

## Ethanol 급여 흰쥐의 심장 지질과산화에 미치는 Methionine의 영향

박은미 · 조수열<sup>†</sup> · 김명주\* · 이미경 · 성인숙

영남대학교 식품영양학과

\*신일전문대학 식품영양과

### Effect of Methionine on Heart Lipid Peroxidation in Rat with Alcohol Administration

Eun-Mi Park, Soo-Yeul Cho<sup>†</sup>, Myung-Joo Kim\*, Mi-Kyung Lee and In-Suk Sung

Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyoungsan 712-749, Korea

\*Dept. of Food Science and Nutrition, Shinil Junior College, Taegu 706-022, Korea

#### Abstract

This study was designed to investigate the effects of methionine (Met) on the activities of heart lipid peroxidation related enzymes in ethanol administrated rats. Male Sprague-Dawley rats were fed on diets containing one of the three levels of Met (0%, 0.3%, 0.9% of kg diet) and ethanol (2.5g/kg of body weight) was administered as 25 v/v% ethanol to ethanol treated groups orally. The rats were sacrificed after 5 and 10 weeks of feeding. Xanthine oxidase (XO) and catalase activities increased with ethanol administration and those activities were higher in Met excessive and deficiency group than those of Met normal group at 5 and 10 weeks dieting. Superoxide dismutase (SOD) activity in heart decreased significantly in Met deficiency and Met excessive group as compared to that of control. Glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in heart significantly decreased in Met deficiency group as compared to that of Met excessive and normal group. Glutathione S-transferase (GST) activity of heart tissue significantly increased by ethanol administration. Glutathione (GSH) content in heart decreased with ethanol administration and showed no significant differences with Met levels. Ethanol administration increased the content of lipid peroxide (LPO).

**Key words :** methionine, ethanol, heart lipid peroxidation

#### 서 론

지질과산화 반응은 산화 래디칼에 의해 일어나는 일반적인 산화스트레스 상태로서 자유래디칼 (free radicals) 생성의 증가 및 항산화적 방어력의 감소로 인해 야기된다. 에탄올에 의한 독성은 여러가지 가설로 설명되어 지는데, 에탄올 자체 또는 에탄올 대사과정에서 생성되는 반응성이 강한 유리기들의 산화반응에 의해 여러가지 생리작용의 변화를 유발하여 각종 대사성 질환을 초래한다고 알려져 있다(1). 즉 급·만성으로 에탄올을 섭취할 경우 간·심장 등 여러 조직에서 과산화물의 증가와 각종 항산화 효소계와 영양소의 함량이 변화됨이 보고되어 있다(2). 생체내 산화스트레스의

조건하에서 항산화제의 첨가는 지질과산화를 효과적으로 억제시킬 수 있는데, 생체내 비효소적인 지질과산화 방어기구체계로는 vitamin E, vitamin C, selenium, glutathione 및 합황아미노산인 methionine (Met)과 cysteine 등이 보고(3-6)되고 있다. Met은 세포조직의 성장이나 유지, 다른 대사적 기능을 위한 필수아미노산으로서 생체내에서 지질과산화 반응에 관여한다는 보고가 있으나 그 기전에 대해서는 완전히 구명되지 않고 있다. 다만 Met이나 그 대사물질의 -SH기가 자유래디칼의 직접적인 scavenger로서 작용하여 GSH의 농도를 일정하게 유지시키며, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 및 lipoperoxides로 부터 세포를 보호하기 위해 GSH-Px의 기질로서 작용할 것이라는 의견(7)이 제시되고 있다.

따라서 본 연구는 생체내에서 자유래디칼의 생성을 억제하는 Met의 수준을 달리하여 공급했을 때 에탄올

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

투여로 인한 흰쥐의 심장과산화지질에 미치는 Met의 영향을 관찰하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험동물 사육 및 식이

실험동물은 Sprague-Dawley종의 이유한 음성 흰쥐 48마리를 10일간 기본식으로 적응시킨 후, 평균 체중이  $110 \pm 10$ g인 것을 난괴법에 의해 4군으로 나누어 stainless steel cage에 한마리씩 분리하여 5주와 10주간 사육하였다. 실험동물 사육시 일어날 수 있는 무기질의 오염을 방지하기 위하여 실험 시작전 사육에 필요한 모든 기구는 0.4% EDTA용액으로 세척하여 사용하였다. 기본식은 AIN-76 (8) (Table 1)에 따랐으며 실험식은 Table 2에 나타내었다. 단백질 급원은 methionine (Met)이 제한된 soy protein (Tekled Co.)을 사용하였고, 에탄올은 25%의 에탄올을 체중 1kg당 2.5g씩 1일 1회 구강 투여하였다. 대조군은 에탄올과 동일 열량의 sucrose 용액을 투여하였다.

### 시료의 채취

각각 5주와 10주간 사육한 흰쥐를 12시간 절식시킨

Table 1. Composition of basal diet

Ingredients	Content (%)
Soy protein	20.0
DL-Methionine	0.3
Corn starch	50.0
Sucrose	15.0
Cellulose <sup>1)</sup>	5.0
Corn oil	5.0
AIN-mineral mixture <sup>2)</sup>	3.5
AIN-vitamin mixture <sup>2)</sup>	1.0
Choline chloride	0.2

<sup>1)</sup> Cellulose : Sigma Co.

<sup>2)</sup> Mineral and vitamin mixture (g/kg mix.) according to AIN-76

Table 2. Classification of experimental animals

Experimental group <sup>1)</sup>	Met (% of kg diet)	Administration ethanol (25%)
Control	0.3	-
HMet-Al	0.9	+
NMet-Al	0.3	+
LMet-Al	0	+

<sup>1)</sup> Control : Control methionine diet group

HMet-Al : Ethanol administrated 0.9% methionine diet group

NMet-Al : Ethanol administrated 0.3% methionine diet group

LMet-Al : Ethanol administrated 0% methionine diet group

후 ether로 마취시켜 개복하고, 적출한 심장조직은 MSE medium (225mM mannitol, 75mM sucrose, 0.1mM EDTA, 20mM tris-HCl, pH 7.4) 용액을 가하여 빙냉하에서 마쇄한 균질액(20 w/v%)을 600×g에서 10분간 원심분리하여 상정액을 얻어 10,000×g에서 20분간 원심분리 (Hitachi 20PR-520)하고 mitochondria fraction을 분리한 후 다시 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol fraction과 microsomal fraction을 분리하고, 효소 활성 측정시 효소원으로 사용하였다. 효소활성은 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 Lowry법 (9)에 준해 측정된 단백질 mg당의 specific activity로 나타내었다.

### 시료의 분석

Xanthine oxidase의 활성은 Stripe와 Della의 방법 (10)에 의하여 측정하였으며, superoxide dismutase의 활성은 Marklund와 Marklund의 방법 (11)에 준하여 측정하였고, catalase의 활성 측정은 Aebi의 방법 (12)으로, glutathione peroxidase의 활성 측정은 Paglia와 Valenine의 방법 (13)에 준하여 측정하였으며, glutathione S-transferase의 활성 측정은 Habig 등의 방법 (14)에 준하였고, 간조직 중의 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등의 방법 (15)에 의하여 측정하였으며, glutathione 함량 측정은 Ellman의 방법 (16)으로 측정하였다.

### 통계처리

실험 결과는 SAS package를 이용하여 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고 각군간 평균치의 통계적 유의성은  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple test (17)에 의해 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### Xanthine oxidase의 활성변동

심장조직 중의 xanthine oxidase (XO)의 활성변동은 Table 3에 나타내었다.

5주 및 10주 동안 에탄올 투여시 심장조직의 XO 활성은 대조군에 비하여 유의적인 증가를 보였으며 에탄올 투여시 증가된 XO 활성은 Met을 정상공급할 경우 Met 결핍과 과잉군에 비해 유의적으로 감소되었다. XO 활성은 에탄올 섭취시 alcohol dehydrogenase (ADH)나 microsomal ethanol oxidizing system (MEOS)에 의해 증가된 acetaldehyde를 acetate로 전환시키므로써 (18) 그 활성이 증가된 것으로 사료되며, 과량의 에탄올 섭취시

XO에 의한 acetaldehyde 분해량 증가와 부산물인 superoxide radical 생성량의 증가(19)는 에탄올에 의한 지질과산화 유발의 한 기전으로 생각되어진다. 또한 에탄올 투여시 Met 정상공급군은 Met 결핍과 과잉군에 비해 에탄올 투여로 증가된 XO 활성이 대조군에 가까운 수준으로 회복되었는데 이는 Met이 자유라디칼의 scavenger로서의 작용이 있다는 Shaw 등의 보고(7)로 뒷받침된다.

#### Superoxide dismutase와 catalase 활성변동

에탄올 투여에 따른 Met 수준이 심장조직 중의 superoxide dismutase(SOD)과 catalase 활성변동에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다.

심장의 SOD 활성은 대조군에 비하여 에탄올 투여로 유의적인 감소를 보였으며 이는 에탄올의 급성·만성적 투여 후 SOD 활성이 증가하였다는 Keen 등의 보고(20)와는 상반된 결과이나 에탄올 투여시 증가된 superoxide radical의 생성을 억제하기 위해 SOD가 소모되어 그 활성이 감소된 때문(21)으로 사료된다. 또한 5주 동안 에탄올 투여시 Met 결핍군의 경우 SOD 활성은 Met 정상 공급군과 과잉 공급군에 비해 유의적인 감소를 나타내었다. Met는 생체 항산화계의 구성요소로서 내적·외적 요인에 의해 생성된 자유라디칼을 무독화시키고, GSH-Px의 기질로서 superoxide radical과 H<sup>+</sup>의

반응으로 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 H<sub>2</sub>O로 변환시켜 세포의 지질과산화적 손상을 방어하는데(7), 에탄올 투여시 Met이 결핍되면 Met 결핍과 에탄올 섭취로 증가된 superoxide radical의 생성을 억제하기 위해서 SOD가 소모된 것으로 사료된다.

Catalase 활성은 5주 및 10주 동안 에탄올 투여시 유의적인 증가를 나타내었고, 5주 실험군에서 Met이 결핍된 군과 과잉공급군의 경우 Met 정상공급군에 비하여 유의적인 증가를 보였다. Catalase는 체내에서 지방의 자동산화 및 유기물의 산화로 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 소거하는 2가지 주 효소 중의 하나로서(22) 이상의 결과는 Met 결핍에 의한 GSH-Px 활성변동으로 과산화반응이 증가되고 이에 대한 보호와 적응으로써 방어효소인 catalase 활성이 촉진된 것으로 사료된다.

#### Glutathione peroxidase와 glutathione S-transferase 활성변동

5주 및 10주 동안 에탄올을 투여하고 Met을 수준별로 공급한 결과 심장조직 중의 glutathione peroxidase(GSH-Px)와 glutathione S-transferase(GST) 활성변동은 Table 5에 나타내었다.

GSH-Px 활성은 에탄올 투여로 감소되었으며, Met 결핍시 Met 정상공급군과 과잉공급군에 비해 유의적인 감소를 나타내었는데, 이는 GSH-Px의 기질인 식이성 Met의 영향 때문이라 사료된다. GSH-Px는 Se containing 항산화효소로서 Se의 정상적인 공급시 식이성 Met으로 부터의 transsulfuration efficiency의 증가로 GSH의 형성이 증가되며(23) 이로인해 GSH-Px의 활성도가 증가될 수 있다. 이상의 결과에서 에탄올 투여는 조직 중 hydroperoxide를 증가시켜 이를 분해시키는 GSH-Px에 영향을 미치는데, 심장의 GSH-Px의 turn over를 가속화시켜서 GSH 함량 변화를 주며 GSH-Px의 활성 저하를 초래하였고 에탄올 투여시 Met 결핍은 GSH-Px 활성을 더욱 감소시키는 것으로 볼 수 있다.

Table 3. Effect of methionine levels on heart xanthine oxidase activity in EtOH-treated rats

Group	XO <sup>1)</sup>	
	5 weeks	10 weeks
Control	2.32±0.13 <sup>a</sup>	2.55±0.15 <sup>c</sup>
HMet-Al	3.00±0.18 <sup>a</sup>	3.04±0.13 <sup>ab</sup>
NMet-Al	2.64±0.32 <sup>b</sup>	2.83±0.11 <sup>b</sup>
LMet-Al	3.10±0.24 <sup>a</sup>	3.20±0.21 <sup>a</sup>

Values are mean±S.D. (n=7)

<sup>1)</sup>uric acid nmoles/mg protein/min

Table 4. Effect of methionine levels on heart SOD and catalase activity in EtOH-treated rats

Group	SOD <sup>1)</sup>		Catalase <sup>2)</sup>	
	5 weeks	10 weeks	5 weeks	10 weeks
Control	16.83±0.66 <sup>a</sup>	18.44±0.63 <sup>a</sup>	35.57±4.20 <sup>c</sup>	47.14±4.12 <sup>b</sup>
HMet-Al	13.11±0.48 <sup>b</sup>	16.95±0.49 <sup>b</sup>	47.87±3.44 <sup>a</sup>	66.83±3.17 <sup>a</sup>
NMet-Al	13.56±0.44 <sup>c</sup>	17.61±0.58 <sup>ab</sup>	42.77±3.11 <sup>b</sup>	63.46±4.21 <sup>a</sup>
LMet-Al	11.73±0.42 <sup>d</sup>	16.83±0.76 <sup>b</sup>	50.25±1.44 <sup>a</sup>	67.40±6.07 <sup>a</sup>

Values are mean±S.D. (n=7)

<sup>1)</sup>unit/mg protein/min

<sup>2)</sup>Decreased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> moles/mg protein/min

Table 5. Effect of methionine levels on heart GSH-Px and GST activity in EtOH-treated rats

Group	GSH-Px <sup>a</sup>		GST <sup>b</sup>	
	5 weeks	10 weeks	5 weeks	10 weeks
Control	22.14 ± 1.69 <sup>a</sup>	21.90 ± 2.36 <sup>a</sup>	128.34 ± 9.46 <sup>a</sup>	132.74 ± 7.41 <sup>a</sup>
HMet-Al	20.01 ± 1.70 <sup>b</sup>	20.68 ± 0.47 <sup>b</sup>	146.35 ± 7.81 <sup>b</sup>	155.87 ± 8.80 <sup>b</sup>
NMet-Al	18.68 ± 2.40 <sup>c</sup>	19.71 ± 1.42 <sup>c</sup>	135.71 ± 8.22 <sup>c</sup>	144.84 ± 9.20 <sup>c</sup>
LMet-Al	16.76 ± 1.51 <sup>d</sup>	17.07 ± 1.45 <sup>d</sup>	153.97 ± 4.45 <sup>d</sup>	166.64 ± 7.22 <sup>d</sup>

Values are mean ± S.D. (n=7)

<sup>a</sup>Decreased NADPH nmoles/mg protein/min

<sup>b</sup>nmoles DNCB/mg protein/min

Table 6. Effect of methionine levels on heart LPO and GSH content in EtOH-treated rats

Group	LPO <sup>a</sup>		GSH <sup>b</sup>	
	5 weeks	10 weeks	5 weeks	10 weeks
Control	16.11 ± 1.31 <sup>c</sup>	19.23 ± 0.45 <sup>b</sup>	4.19 ± 0.25 <sup>a</sup>	4.56 ± 0.28 <sup>a</sup>
HMet-Al	20.12 ± 1.31 <sup>b</sup>	22.15 ± 1.21 <sup>b</sup>	3.95 ± 0.37 <sup>ab</sup>	4.37 ± 0.28 <sup>ab</sup>
NMet-Al	18.87 ± 1.83 <sup>c</sup>	20.78 ± 0.55 <sup>c</sup>	4.12 ± 0.52 <sup>a</sup>	4.26 ± 0.35 <sup>ab</sup>
LMet-Al	22.15 ± 1.21 <sup>a</sup>	28.09 ± 1.21 <sup>a</sup>	3.61 ± 0.33 <sup>b</sup>	4.04 ± 0.18 <sup>b</sup>

Values are mean ± S.D. (n=7)

<sup>a</sup>MDA nmoles/g of tissue

<sup>b</sup>μmoles/g of tissue

GST 활성은 5주 및 10주 동안 에탄올 투여시 유의적으로 증가되었으며 지질과산화물 함량이 높은 Met 결핍군에서 현저히 증가하였다. Se 비의존성 효소인 GST는 독성물질의 친전자성체에 환원형 GSH를 포함시켜 glutathione thioester를 형성하는 반응을 촉매하여 독성을 무독화시키는데 (24), 이상의 결과는 에탄올 섭취와 Met 결핍으로 지질과산화가 촉진되고, GSH-Px 활성의 저하로 지질과산화물의 함량이 증가됨에 따라 GST 활성이 증가된 것으로 사료된다.

#### Lipid peroxide와 glutathione 함량

심장조직 중의 지질과산화물과 glutathione(GSH) 함량변동은 Table 6에 나타내었다.

심장의 지질과산화물 함량은 5주와 10주 모두 에탄올 투여군에서 대조군에 비해 유의한 증가를 보였으며, 에탄올 섭취시 Met 결핍에 의해 지질과산화물의 형성이 현저하게 높았는데 이러한 현상은 Met 정상공급군과 과잉공급군에서 다소 감소되었다. 이는 GSH의 전구체인 Met을 강화한 식이를 섭취한 흰쥐에서 지질과산화가 감소되었다는 보고 (7)와 일치하는 결과로서 cysteine과 GSH의 전구체인 Met이 생체내 일정농도에 GSH를 보유하여 과산화물을 감소시키며 독성물질에 대해서 방어작용을 하는 것으로 사료된다.

GSH 함량은 에탄올 투여시 5주 및 10주군의 경우 감소되는 경향이였다. 이는 에탄올 투여에 대한 항산화적 작용으로의 소모와 acetaldehyde가 thiazolidine 복합체의 형성을 위해 SH기와 결합하므로 GSH량 감소가 유도된 것이라 사료되며, 에탄올 투여로 인한 흰쥐의 급성중독시 GSH 감소와 지질과산화 수준이 증가되었다는 Speisky 등의 보고 (25)와 유사한 결과이다. 에탄올이 GSH에 미치는 영향은 섭취한 에탄올의 양, 급성 또는 만성 여부, 실험동물의 종류 및 식이의 항산화제 수준 등에 의하여 좌우된다. 본 실험에서 10주의 경우 에탄올 공급이 만성화됨에 따른 생체의 적응에 의한 변화로서 만성적인 GSH의 항산화적 소모로 인해 GSH 함량이 다소 저하되었으며 그 결과로서 지질과산화 반응이 억제된 것으로 생각된다. 5주 실험군의 경우 Met 정상공급과 과잉공급시 Met 결핍군에 비해 에탄올 투여에 의한 감소가 억제되었다. 이는 Met이 GSH의 tripeptide내 유리 sulfhydryl기를 공급하므로써 체내에서의 GSH 수준을 유지시키는 때문으로 사료된다.

#### 요 약

에탄올 투여로 인한 심장의 지질과산화에 미치는 식이성 Met의 효과를 구명하기 위하여 에탄올 투여군의

Met을 수준(0%, 0.3%, 0.9% of kg diet)별로 공급하고 실험기간을 5주 및 10주로 설정하여 심장의 유리기 제거 효소계의 활성을 관찰하였다. 심장의 XO 활성은 5주 및 10주군에서 에탄올 투여시 증가되었고, 5주 실험군의 경우 Met 정상공급군이 Met 결핍과 과잉군에 비해 대조군에 가까운 수준으로 회복되었다. SOD 활성은 에탄올 투여로 감소되는 경향이었으며, 5주 군의 경우 Met 결핍시 정상공급군과 과잉공급군에 비해 감소되는 경향이었고, catalase의 활성은 에탄올 투여로 대조군에 비해 모든 군에서 증가되었다. GSH-Px 활성은 5주와 10주 에탄올 투여군에서 감소되었으며 Met 과잉군과 정상공급군이 Met 결핍군에 비해 유의적인 증가를 나타내었다. GST는 에탄올 투여시 증가된 활성이 Met 결핍에 의해 더욱 가중되었다. LPO 함량은 에탄올 투여시 증가되었고 Met을 정상공급하거나 과잉공급할 경우 Met 결핍군에 비하여 유의적으로 감소되었고, CSH 함량은 에탄올 투여시 감소되는 경향이 있었으며 Met 수준간에 유의성은 나타나지 않았다.

## 문 헌

- Zidenberg, C., Hurley, S., Lonnerdal, B. and Keen, C. L. : Manganese deficiency : Effect on susceptibility to ethanol toxicity in rat. *J. Nutr.*, **115**, 460(1985)
- Taraschi, T. F. and Rubin, E. : Biology of disease : Effect of ethanol on the chemical and structural properties of biologic membranes. *Lab. Invest.*, **52**, 120(1985)
- Molenaar, I., Hulstaert, C. E. and Handonk, M. J. : A comprehensive treatise. In "Vitamin E", Marcel Dekker, New York, p.372(1980)
- Xia, Y., Hill, K. E. and Burk, R. F. : Effect of Se deficiency on hydroperoxide-induced glutathione release from isolated perfused rat heart. *J. Nutr.*, **115**, 733(1985)
- Hill, K. E. and Burk, R. F. : Effect of Se deficiency and vit. E deficiency on glutathione metabolism in isolated rat hepatocytes. *J. Biol. Chem.*, **257**, 1066(1982)
- Hafeman, D. G. and Hoekstra, W. G. : Protection against carbon tetrachloride-induced lipid ethane evolution. *J. Nutr.*, **107**, 656(1977)
- Shaw, S., Jayatilleke, R., Ross, W. A., Gordon, E. R. and Lieber, C. S. : Ethanol induced lipid peroxidation : potentiation by chronic alcohol feeding and attenuation by methionine. *J. Lab. Clin. Med.*, **98**, 417(1981)
- American Institute of Nutrition : Report of the American institute of nutrition : Ad Hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, **107**, 1340(1977)
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
- Stripe, F. and Della, C. E. : The regulation of rat liver xanthine oxidase : Conversion *in vitro* of enzyme from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J. Biol. Chem.*, **224**, 3855(1969)
- 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)
- Aebi, H. : Catalase. In "Method of Enzymatic Analysis" Bergmeyer, H. U.(ed.), Academic Press, N. Y., Vol. 2, 673(1974)
- Paglia, E. D. and Valentine, W. N. : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes 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)
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. : Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**, 351(1979)
- Ellman, G. L. : Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70(1959)
- Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. : Statistical methods. 6th., Iowa State University Press, Iowa, p.1(1967)
- Klaassen, C. D., Amdur, M. O. and Doull, J. : Casarett and Doull's toxicology. 3rd ed., Macmillan Publishing company, New York, p.556(1986)
- Peter, R., Beverleigh, T., Jerone, D. and Robert, D. S. : Ethanol induced injury to the rat gastric mucosa. *Gastroenterology*, **98**, 909(1990)
- Keen, C. L., Tamura, T., Lonnerdal, B., Hurley, L. S. and Halsted, C. H. : Changes in hepatic superoxide dismutase activity in alcoholic monkeys. *Am. J. Clin. Nutr.*, **41**, 929(1985)
- Strubelt, O., Younes, M. and Pentz, R. : Enhancement by glutathione depletion of ethanol-induced acute hepatotoxicity *in vitro* and *in vivo*. *Toxicology*, **45**, 213(1987)
- 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)
- Reddy, K. and Tsappel, A. L. : Effect of dietary Se and autoxidized lipid on the glutathione peroxidase system of gastrointestinal tract and other tissues in the rat. *J. Nutr.*, **104**, 1069(1974)
- Kaplowitz, N. : Physiological significance of GSH S-transferases. *Am. J. Physiol.*, **239**, 439(1980)
- Speisky, H., Kera, Y., Penttila, K. E., Israel, Y. and Lindros, K. O. : Depletion of hepatic glutathione by ethanol occurs independently of ethanol metabolism. *Alcol. Clin. Exp. Res.*, **12**, 224(1988)

(1995년 4월 26일 접수)