의 증가로 인한 세포막의 손상으로 간에서 혈액으로  $\gamma$ -GTP가 흘러 들어왔다고도 볼 수 있다.

혈장중의 GOT 활성은 LLA군과 LL군간의 유의적인 차이를 보였으나 다른 군에서는 유의성이 없었다. 그러나 각군에서 알코올섭취군에서 약간 높은 경향이나 유의적은 아니었다. Se과 vitamin E가 동시에 결핍시 알코올섭취로 GOT가 증가된 것은 Se과 vitamin E 결핍에서 일어나는 간손상<sup>2)</sup>에 알코올이 더욱 간기능의

Table 3. Activities of  $\gamma$ -GTP, GOT and GPT in plasma of rats

Group	$\gamma$ -GTP ( $\mu$ u/ml)	GOT (karmen/ml)	GPT (karmen/ml)
HCA	26.10 $\pm$ 1.51 <sup>1) de2)</sup>	110.58 $\pm$ 7.49 <sup>bc</sup>	40.08 $\pm$ 4.65 <sup>ab</sup>
HC	14.85 $\pm$ 1.65 <sup>abc</sup>	101.27 $\pm$ 7.18 <sup>abc</sup>	37.03 $\pm$ 1.92 <sup>ab</sup>
HLA	41.87 $\pm$ 3.99 <sup>f</sup>	112.97 $\pm$ 3.42 <sup>bc</sup>	36.55 $\pm$ 3.00 <sup>ab</sup>
HL	11.69 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	97.20 $\pm$ 2.54 <sup>abc</sup>	35.42 $\pm$ 4.24 <sup>ab</sup>
CCA	18.13 $\pm$ 0.46 <sup>abcd</sup>	111.37 $\pm$ 7.43 <sup>bc</sup>	31.05 $\pm$ 3.79 <sup>a</sup>
CC	13.13 $\pm$ 1.58 <sup>ab</sup>	92.41 $\pm$ 6.50 <sup>ab</sup>	29.60 $\pm$ 1.51 <sup>a</sup>
CLA	27.75 $\pm$ 3.55 <sup>de</sup>	114.02 $\pm$ 7.98 <sup>bc</sup>	39.32 $\pm$ 3.04 <sup>ab</sup>
CL	20.79 $\pm$ 3.28 <sup>bode</sup>	97.03 $\pm$ 3.15 <sup>abc</sup>	29.68 $\pm$ 1.70 <sup>a</sup>
LCA	49.06 $\pm$ 3.71 <sup>fg</sup>	111.38 $\pm$ 10.38 <sup>bc</sup>	46.92 $\pm$ 4.91 <sup>b</sup>
LC	13.63 $\pm$ 1.17 <sup>ab</sup>	99.67 $\pm$ 5.97 <sup>abc</sup>	36.70 $\pm$ 5.15 <sup>ab</sup>
LLA	52.10 $\pm$ 4.20 <sup>g</sup>	116.65 $\pm$ 9.07 <sup>c</sup>	45.63 $\pm$ 2.89 <sup>b</sup>
LL	21.77 $\pm$ 1.45 <sup>cde</sup>	88.10 $\pm$ 3.25 <sup>a</sup>	39.32 $\pm$ 3.04 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup> Mean  $\pm$  S.E.M.

<sup>2)</sup> Values with column not followed by the same letter are significantly different at  $\alpha = 0.05$  level by Duncan's multiple test

손상을 더욱 초래한다는 것을 알 수 있다.

혈장 중의 GPT 활성은 알코올을 섭취한 군에서 약간 높은 경향을 보였으나 유의적은 아니었고 식이 vitamin E의 영향도 유의성이 없었다. 그러나 식이내 Se이 결핍된 상태에서 알코올섭취는 GPT의 유의적인 증가를 가져왔고, Se이 과잉상태에서도 알코올섭취가 GPT를 증가 시키기는 하였으나 유의적인 차이는 나타내지 않았다. 이는 Yamada 등<sup>21)</sup>이 흰쥐에게 에너지의 36%를 ethanol로 된 liquid diet를 주었을 때 serum  $\gamma$ -GTP가 올라간다는 보고와 일치하며, Se과 vitamin E가 결핍된 닭의 혈청 GOT, GPT가 올라간다는 보고<sup>22)</sup>, 어린이에게 비경구적으로 영양을 공급시 Se의 결핍 증상을 보였을 때 GOT, GPT가 증가하였다는 보고<sup>23)</sup> 및 Se이 결핍된 쥐에게 diquat의 투여시 GPT가 높았다는<sup>24)</sup> 보고와도 일치한다. 이상의 결과는 알코올 섭취 및 Se의 과잉 또는 결핍, vitamin E의 결핍 등은  $\gamma$ -GTP, GOT, GPT를 증가 시키며 이것은 곧 간 기능의 손상을 나타내는 것이다.

#### 혈장과 간 microsome 및 cytosol fraction 중의 GSH-Px activity

혈장과 간 microsome 및 cytosol fraction 중의 GSH-Px 활성은 Table 4와 같다. 혈장 중의 GSH-Px 활성은 알코올 섭취시 Se을 과잉으로 섭취한 HSe군에서는 GSH-Px의 활성을 감소시키는 경향이었으나 정상으로 섭취한 CSe군과 결핍된 LSe군에서는 오히려 증가시키는 경향이었고, Se 결핍군인 LSe군은 다른군에 비해서 유의적으로 낮았다.

Se이 결핍된 LSe군이 다른군보다 GSH-Px 활성이

유의적으로 낮은 것은 GSH-Px의 필수 구성 성분인 Se의 영양 때문이라고 생각된다.

Se이 GSH-Px의 필수구성성분으로 밝혀진 이후<sup>10)</sup>, Se의 영양상태와 bioavailability를 알아보는 척도로 혈액 중의 GSH-Px 활성을 측정해왔다. 사람의 경우에도 정상적인 사람에게 매일 Se과 vitamin E를 200 $\mu$ g, 170mg으로 동시에 4주간 주었을 때 plasma GSH-Px 활성이 유의적으로 높았다는 보고<sup>25)</sup>로 미루어 보아 식이 Se 농도와 혈장 GSH-Px와 상관관계가 있음을 알 수 있다.

간 microsome 및 cytosol fraction 중의 GSH-Px 활성은 알코올섭취군에서는 비섭취군과 유의성은 없으나 약간 낮은 값을 나타내는 경향이며, 알코올의 섭취시 HSe, LSe군에서는 CSe군에 비해서 GSH-Px 활성이 더욱 감소되었다.

그리고 식이 1kg당 Se을 10mg을 섭취한 HSe군과 0mg을 섭취한 LSe군에서는 0.4mg을 섭취한 CSe군에서 보다 GSH-Px가 microsome, cytosol fraction에서 각각 2배의 낮은 값을 보였다. Vitamin E 결핍시에 CSe군을 제외한 HSe군과 LSe군에서 GSH-Px를 감소시키는 양상을 보였다. 이것은 HSe군과 LSe군에서 vitamin E의 수준이 Se의 체내대사에 영향을 준다는 것을 알 수 있고, 알코올섭취는 HSe군과 LSe군에서 GSH-Px 활성이 더욱 예민하게 반응을 보인 것으로 보이며 HSe군과 LSe군에서 Se 수준은 GSH-Px에 큰 영향을 미친다는 것을 알 수 있다.

대부분의 동물에서 Se의 일일요구량은 0.5mg/kg diet 정도<sup>7)</sup>이고 그 이하가 되면 체내 GSH-Px의 활성이 현저히 떨어지고<sup>26-28)</sup> 5mg/kg 이상일 때 독성 증상이

**Table 4. Glutathione peroxidase activity of plasma, hepatic microsomal and cytosolic fraction in rats**

(nmol NADPH/mg protein/min)

Group	Plasma	Microsomal fraction	Cytosolic fraction
HCA	2.76 ± 0.26 <sup>1) b2)</sup>	6.16 ± 0.84 <sup>a</sup>	23.81 ± 3.60 <sup>ab</sup>
HC	2.77 ± 0.27 <sup>b</sup>	6.21 ± 0.86 <sup>a</sup>	30.38 ± 4.00 <sup>b</sup>
HLA	2.54 ± 0.31 <sup>b</sup>	6.08 ± 0.79 <sup>a</sup>	23.21 ± 2.43 <sup>ab</sup>
HL	2.84 ± 0.25 <sup>b</sup>	6.15 ± 1.07 <sup>a</sup>	32.79 ± 2.45 <sup>b</sup>
CCA	2.64 ± 0.16 <sup>b</sup>	13.95 ± 0.86 <sup>b</sup>	50.42 ± 3.61 <sup>c</sup>
CC	2.52 ± 0.21 <sup>b</sup>	13.52 ± 1.45 <sup>b</sup>	51.54 ± 2.95 <sup>c</sup>
CLA	3.14 ± 0.24 <sup>b</sup>	13.14 ± 1.47 <sup>b</sup>	50.60 ± 2.84 <sup>c</sup>
CL	2.56 ± 0.36 <sup>b</sup>	14.47 ± 1.36 <sup>b</sup>	50.82 ± 3.75 <sup>c</sup>
LCA	1.80 ± 0.08 <sup>a</sup>	6.70 ± 0.98 <sup>a</sup>	19.52 ± 2.64 <sup>a</sup>
LC	1.67 ± 0.14 <sup>a</sup>	7.59 ± 0.66 <sup>a</sup>	27.54 ± 3.94 <sup>ab</sup>
LLA	1.81 ± 0.07 <sup>a</sup>	6.36 ± 0.92 <sup>a</sup>	27.39 ± 3.14 <sup>ab</sup>
LL	1.57 ± 0.13 <sup>a</sup>	7.36 ± 0.67 <sup>a</sup>	30.98 ± 3.71 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Mean ± S.E.M.

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

뚜렷하여<sup>29)</sup> GSH-Px의 활성이 떨어진다. 본 실험에서도 HSe군들은 10mg Se/kg diet를 섭취하였으며 LSe군들은 0mg Se/kg diet를 섭취하였으므로 CSe군에 비해서 2배정도로 감소한 것으로 생각된다. 따라서 곧 체내 GSH-Px는 식이 Se수준에 달려 있다는 것을 명확히 알 수 있다. 또한 혈장과 간의 GSH-Px의 활성을 비교해 볼 때 Se 수준의 영향이 간에 더 크게 작용을 한다고 하였는데 이것은 각 조직에 존재하는 GSH-Px가 식이 Se에 대한 민감도가 다르다는 것을 말해 준다<sup>27)</sup>.

Burk 등<sup>24)</sup>과 Cohen<sup>30)</sup>는 각 조직별 GSH-Px 특성을 관찰하기 위해서 GSH-Px chromatographic 특성을 관찰한 결과 plasma GSH-Px는 단순히 간에서 plasma로 유입되어지는 hepatic GSH-Px가 아니라 plasma GSH-Px는 혈액에서만 작용성을 갖는 효소이며, 사람의 plasma GSH-Px subunit는 적혈구의 GSH-Px subunit보다 크다는 보고<sup>30)</sup>는, 각조직의 GSH-Px가 서로 다른 GSH-Px임을 말해주는 것으로 본 실험에서는 비록 혈장 GSH-Px와 간 GSH-Px의 chromatographic 특성은 관찰하지 않았지만 식이 Se에 대한 민감도가 혈장과 간에서 다르다는 것을 볼 때 알 수 있다. 따라서 본 실험에서 Se의 결핍과 과잉섭취에 대한 GSH-Px변화가 조직과 부위에 따라 각각 차이가 있는데 간에서 많은 영향을 받은 것을 볼 때 간에서 Se, vitamin E, 알코올의 대사가 일어난다는 것이 증명되며 또한 Se의 과잉과 결핍시 거기에 알코올의 섭취는 다른 조직 보다 간 조직에 손상을 받기 쉽다는 것을 알 수 있다는 것을 전자 현미경으로 관찰한 결과로 알 수 있었다.

α-Tocopherol에 대한 GSH-Px 변화는 Chow 등<sup>31)</sup>의 실험에서처럼 본 실험도 같은 결과를 보였는데 흰쥐에

계 15.7% corn oil에 α-tocopherol이 전혀 들어있지 않은 식이를 흰쥐에게 투여한 결과 간, 폐, 신장의 GSH-Px에 유의적인 변화는 없으나, Se이 결핍되었을 때는 약간 감소한다는 결과와 본 실험에서도 Se이 정상적이며 vitamin E가 결핍된 CL-군의 GSH-Px가 변화가 없지만 Se이 결핍되며 vitamin E가 결핍된 LL-군의 GSH-Px가 낮았다는 것은 곧 vitamin E 단독으로 GSH-Px에 작용을 하는 것 보다 Se이 결핍되었을 때 더욱 악영향으로 GSH-Px 활성은 낮추었다고 사료되며 이는 식이내 vitamin E 첨가는 plasma에서 Se 효력을 더 강화시킨다는 보고<sup>3)</sup>에서도 알 수 있다.

본 실험에서 알코올의 섭취로 HSe군과 LSe군에서 GSH-Px활성이 CSe군에 비해서 GSH-Px의 감소가 더욱 많이 되었다는 것은 알코올의 섭취가 Se과 vitamin E의 결핍에 의한 산화에 촉진인자라고 사료된다.

섭취된 알코올은 위와 소장에서 흡수되고 흡수된 90% 이상이 빠른 속도로 간에서 대사된다<sup>32)</sup>. 이 때 alcohol dehydrogenase (ADH)에 의해서 알코올을 acetaldehyde로 전환시키는 것을 촉진하며 NAD<sup>+</sup>를 NADH + H<sup>+</sup>인 환원 형태로 이루어 과량의 NADH가 생성되어 지방산 합성은 증가하여 간에 축적되어 fatty liver를 일으킨다<sup>3)</sup>. 이것은 본 실험에서 알코올섭취시에 간에 total lipid, TG가 축적되었다는 것을 증명해주는 것이다. 따라서 알코올로 인한 간의 TG와 total lipid의 증가는 지질과산화를 일으킬수 있는 기회를 제공하는 것이며 여기에 Se과 vitamin E가 결핍되었을 때는 지질과산화의 방지를 할 수 없으므로 알코올섭취로 인한 간 TG와 lipid는 지질과산화를 촉진하는 결과로 GSH-Px활성에 더욱 영향을 주게 된다고 사료된다. 그러므로 Se,

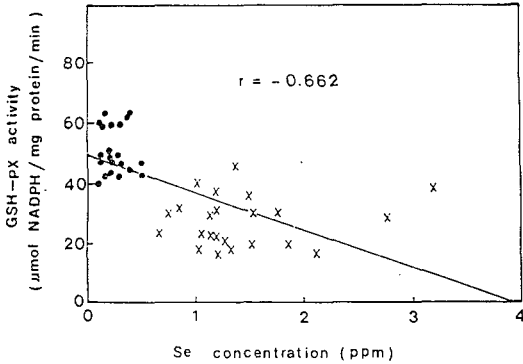


Fig. 1. Relationship between blood Se levels and GSH-Px in rat liver cytosolic fraction with 10mg Se/kg diet(X) and 0.4mg Se/kg diet(●) ( $r = -0.662, p < 0.001$ ).

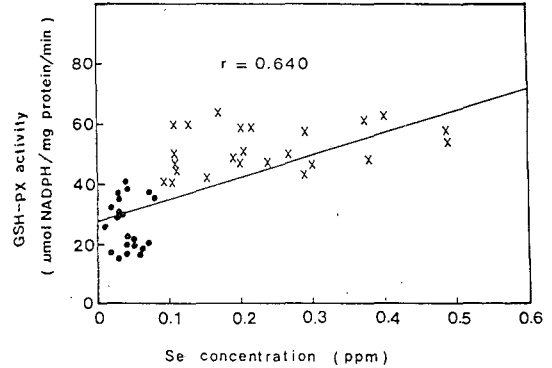


Fig. 2. Relationship between blood Se levels and GSH-Px in rat liver cytosolic fraction with 0mg Se/kg diet(●) and 0.4mg Se/kg diet(X) ( $r = 0.640, p < 0.001$ ).

vitamin E의 결핍이 동시에 되었을 때 알코올의 섭취는 간에 더욱 많은 손상을 초래할 것으로 본다.

Zidenberg-Cherr 등<sup>33)</sup>이 돼지에게 체중 kg당 4g의 ethanol(총에너지의 60%)를 11개월 주었을 때 GSH-Px가 유의적으로 낮았다는 보고에서도 본 실험에서 나온 결과를 잘 뒷받침해주고 있다.

또한 본 실험에서 식이 Se의 수준과 vitamin E 수준 그리고 알코올섭취로 혈액내 Se수준과 간 cytosol GSH-Px activity가 서로 상관관계를 갖고 유의적인 차이를 보였다. Fig. 1에 나타난바 처럼 Se을 과잉으로 섭취하고 vitamin E가 결핍되며 알코올을 섭취한 HLA군의 혈장내 Se의 수준과 cytosol fraction의 GSH-Px와의 상관관계는 negative correlation( $r = -0.662$ )을 보였고, Fig. 2에서 보는바 처럼 Se, vitamin E의 결핍 및 알코올을 섭취한 LLA의 혈장 Se과 GSH-Px의 상관관계는 positive correlation( $r = 0.640$ )을 나타냈다. 이것은 곧 식이 Se이 과잉과 결핍시 혈액내 Se의 수준이 다르며 이것은 곧 간 GSH-Px에 영향을 준다는 것을 알 수 있다.

이상의 결과로 볼 때 알코올 섭취는 간에 TG, total lipid의 축적을 초래하여 hydroperoxide를 증가시켜 증가된 hydroperoxide를 분해시키는 GSH-Px에 영향을 미치는데, 간은 Se과 vitamin E 뿐만 아니라 다른 영양소들의 저장기관일 뿐만 아니라 모든 대사가 활발한 곳으로 알코올에 의한 간손상은 Se, vitamin E와 같은 영양손실을 일으키며 따라서 간 GSH의 turn over를 가속화시켜서 간 GSH량에 변화를 주며 GSH-Px의 activity의 저하효과를 가져왔고 Se과 vitamin E의 동시 결핍시에 알코올의 섭취는 더욱 GSH-Px의 활성을 낮추었다고 볼 수 있다.  $\alpha$ -Tocopherol은 microsome phospholipid의 과산화를 일으키는 효소의 활성을 저하시

키므로<sup>34)</sup> GSH-Px활성에도 관여한다고 볼 수 있다. 그러나 Chow 등<sup>31)</sup>은 15.7% corn oil에  $\alpha$ -tocopherol이 전혀 들어있지 않는 식이를 흰쥐에게 투여한 결과 간, 폐, 신장의 GSH-Px에는 변화가 없었다고 보고하였다. 본 실험에서도 식이내 vitamin E의 영향으로 유의적인 차이가 없었다.

#### 간 microsome 및 cytosol fraction중의 glutathione S-transferase activity

간 microsome GSH S-transferase의 활성은 Table 5에 나타난 바와 같이 Se이 결핍된 LSe군이 유의적으로 높았고, 정상적인 CSe군에 비해서 과잉으로 섭취한 HSe군이 유의적으로 낮았다. 식이 vitamin E의 결핍은 CSe군에서 GSH S-transferase 활성을 유의적으로 증가시켰고 HSe군과 LSe군에서는 증가시키는 경향은 있으나 유의성은 없었다.

알코올의 섭취는 식이 vitamin E, Se의 수준이 다른 각군에서 GSH S-transferase를 증가시키는 경향을 보였으며 CLA군에서는 유의적으로 차이를 보였다.

Cytosolic fraction에서 GSH S-transferase활성은 LSe, CSe, HSe군 순으로 높았으며 vitamin E의 결핍은 microsome fraction에서 처럼 GSH S-transferase의 활성을 증가시키는 경향이 있었다. 또한 알코올섭취시에 HSe, CSe, LSe군 모두에서 증가시키는 양상을 나타냈으며 Se과 vitamin E가 결핍된 LL-군에서 알코올섭취로 GSH S-transferase 활성은 더욱 높아 유의적으로 가장 높았다. 이상의 결과를 관찰해 볼 때, 체내 Se의 과잉과 결핍은 GSH S-transferase의 활성에 영향을 미친다는 것을 알 수 있고, 또한 vitamin E의 결핍은 같은 결과를 초래하며 알코올의 섭취 역시 GSH S-transferase

**Table 5. Glutathione S-transferase activity of hepatic microsomal and cytosolic fraction in rats**  
(nmoles/mg protein/min)

Group	Microsomal fraction	Cytosolic fraction
HCA	121.25 ± 7.88 <sup>1),2)</sup>	409.26 ± 46.37 <sup>ab</sup>
HC	111.77 ± 5.97 <sup>a</sup>	360.39 ± 57.47 <sup>a</sup>
HLA	132.45 ± 15.10 <sup>b</sup>	435.87 ± 54.92 <sup>ab</sup>
HL	121.01 ± 7.22 <sup>a</sup>	372.35 ± 48.39 <sup>a</sup>
CCA	155.60 ± 12.33 <sup>ab</sup>	498.71 ± 103.06 <sup>ab</sup>
CC	136.79 ± 8.93 <sup>a</sup>	483.50 ± 43.66 <sup>ab</sup>
CLA	250.47 ± 15.04 <sup>cd</sup>	507.43 ± 33.24 <sup>ab</sup>
CL	206.47 ± 21.69 <sup>b</sup>	468.69 ± 75.90 <sup>ab</sup>
LCA	251.86 ± 25.14 <sup>cd</sup>	571.08 ± 83.41 <sup>ab</sup>
LC	247.11 ± 19.77 <sup>c</sup>	529.86 ± 58.45 <sup>ab</sup>
LLA	289.22 ± 27.09 <sup>d</sup>	598.05 ± 51.71 <sup>b</sup>
LL	281.16 ± 39.23 <sup>d</sup>	564.94 ± 82.81 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup> Mean ± S.E.M.  
<sup>2)</sup> Values within a column not followed by the same letter are significantly different at α=0.05 level by Duncan's multiple test

의 활성을 증가시킨다. 즉 GSH S-transferase는 GSH를 사용해서 -SH기와 독성물질의 친전자체와 결합하는 것을 촉매하여 독성을 해독시키는 것<sup>35)</sup>으로 본 실험에서 Se결핍, vitamin E결핍, 알코올의 섭취는 지질과산화의 촉진, 그리고 GSH-Px의 활성 저하 등으로 지질과산화의 방지가 되지 않으므로 생성된 free radical의 독성 물질을 제거하기 위해서 GSH S-transferase의 활성이 증가된 것으로 보이며, 본 실험의 HSe군의 GSH S-transferase의 활성 저하는 Se의 과잉에서 오는 중독증상으로 간손상과 GSH S-transferase 자체 부터 손상을 받은 것이 아닌가 생각된다. 이것은 Kim 등<sup>36)</sup>이 *in vivo* 실험에서 사람의 적혈구에 Se을 과잉으로 첨가시에 GSH S-transferase 활성이 오히려 떨어졌다는 것과 일치하는 것이다. GSH S-transferase의 활성이 식이 Se 수준에 따른 차이의 영향이 GSH-Px 보다 덜 예민한 것을 볼 수 있는데 이것은 Se과 vitamin E의 결핍시 GSH에 의존하는 산화효소들에 미치는 영향이 각각 다르다<sup>27)</sup>는 것을 알 수 있고 그중에서 GSH-Px가 가장 예민한 것을 본 실험을 통해서 알 수 있다.

간 mitochondria의 catalase activity

간 mitochondria의 catalase 활성은 Table 6에 나타난바와 같이 Se을 과잉으로 섭취한 HSe군은 정상적으로 섭취시킨 CSe군 보다 낮은 경향이었으나 Se을 결핍시킨 LSe군은 오히려 높은 경향을 나타내었다.

알코올섭취가 catalase 활성에 미치는 영향은 일정치 않았다. Se을 과잉으로 섭취한 HSe군에서는 vitam-

**Table 6. Catalase, SOD activity of liver mitochondrial fraction and cytosolic fraction in rat**  
(nmoles/mg protein/min)

Group	Mitochondrial catalase (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> decreased μmoles/mg protein/min)	Cytosomal SOD (unit/mg protein*)
HCA	1.59 ± 0.22 <sup>1),2)</sup>	7.16 ± 0.10 <sup>abc</sup>
HC	2.10 ± 0.15 <sup>abcd</sup>	7.14 ± 0.17 <sup>abc</sup>
HLA	1.73 ± 0.33 <sup>ab</sup>	6.76 ± 0.18 <sup>a</sup>
HL	1.83 ± 0.27 <sup>abc</sup>	7.04 ± 0.18 <sup>abc</sup>
CCA	2.35 ± 0.29 <sup>bcde</sup>	7.46 ± 0.05 <sup>bc</sup>
CC	2.45 ± 0.08 <sup>cde</sup>	7.32 ± 0.91 <sup>bc</sup>
CLA	2.58 ± 0.16 <sup>de</sup>	7.18 ± 0.13 <sup>abc</sup>
CL	2.17 ± 0.10 <sup>abcd</sup>	7.20 ± 0.14 <sup>abc</sup>
LCA	2.77 ± 0.10 <sup>de</sup>	7.32 ± 0.15 <sup>bc</sup>
LC	2.98 ± 0.04 <sup>e</sup>	6.98 ± 0.14 <sup>ab</sup>
LLA	2.65 ± 0.16 <sup>de</sup>	7.48 ± 0.16 <sup>bc</sup>
LL	2.52 ± 0.19 <sup>de</sup>	7.54 ± 0.19 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup> Mean ± S.E.M.  
<sup>2)</sup> Values within a column not followed by the same letter are significantly different at α=0.05 level by Duncan's multiple test  
\*Unit : 1 unit of superoxide dismutase activity was defined as the which inhibited the oxidation of pyrogallol by 50%

in E 수준에 관계없이 낮은 경향이었으나 CSe군과 LSe군에서는 vitamin E가 결핍되었을 때에는 알코올의 섭취가 catalase 활성을 증가시켰으나 vitamin E가 정상적인 수준일 때는 오히려 감소시켰다.

Se의 결핍시 catalase 활성에 미치는 영향에 대한 규명은 확실치가 않다. 그렇지만 catalase는 체내에서 지방의 자동산화 및 유기물의 산화로 생긴 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 GSH-Px와 함께 catalase가 분해하므로<sup>37)</sup> Se 결핍으로 GSH-Px peroxidase의 저하는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 체내에 축적을 가중시켜, catalase의 활성에 영향을 준다. 즉, Se의 결핍은 catalase의 활성을 촉진하게 될 것으로 사료된다.

본 실험에서도 Se이 결핍되었을 때 catalase 활성이 증가된 것도 이런 이유로부터 보며 Se의 과잉시 catalase의 활성이 떨어진 것은 Se의 과잉으로 인한 독성으로 catalase에 직접 영향을 미쳐 활성이 떨어진 것으로 사료된다.

간 cytosol fraction 중의 SOD activity

Table 6에서 보는 바와 같이 간 cytosol fraction 중의 SOD 활성은 Se과 vitamin E가 결핍되며 알코올을 섭취한 LLA군에서 유의적으로 높았고 Se이 과잉되며 vitamin E가 결핍되며 알코올을 섭취한 HLA가 가장 낮았다.

또한 알코올의 섭취영향은 Se이 결핍된 LSe군에서



만 알코올섭취로 높은 경향이였다. 이것은 Se과 vitamin E는 cellular antioxidant system에 필수인자로서 생체의 내적·외적 요인에 의해 생긴 독성이 강한 free radical과 peroxide를 안정화 시키는데 관여<sup>11,36)</sup>하며 Se과 vitamin E가 결핍되면 과산화반응이 일어나 세포손상을 가져오는데 SOD가 superoxide radical(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)를 H<sup>+</sup>와 결합하여 환원시켜 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 바꾸게 되고 여기서 생긴 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 Se을 필수인자로 하는 GSH-Px와 catalase가 작용하여 H<sub>2</sub>O로 변화시켜 세포의 산소독을 줄이지만<sup>39)</sup> 그러나 LLA군에서 SOD가 가장 높은 것은 비록 본 실험에서는 ·O<sub>2</sub><sup>-</sup>를 측정하지 않았으나 Se, vitamin E의 결핍으로 생성된 ·O<sub>2</sub><sup>-</sup>와 알코올섭취로 증가된 ·O<sub>2</sub><sup>-</sup>가 더해져서 이것을 제거하기 위해서 더욱 SOD 활성이 높아진 것이 아닌가 생각된다.

#### 간의 cytochrome P-450 수준

간의 cytochrome P-450 수준은 Table 7에서 보는바와 같이 Se을 정상적으로 섭취한 CSe군, 결핍된 LSe군, 과잉된 HSe군의 순으로 높았다. 그리고 vitamin E의 비섭취군은 섭취군 보다 낮은 경향이였다. 또한 알코올을 섭취하였을 때 HSe와 CSe군에서는 감소하는 경향이었고 LSe군에서는 약간 증가하는 경향이였으나 거의 변화가 없었다.

이상의 결과는 HSe군은 Se의 과잉으로 인한 독성으로 P-450의 수준이 떨어져서, 정상적으로 섭취한 CSe군보다 낮았다고 사료되며, LSe군이 CSe군보다 다소 낮은 것은 Van Rij 등<sup>40)</sup>이 lipid peroxidation 생성은 환

위의 간조직 microsome P-450을 감소시킨다는 보고처럼, Se과 vitamin E 결핍시 지질의 과산화 증진으로 cytochrome P-450의 감소가 일어났다고 사료된다.

#### 요 약

본 실험은 식이내 Se와 vitamin E 수준이 알코올을 섭취한 흰쥐의 간 지질과산화에 관련된 효소의 활성에 미치는 영향을 살펴 보고자 한 것이다. 이를 위해 평균 체중이 58~62g인 Sprague-Dawley계의 숫쥐 72마리를 Se의 투여량 (0mg, 0.4mg, 10mg/kg diet)과 vitamin E 투여량 (0mg, 150mg/kg diet) 및 알코올 섭취 여부에 따라 12군으로 구분하여 7주간 사육 하였다. 알코올 섭취는 사육 3주째부터 급수용 물에 10%로 맞추어 투여하여 제한 없이 먹게 하였다. 혈장중의  $\gamma$ -GTP합성은 알코올 섭취군이 비섭취군 보다 높았고, Se의 과잉(HSe) 및 결핍된군(LSe)이 정상군(CSe) 보다 높았으며 알코올 섭취시 Se과 vitamin E의 결핍은  $\gamma$ -GTP량의 상승에 더 큰 영향을 미쳤다. 혈장 GOT는 알코올섭취군이 비섭취군에 비해서 높은 경향을 나타내었다. 그리고 혈장 GPT 활성은 알코올 섭취군이 비섭취군 보다 약간 높은 경향이었고, Se이 결핍된 군에서의 알코올 섭취의 영향은 다른 군에서의 알코올섭취 영향보다 GPT의 상승에 더 큰 영향을 미쳤다. GSH-Px의 활성은 Se이 결핍된 LSe군은 HSe군과 CSe군에 비해서 유의적으로 낮았다. Cytosol fraction의 GSH-Px 활성은 알코올 섭취군에서 약간 낮은 값이었고 Se이 과잉 및 결핍된 HSe군과 LSe군은 CSe군에 비해서 약 2배 정도 낮은 값을 나타내었다. HSe군의 혈장내 Se과 cytosol fraction GSH-Px의 상관관계는 negative 상관관계를 보였고 ( $r = -0.662, p < 0.001$ ) L-군은 positive 상관관계를 보였다 ( $r = 0.640, p < 0.001$ ). Microsome fraction에서 GSH S-transferase의 활성은 알코올 섭취군에서 약간 높은 경향이었고, LSe군이 다른군에 비해서 유의적으로 높았으며, cytosol fraction에서도 LSe, CSe, HSe군 순서로 높았고, vitamin E 비섭취군은 섭취군 보다 높은 경향을 나타내었고, 알코올 섭취시 Se과 vitamin E결핍은 GSH S-transferase를 더욱 증가시켰다. Mitochondria의 catalase 활성은 HSe군은 CSe군 보다 낮은 경향이였으나 Se을 결핍시킨 LSe군은 오히려 높은 경향을 나타내었다. 간 cytosol fraction의 SOD는 각 군간에 큰 변화가 없었고 cytochrome P-450은 알코올 섭취군이 높았으며 Se을 과잉으로 섭취한 HSe군에서 유의적으로 낮았다. 결론적으로 Se 와 vitamin E의 결핍은 지질

Table 7. Cytochrome P-450 level of liver microsomal fraction in rats

Group	Cytochrome P-450 (nmol/mg protein)
HCA	0.18 ± 0.02 <sup>1) abc2)</sup>
HC	0.19 ± 0.02 <sup>bcd</sup>
HLA	0.17 ± 0.03 <sup>ab</sup>
HL	0.15 ± 0.01 <sup>a</sup>
CCA	0.23 ± 0.01 <sup>fg</sup>
CC	0.24 ± 0.04 <sup>g</sup>
CLA	0.20 ± 0.09 <sup>cdef</sup>
CL	0.22 ± 0.01 <sup>defg</sup>
LCA	0.22 ± 0.03 <sup>defg</sup>
LC	0.22 ± 0.01 <sup>defg</sup>
LLA	0.20 ± 0.04 <sup>cdef</sup>
LL	0.19 ± 0.01 <sup>cdef</sup>

<sup>1)</sup> Mean ± S.E.M.

<sup>2)</sup> Values within a column not followed by the same letter are significantly different at  $\alpha = 0.05$  level by Duncan's multiple test

과산화에 관련된 효소의 활성을 높혀 간 지질 과산화를 촉진 하고 더우기 알코올의 섭취시에는 그 영향이 더욱 두드러진 것으로 보인다.

### 감사의 글

본 연구는 1991년도 교육부 지원 한국 학술진흥재단의 연구비 보조에 의한 것이며 지원 당국에 감사드립니다.

### 문 헌

- Halsted, C. H. : Alcoholism and malnutrition. In: Introduction to the symposium. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 2705 (1980)
- Shaw, S. and Lieber, C. S. : Mechanism of increased gamma glutamyl transpeptidase after chronic alcohol consumption : Hepatic microsomal induction rather than dietary imbalance. *Subst. Alcohol Actions/misuse*, **1**, 423 (1981)
- Lieber, C. S. and Decarli, L. M. : Ethanol oxidation by hepatic microsomes-adaptive increase after ethanol feeding. *Science*, **162**, 917(1968)
- Greger, J. N. and Helen, W. L. : The toxicology of dietary selenium. In "Nutritional toxicology II.", Academic Press, p.234(1987)
- McCoy, K. E. M. and Weswig, P. H. : Some selenium responses in the rat not related to vitamin E. *J. Nutr.*, **98**, 383 (1969)
- Combs, G. F. : Influences of dietary vitamin E and selenium on the oxidant defense system of the chick. *Poultry Science*, **60**, 2098 (1981)
- Hilton, J. W., Hodson, P. V. and Slinger, S. J. : The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Nutr.*, **110**, 2527 (1980)
- Levander, O. A. : Selenium : Biochemical actions, interactions, and some human health implications. In "Clinical biochemical and nutritional aspects of trace elements" Prasad, A. S. (ed.), New York, Alan R, Liss, p.105 (1982)
- Keshan disease research group : Observation on effect of sodium selenite in prevention of Keshan disease. *Clin. Med. J.*, **92**, 471 (1979)
- Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Hafeman, D. G. and Hoekstra, W. G. : Selenium : Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, **179**, 588 (1973)
- Hafeman, 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)
- Hoekstra, W. G. : Biochemical function of selenium and its relation to vitamin E. *Fed. Proc.*, **34**, 2083 (1975)
- Oldfield, J. E. : The two faces of selenium. *J. Nutr.*, **117**, 2002 (1987)
- 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)
- Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B. : Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic formation. *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130 (1974)
- Aebi, H. : Catalase. In "Methods of enzymatic analysis" Bergmeyer, H. U. (ed.), Verlag Chemic/Academic Press, N. Y., Vol. 2, p.673 (1974)
- Marklund, S. and Marklund, G. : Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, **47**, 469 (1974)
- Gornal, A. G., Badawill, C. J. and David, M. M. : Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**, 75 (1949)
- Lowry, O. H., Resenbrough, N. J., Farm A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
- Omura, T. and Sato, R. : The carbon monooxide binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification and properties. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370 (1964)
- Yamada, S., Wilson, J. S. and Lieber, C. S. : The effects of ethanol and diet on hepatic and serum  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase activities in rats. *J. Nutr.*, **115**, 1285 (1985)
- Thompson, J. N. and Scott, M. L. : Role of selenium in the nutrition of the chick. *J. Nutr.*, **97**, 335 (1969)
- Kien, C. L. and Ganther, H. E. : Manifestations of chronic selenium deficiency in a child receiving total parenteral nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **37**, 319 (1983)
- 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)
- Thomson, C. D., Steven, S. M., Van Rij, A. M., Wade, C. R. and Robinson, M. F. : Se and vitamin E supplementation : Activities of glutathione peroxidase in human tissue. *Am. J. Clin. Nutr.*, **48**, 316 (1988)
- Hafman, D. G., Sunde, R. A. and Hoekstra, W. G. : Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. *J. Nutr.*, **104**, 580 (1974)
- Hill, K. E., Burk, R. E. and Lane, J. M. : Effect of selenium depletion and repletion on plasma glutathione and glutathione dependent enzymes in the rat. *J. Nutr.*, **117**, 99 (1987)
- Siddons, R. C. and Mills, C. F. : Glutathione peroxidase activity and erythrocyte stability in calves differing in selenium and vitamin E status. *Br. J. Nutr.*, **46**, 345 (1981)
- Vadhannavikit, S. and Ganther, H. E. : Nutritional availability and chronic toxicity of selenocyanate in the rat. *J. Nutr.*, **118**, 718 (1988)

30. Cohen, H. J. : Human glutathione peroxidase. *Clin. Res.*, **34**, 635 (1986)
31. Chow, C. K., Reddy, K. and Tappel, A. L. : Effect of dietary vitamin E on the activities of the glutathione peroxidase system in rat tissues. *J. Nutr.*, **103**, 618 (1973)
32. Lieber, C. S. and CaRli, L. M. De. : Quantitative relationship between amount of dietary fat and severity of alcoholic fatty liver. *J. Nutr.*, **23**, 474 (1970)
33. Zidenberg-Cherr, S., Halsted, C. H., Olin, K. L., Reisenauer, A. M. and Keen, C. L. : The effect of chronic alcohol ingestion on free radical defense in the miniature pig. *J. Nutr.*, **120**, 213 (1990)
34. Mills, G. C. : Hemoglobin catabolism. 1. Glutathione peroxidase an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J. Biol. Chem.*, **229**, 189 (1957)
35. Kaplowitz, N. : Physiological significance of GSH S-transferases. *Am. J. Physiol.*, **239**, 439 (1980)
36. Kim, D. G., Chwa, I. J. and Kim, Y. H. : The effects of selenium on glutathione S-transferase activity in human erythrocyte. *Inje Medical. J.*, **5**, 439 (1984)
37. Sunde, R. A. and Hoekstra, W. G. : Structure, synthesis and function of glutathione peroxidase. *Nutr. Rev.*, **38**, 269 (1980)
38. Tappel, A. L. : Lipid peroxidation damage to cell components. *Fed. Proc.*, **32**, 1870 (1973)
39. Halliwell, B. : Biochemical mechanisms accounting for the toxic action of oxygen on living organism the key role of superoxide dismutase. *Cell Biol. Int. Rep.*, **2**, 113 (1978)
40. Van Rij, A. M., Thomson, C. D., Mckenzie, J. M. and Robinson, M. F. : Selenium deficiency in total parenteral nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 2076 (1979)

(1992년 11월 10일 접수)