

Tryptophan 투여가 Reserpine과 식이 탄수화물 수준이 다른  
저단백식을 섭취한 흰쥐의 혈장 아미노산 농도,  
간 Cytochrome P 450 함량 및 간세포  
미세구조에 미치는 영향\*

신 동 soon

경남대학교 가정교육과

The Effect of Tryptophan Administration on the Plasma Free Amino Acid  
Concentration, Liver Microsomal Cytochrome P450 Content and  
Cellular Structure of Rats Consumed Reserpine and Low  
Protein Diet with Different Carbohydrate Contents

Shin, Dong Soon

Department of Home Economics Education, Kyungnam University, Masan, Korea

ABSTRACT

The purpose of this experiment was to compare the effects of tryptophan administration on nutritional status of female rats which consumed reserpine and 6% casein diet with different carbohydrate contents(87%, 65%, 44% respectively). Final body weight, body weight gain, FER, plasma amino acid concentration and microsomal cytochrome P 450 content in liver were measured and microscopic structure of hepatocytes was observed.

In low-protein diet, the higher the carbohydrate content of diet was, the lower the damage was in the rat's liver. Tryptophan administration after dose of reserpine induced more effective recovery from liver damage of rats in high carbohydrate diet group than that in low carbohydrate diet group.

In conclusion, the general nutritional assessments such as final body weight and body weight gain provided better estimate of the degree of structural changes in hepatocytes than functional assessment such as plasma amino acid concentration or liver microsomal cytochrome P 450. (*Korean J Nutrition* 29(7) : 689~702, 1996)

KEY WORDS : low protein diet · dietary carbohydrate · tryptophan administration · plasma free amino acid · microsomal cytochrome P 450 · hepatocyte.

서 론

일반적으로 동물은 식이 단백질의 양과 질이 변할때  
채택일 : 1996년 7월 1일

\*본 연구는 1994년 경남대학교 학술연구 지원비에 의  
해 수행되었음.

식이에 대한 기호가 달라지며 식욕이 증감하는 등, 섭식  
행동의 변화를 보인다. 특히 성장기 동물의 경우에는 최  
대 성장이 가능하도록 단백질 섭취량을 조절하는데, 총  
에너지에 대한 단백질 섭취 비율이 커지도록 식이섭취  
형태를 변화시킨다<sup>1)</sup>. Harper<sup>2)</sup>에 의하면, 동물은 아미

노산 구성이 불균형된 식이나 결핍된 식이를 먹은 후 다음 식이 섭취때 단백질이 적절한 식이를 섭취하려는 능력을 보이거나 식이 섭취를 감소시키는 조절 기전을 보인다. 단백질 섭취량과 혈장내 tryptophan/neutral amino acids 비율은 서로 반비례하며 이 비율에 의해 두뇌로 이동되는 tryptophan양이 결정되고 두뇌 serotonin 합성이 조절된다는 것이 일반적인 견해이다<sup>3)</sup>. 그러나 Wurtman<sup>4)</sup>, Blundell & Rogers<sup>5)</sup> 등은 일단 두뇌 serotonin을 증가시키는 식이를 섭취한 동물은 그 다음 식사때 두뇌 serotonin을 감소시키는 식이를 섭취하려 하는데 이때 식이 단백질보다는 식이 탄수화물 섭취를 조절하려 한다고 주장한다. 이렇듯 식이 성분과 serotonin 같은 두뇌 기능 물질의 관계는 연구자들 사이에 그 관점이 일치하지 않고 다양한 이론이 제시되는, 더 연구되어야 할 과제이다.

선행 연구<sup>6,7)</sup>에서 본 연구자는 두뇌 serotonin 대사의 변화를 관찰하기 위해서, 흰쥐에게 단백질 수준이 서로 다른 식이를 섭취시키면서 두뇌 serotonin을 감소시키기 위해 reserpine을 투여하였으며, 감소된 두뇌 serotonin을 증가시키기 위해서 tryptophan을 투여하였다. Reserpine은 본태성 고혈압 치료제이자 정신 안정제로서, 과량 투여시 두뇌 serotonin을 고갈시켜 행동 감소와 우울증을 유발시키는 약물이다. 20% casein 식이를 섭취한 흰쥐에서 reserpine 투여시 두뇌 serotonin 함량이 유의적으로 감소하였으며 tryptophan 투여시 유의적인 증가를 보인 반면, 6% casein 식이를 섭취한 흰쥐에서는 reserpine 투여 혹은 tryptophan 투여시 모두 두뇌 serotonin 함량이 다소 감소하는 경향을 보였다<sup>6)</sup>. 이와 동시에 실험 동물의 혈액 아미노산 농도, 장기 무게와 그 구성성분도 식이 단백질 수준에 따른 차이를 보였으며 그 경향은 두뇌 serotonin 변화와 같았다<sup>7)</sup>. 그런데 실험 동물의 간 지방 함량이 식이 단백질 수준, reserpine과 tryptophan 투여에 따라 매우 유의한 차이를 보였으며 그 원인을 저단백 식이를 섭취하는 동물에서 과량의 약물이 투여(reserpine은 물론 tryptophan도 약물로 작용했다고 여겨졌음)되어 간이 많이 손상되었기 때문이라고 예측하였다.

그러므로 식이 탄수화물 수준을 달리한 저단백 식이(6% casein diet)를 흰쥐에게 섭취시키면서 reserpine과 tryptophan을 투여 할때 나타나는 두뇌 serotonin 대사와 함께 간 기능 및 간 미세구조의 변화를 비교할 필요가 있다고 여겨져 본 연구를 수행하게 되었다. 본 논문에서는 두뇌 serotonin 대사 변화를 비교하기 앞서, 우선 실험 동물의 일반적 영양 상태와 간 기능 및 구조적 변화를 비교하고자 하였다. 따라서 실험 동물의 식이 섭

취량, 체중 및 식이 효율, 혈액 아미노산 농도를 통해 일반적인 영양상태를, 간 microsomal cytochrome P 450 함량 분석을 통하여 간의 약물 해독 능력을, 간 세포의 전자 현미경 사진을 통해 세포 미세구조의 손상 정도를 비교해 보았다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물의 사육

#### 1) 실험 1

막 짚을 뎀 Sprague-Dawley 종 암컷 흰쥐를 고행 사료로 1주일간 적응시킨 후 이들을 난괴법에 의해 각 군당 7마리씩 모두 9군으로 나누었다. 이때 실험 동물들의 평균 체중은 68.0±3.4g이었다. 실험 동물이 섭취한 식이는 1g당 열량이 같은 6% casein diet이며 식이 탄수화물 수준에 따라 H군(87% CHO), M군(65% CHO), L군(44% CHO) 세 종류이었다(Table 1). 실험 1의 사육기간은 5주였으며 실험 기간 동안 식이와 물을 무제한 공급하였다. 체중은 1주에 한번, 식이 섭취량은 매일 측정하였다. 5주간의 사육 후 각 식이 별로 한 군씩 무작위 선택하여 희생시켜 혈액 및 장기를 채취하였다.

Table 1. Composition of experimental diet (g/Kg diet)

Component\Group	H	M	L
Starch	870	650	440
Casein	60	60	60
Corn oil	10	110	200
Cellulose	20	150	260
Salt mixture 1)	40	40	40
Vitamin mixture 2)	*	*	*

- 1) 20g calcium phosphate(dibasic); 2.96g sodium chloride; 8.8g potassium citrate; 2.08g potassium sulfate; 0.96g magnesium oxide; 0.14g manganous carbonate; 0.24g ferric citrate 6 H<sub>2</sub>O; 0.064g zinc carbonate; 0.012g cupric carbonate; 0.00004g potassium iodate; 0.00004g sodium selenate; 0.0002g chromium potassium sulfate; sucrose(to make 40g totally)
- 2) ① 1ml of vitamin A & D mixture /Kg diet : 0.1mg retinyl acetate and 0.01mg ergosterol /ml corn oil  
② 2ml of vitamin E & K mixture /Kg diet ; 25mg atocopherol acetate and 1mg menadione /ml corn oil  
③ water soluble vitamin mixture : 2000mg choline chloride, 10mg thiamin hydrochloride, 20mg riboflavin, 120mg nicotinic acid, 10mg pyridoxine, 100mg calcium pantothenate, 0.5mg biotin, 4mg folic acid, 500mg inositol, 100mg para-amino benzoic acid  
④ 1ml of vitamin B 12 solu. /Kg diet : 0.01mg Vit. B 12 /ml distilled water

2) 실험 2

실험 1과 같이 5주 동안 사육한 후 동일한 식이를 계속 섭취 시키면서 모든 실험군에 reserpine을 2주간 투여하였다. 매일 0.002g의 reserpine(부광제약 제품)을 separate feeding 방법으로 경구 투여 하였으며 마지막 3일간은 약물 투여의 중단으로 올 수 있는 대사상의 쇼크를 방지하기 위해 투여량을 0.001g으로 감량하였다. Reserpine 투여후 각 식이 별로 한 군에는 2주 동안 L-tryptophan 40.35mg을 separate feeding 방법으로 경구투여하였으며(Table 2). 다른 한군에는 tryptophan을 투여하지 않았다. Reserpine, tryptophan 투여량 결정 방법은 선행 연구<sup>6)7)</sup>와 동일하였다. 총 9주간의 실험이 끝난 직후 동물을 희생시켰다.

2. 혈액 및 장기 채취 및 혈장 아미노산 농도 분석

실험 기간이 끝난 실험 동물은 12시간 굶긴 후 ethyl ether로 마취한 후 경동맥에서 혈액을 채취하였으며 즉시 해부하여 장기를 취한 뒤, 그 무게를 측정하고 -70℃로 냉동 보관하였다. 한편, heparin 처리된 tube에 채취한 혈액을 1시간 방치 후 원심분리하였다. 유리 아미노산을 분석하기 위해 분리된 혈장에 0.3% salicylic acid 를 1 : 2의 비율로 첨가하여 침전시킨 후 상등액을 분주하여 분석 직전까지 -70℃로 냉동 보관하였다. 유리 아미노산 농도를 녹십자 혈액원의 아미노산 분석기(biochrome 20, Phamarcia)로 분석하였다.

3. 간 microsomal cytochrome P 450 함량 측정

간 microsomal cytochrome P 450 함량은 Omura & Sato의 방법<sup>8)</sup>을 변형하여 분석하였다. 간 microsomal fraction을 0.1 M phosphate buffer 용액(pH 7.0)으로 희석시켜서 단백질 농도가 1mg/ml 인 분석 시료액을 준비하였다. 각 분석 시료액을 reference cell과

sample cell에 두고 base line 조정하였다. CO 가스로 bubbling한 시료액을 sample cell에 담아 450~490 nm 사이에서 최대 흡광도를 측정하였으며 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>를 첨가하여 다시 흡광도를 측정하였다. 최대 흡광도 간의 차이값을 cytochrome P 450 양으로 계산하였으며 molar extinction coefficient는 91 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>로 하였다.

간 microsome의 단백질 함량은 bovine albumin을 표준 용액으로 하여 Lowry의 방법<sup>9)</sup>으로 측정하였다.

4. 간 조직의 미세 구조 관찰

간 조직의 미세구조를 관찰하기 위해 실험 동물의 경추를 파괴시킨 후 해부하여 간 전엽 조직을 절취하였다. 1mm 크기로 세절한 조직을 3% glycerinaldehyde(4℃, pH 7.4, Millonig's Buffer)로 2 시간 전고정하고 동일한 buffer 용액으로 수세하였다. 1.33% Osmium tetroxide(4℃, pH 7.4, Millonig's Buffer)로 후고정한 다음, alcohol series(65~100%)로 탈수하였다. 탈수한 조직을 propyleneoxide로 치환한 뒤, Epon 812 혼합액으로 포매하여 중합시켰다. 1µm 두께로 절단하여 0.5% toluidine blue로 염색한 다음 광학현미경 하에 관찰하고 확인된 부위를 60~90nm 두께로 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현미경(TEM, H-600, Hitachi)으로 관찰<sup>10)</sup>하였다.

5. 통계 처리

실험 1, 2의 분석 결과는 각 실험군의 평균치와 표준편차로 표시하였으며 각 실험군 간 평균치는 일원 변량 분석을 하여 α=0.05 level 에서 scheffe's test로 유의성 검정을 하였다. 한편 실험 2 경우 실험군 평균치의 요인별, 요인간 효과(A 식이 탄수화물 수준, B tryptophan 투여 유무, AB 식이 탄수화물과 tryptophan 상호 작용)를 검증하기 위해 다원 변량 분석(two-way factorial ANOVA)을 하였다<sup>11)</sup>. 모든 통계처리는 SPSS/PC+ 로 하였다<sup>12)</sup>.

결 과

1. 실험 1

실험 1은 탄수화물 수준이 서로 다른 6% casein diet를 섭취한 실험동물의 식이 섭취량, 체중, 식이 효율(FER : food efficiency ratio), 혈장 유리 아미노산 농도, 간 microsomal cytochrome P 450 농도 및 간세포 미세구조의 차이를 비교하기 위해서 시행되었다.

Table 2. Experimental design

Group	Administration period(wks)		Total experiment periods(wks)
	Reserpine	Tryptophan	
Exp 1 H	-	-	5
M	-	-	5
L	-	-	5
Exp 2 Hr	2	-	9
Hr+t	2	2	9
Mr	2	-	9
Mr+t	2	2	9
Lr	2	-	9
Lr+t	2	2	9

H : 87 % starch & 6 % casein diet  
 M : 65 % starch & 6 % casein diet  
 L : 44 % starch & 6 % casein diet  
 r : reserpine administration  
 +t : tryptophan administration

### 1) 식이 섭취량, 체중 및 FER

실험 1기간에 측정된 실험 동물의 식이 섭취량, 체중 변화 및 FER 등을 실험군간에 비교한 결과, Table 3에서 보는 바와 같았다.

식이 섭취량과 실험 종료시 체중은 탄수화물 수준이 높은 식이를 섭취한 H군에서 탄수화물 수준이 낮은 식이를 섭취한 L군 보다 무거웠으며 그 차이는 유의적이었다. 같은 기간동안 H군의 총 체중 증가량이 L군보다 많아서, 저단백 식이로 동물을 사육할때 식이 탄수화물 수준이 높은 H군의 식이 섭취량과 체중이 증가하는 것으로 나타났다. 한편, FER은 H군에서 M군이나 L군보다 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 아니었다.

### 2) 혈장내 유리 아미노산 농도

탄수화물 수준이 서로 다른 식이를 섭취한 실험군간에 혈장내 유리 아미노산 농도를 비교한 결과, Table 4에서 보는 바와 같았다. 혈장내 threonine 농도는 탄수화물

수준이 높은 식이를 섭취한 H군에서 탄수화물 수준이 낮은 식이를 섭취한 L군보다 높게 나타났으며 그 차이는 유의적이었다. 혈장 leucine 농도도 H군에서 높은 경향을 보이고 있으나 glutamate 농도는 반대로 L군에서 M군보다 높았으며 그 차이는 유의적인 것이었다. 전반적으로 H군의 혈장내 유리 아미노산의 농도는 M군이나 L군의 농도보다 높은 경향을 보였다. 한편 혈장내 methionine 농도는 세군 모두에서 매우 낮은 수치를 나타냈다.

탄수화물 수준이 서로 다른 식이를 섭취한 세 군간에 혈장내 필수 아미노산, 불필수 아미노산 농도 및 총 아미노산 농도를 비교한 결과, Table 5에서 보는 바와 같았다. H군의 혈장내 필수, 불필수 및 총 아미노산 농도는 M군이나 L군보다 높은 경향을 보였으나 그 차이가 유의적인 것은 아니었다.

실험군간에 Whitehead & Dean<sup>13)</sup>의 아미노산 농도 비를 비교한 결과, M군의 아미노산의 농도비는 H군이

**Table 3.** Food consumption, final body weight, total body weight gain and FER of rats in Exp 1

Group	Food consumption (g/week)	Final body weight (g)	Total weight gain (g)	FER
H	120.4±19.0 <sup>1)</sup> a <sup>2)</sup>	131.7± 9.6 a	62.6± 7.4 a	0.103±0.011 ns <sup>3)</sup>
M	108.3±14.5 ab	114.0±17.1 ab	45.2±12.8 ab	0.088±0.020
L	90.1±15.2 b	103.0±10.2 b	34.6±10.1 b	0.071±0.031

1) Mean ± S.D.

2) Values with different alphabet within the same column were significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffe's test

3) Not significant at  $\alpha=0.05$  level by Scheffe's test

**Table 4.** Plasma free amino acid concentrations of rats in Exp 1

( $\mu\text{M/L}$ )

Group	Taurine	Aspartate	Threonine	Serine
H	115.7± 55.4 <sup>1)</sup> ns	50.3± 8.6 ns	288.0±100.3 a <sup>2)</sup>	357.4± 85.1 ns <sup>3)</sup>
M	96.4± 7.3	50.6±12.4	191.2± 15.3 ab	309.7± 54.8
L	56.2± 21.5	37.5± 8.4	134.5± 54.9 b	258.8±120.5
Group	Asparagine	Glutamine	Proline	Glycine
H	752.4±451.6 a	230.4±93.0 ns	98.4± 45.3 ns	302.2± 68.5 ns
M	70.9± 11.2 b	180.2±64.6	55.1± 28.4	278.6± 90.3
L	534.4±101.1 ab	158.4±66.6	42.5± 24.8	206.7± 64.9
Group	Alanine	Valine	Cystine	Methionine
H	229.8± 66.5 ns	130.7±30.7 ns	7.3± 10.9 ns	0.0± 0.0 ns
M	157.0± 23.7	124.9±25.3	11.5± 10.9	4.6± 10.2
L	135.7± 46.7	110.6±36.9	7.9± 7.4	0.0± 0.0
Group	Isoleucine	Leucine	Tyrosine	Phenylalanine
H	67.7± 25.5 ns	245.9±56.6 a	80.4± 9.9 ns	42.8± 10.5 ns
M	51.1± 6.7	111.2±20.3 b	79.8± 19.8	31.4± 6.6
L	39.7± 10.9	188.0±48.5 ab	61.5± 9.5	29.3± 9.1
Group	Lysine	Histidine	Arginine	Glutamate
H	865.0±271.8 ns	73.8±16.3 ns	329.0± 64.6 ns	3.4± 1.1 ab
M	650.3±183.2	75.4±18.7	273.3± 49.6	1.0± 0.5 b
L	606.8±287.7	64.4±20.0	227.3± 79.2	7.0± 5.0 a

1) Mean±S.D.

2) Values with different alphabet within the same column were significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffe's test

3) Not significant at  $\alpha=0.05$  level by Scheffe's test

**Table 5.** Plasma essential, nonessential and total amino acid concentrations of rats in Exp 1 (μM/L)

Group	Essential amino acid	Nonessential amino acid	Total amino acid	Ratio <sup>4)</sup>
H	2043.0±443.6 <sup>1)ns<sup>2)</sup></sup>	2112.1±773.5 ns	4155.1±1199.2 ns	2.3±0.2 a <sup>3)</sup>
M	1513.4±262.0	1194.4±240.2	2707.8± 491.8	3.0±0.4 b
L	1400.5±503.4	1450.3±415.8	2850.8± 908.2	2.0±0.4 a

1) Mean ± S.D.

2) Not significant at α=0.05 level by Scheffe's test

3) Values with different alphabet within the same column were significantly different at α=0.05 level by Scheffe's test

4) Whitehead & Dean ratio(13)

$$\text{ratio} = \frac{\text{gly+ser+glm+tau}}{\text{val+leu+ileu+met}}$$

**Table 6.** Liver weight and microsomal cytochrome P 450 contents of rats

Group	Liver weight (g)	Cytochrome P450 (nM/protein)
H	4.57±0.17 <sup>1)a<sup>2)</sup></sup>	1.32±0.53 ns <sup>3)</sup>
M	3.40±0.46 b	0.72±1.23
L	3.19±0.40 b	0.86±0.58

1) Mean ± S.D.

2) Values with different alphabet within the same column were significantly different at α=0.05 level by Scheffe's test

3) Not significant at α=0.05 level by Scheffe's test

나 L군 보다 높았으며 그 차이는 유의적이었다.

### 3) 간 무게와 microsomal cytochrome P 450 함량

실험 종료 직후 희생된 동물의 간 무게와 microsomal cytochrome P 450 함량을 비교한 결과는 Table 6과 같았다. 탄수화물 수준이 높은 식이를 섭취한 H군의 간무게가 탄수화물 수준이 낮은 식이를 섭취한 M군이나 L군의 것보다 무거웠으며 그 차이는 매우 유의적이었다. H군의 간 microsomal cytochrome P 450 함량도 M군이나 L군에 비해 많은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 아니었다.

### 4) 간 세포의 전자현미경 관찰 소견

실험 기간 동안 일반 사료로 사육한 정상 흰쥐의 간 세포(Fig. 1)에서는 염색질 과립 분포가 균일한 핵과 표면에 ribosome이 부착되어 잘 발달된 RER(rough endoplasmic reticulum)이 핵주변에서 뚜렷이 발견되었다. Cristae가 선명하게 나타나는 0.5~1μm 정도의 mitochondria가 부분적으로 RER에 둘러싸여 있는 형태를 보이고 있으며 산재된 많은 glycogen 과립들이 관찰되었다.

전반적으로 실험군들의 간 세포의 핵은 전형적인 형태는 아니나 큰 변화는 없는 것으로 보이며, 세포질 내의 RER과 mitochondria는 실험군에 따라 형태학적으로 변화한 것이 관찰되었다.

탄수화물 수준이 높은 식이를 섭취한 H군에서는 (Fig. 2) mitochondria가 파괴되어 있으며 mitochondrial cristae가 불분명하였다. 또한 mitochondria를 둘러싼 RER 표면은 ribosome이 많이 감소되어 미끈하게 보이며, glycogen 입자가 감소되어 있었다.

M군의 간세포(Fig. 3)에서는 mitochondria가 다소 파괴되어 있으나 H군의 것보다는 전형적인 모습에 가까웠다. 또한 부분적으로 부착 ribosome이 감소된 RER이 관찰되며, glycogen 과립들이 RER 주변에 집중되어 있음이 관찰되었다. 한편, 전자 밀도가 높은 lysosome도 관찰되었다.

탄수화물 수준이 낮은 식이를 섭취하는 L군의 간세포(Fig. 4)에서는 mitochondria가 심히 팽윤되어 있고 그 내부 cristae가 분명하지 않았으며 핵 주변에서 많은 SER(smooth endoplasmic reticulum)이 관찰되었다. 또한 산재된 유리 ribosome 들이 많이 관찰되었다.

## 2. 실험 2

실험 2에서는 실험 1과 동일하게 구성된 H, M, L 세 종류 식이를 섭취하는 모든 실험 동물에게 2주 동안 reserpine을 경구 투여한 후, 각 식이마다 두 군으로 나누어 한 군에는 tryptophan을 투여하였고 다른 한군에는 tryptopyhan을 투여하지 않았다. 식이 탄수화물 수준이 서로 다른 저단백 식이와 reserpine을 섭취한 동물에서 tryptophan투여 유무가 실험 동물의 식이 섭취량, 체중, FER, 혈장 유리 아미노산 농도, 간 microsomal cytochrome P 450 함량 및 간 세포의 미세 구조가 어떻게 변화하는지 알아 보고자 본 실험을 시행하였다.

### 1) 식이 섭취량, 체중 및 FER

실험 2 기간에 측정된 실험 동물의 식이 섭취량, 실험 종료시 체중 및 FER을 비교한 결과, Table 7와 같았다.

실험 동물의 식이 섭취량은 reserpine을 투여했을때 식이 탄수화물 수준에 따라 유의적인 차이를 보여, 탄수화물 수준이 높은 식이를 섭취한 H군이 탄수화물 수준이 낮은 식이를 섭취한 L군보다 많았다. Reserpine 투여후 tryptophan을 투여했을 때 각 실험군의 식이섭취

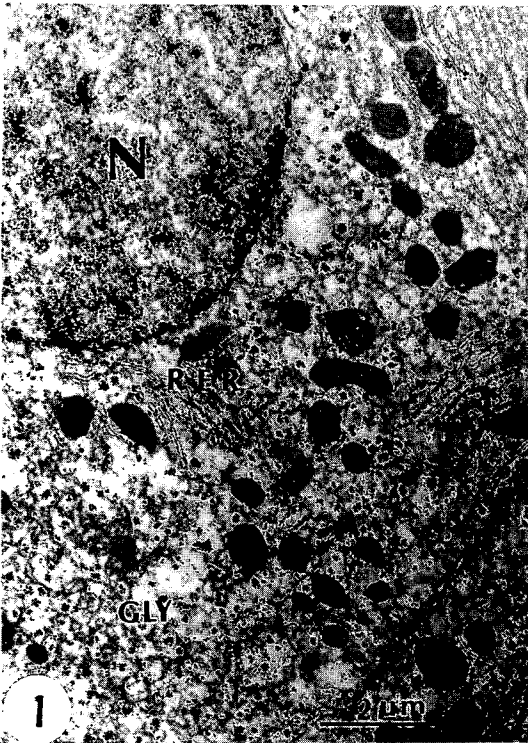


Fig. 1. The electron micrograph of hepatocyte of normal rat. Well-developed rough endoplasmic reticulum (RER) and mitochondria(M), and scattered glycogen particles(GLY) in cytoplasm were observed.



Fig. 2. The electron micrograph of H group in Exp 1. Disruption of mitochondria, loss of mitochondrial cristae and RER with dissociation of membrane bound ribosome were observed.

Table 7. Food consumption, final body weight and total body weight gain of rats in Exp 2.

Group	Food consumption (g/week)	Final body weight (g)	Total weight gain (g)	FER
Hr	121.1±13.3 <sup>1)ab<sup>2)</sup></sup>	144.4±18.0 ab	76.3±19.6 abc	0.087±0.024 abc
Hr+t	128.3± 7.9 a	170.7±17.4 a	102.9±18.0 a	0.111±0.016 a
Mr	102.4± 7.5 bc	133.5±11.0 bc	65.8± 8.8 bcd	0.092±0.008 abc
Mr+t	119.1±10.6 ab	155.2±15.3 a	87.6±17.0 ab	0.099±0.016 ab
Lr	88.7± 6.0 c	106.1±11.2 c	38.6±11.7 d	0.054±0.025 c
Lr+t	96.7± 6.4 b	117.5± 6.6 c	50.2± 6.1 cd	0.065±0.011 bc
Significant factor <sup>3)</sup>	A	A, B	A, B	A, B

1) Mean±S.D.

2) Values with different alphabet within the same column were significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffe's test

3) A : Effect of dietary carbohydrate level was significant at  $\alpha=0.05$  level by F-test

B : Effect of dietary tryptophan administration significant at  $\alpha=0.05$  level by F-test

량은 tryptophan을 투여하지 않았을 때보다 대체로 많은 경향을 보였는데 특히 Lr+t군의 식이 섭취량은 Lr군보다 유의적으로 많았다.

Reserpine을 투여했을 때 실험 종료시 체중과 체중 증가량은 식이 탄수화물 수준에 따라 유의적인 차이를 보여 Hr군이 Lr군보다 무거웠다. Reserpine 투여후 tryptophan을 투여한 Hr+t군, Mr+t군, Lr+t군의 체중과 그 증가량도 tryptophan을 투여하지 않은 군보다 무거웠다. FER은 reserpine 투여시 식이 탄수화물

수준에 따른 차이가 유의적이어서 Hr군이 Lr군보다 높았으며 reserpine 투여후 tryptophan 투여 유무에 따른 차이도 역시 유의적이어서 Hr+t군, Mr+t군, Lr+t군 모두에서 tryptophan을 투여하지 않은 군보다 높은 경향을 보였다.

## 2) 혈장내 유리 아미노산 농도

실험 군간에 혈장내 유리 아미노산 농도를 비교한 결과, Table 8과 같았다. Reserpine을 투여했을 때 ser-



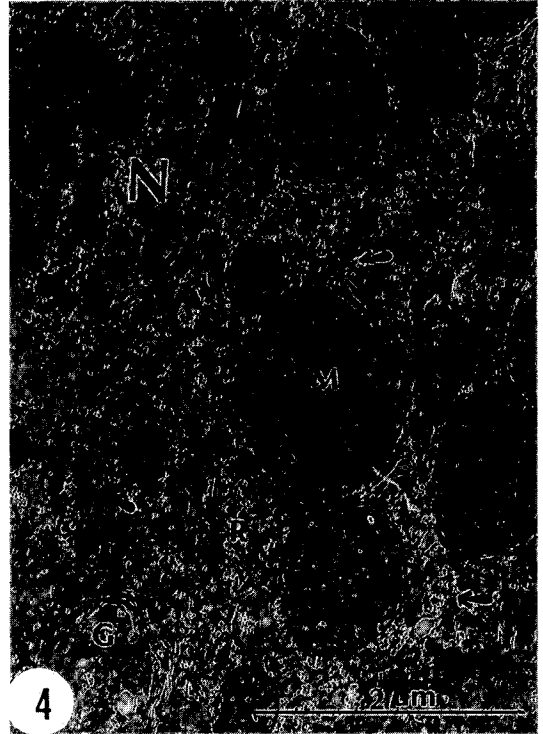
**Fig. 3.** The electron micrograph of M group in Exp 1. Disruption of mitochondria, RER with slight dissociation of membrane bound ribosome and glycogen particles aggregated around RER were observed.

ine을 제외한 대부분의 아미노산 농도는 식이 단백질 수준이 다른 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 threonine, glycine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, histidine, glutamate 농도는 식이 탄수화물 수준이 낮을 때 높은 경향을 보였으며 taurine, aspartate, glutamine, tyrosine, lysine 농도는 반대로 낮은 경향이였다.

한편 혈장 아미노산 농도는 tryptophan 투여 유무에 따른 차이가 매우 유의적이어서 taurine, aspartate, glycine, tyrosine, phenylalanine, lysine, histidine, arginine 농도는 Hr+t군, Mr+t군, Lr+t군 모두에서 tryptophan을 투여하지 않은 군보다 감소하는 경향을 보였으며 asparagine, isoleucine 농도는 세 군 모두에서 증가하는 경향을 보였다.

혈장내 유리 serine, valine, leucine 농도는 tryptophan 투여에 의한 차이 및 식이 탄수화물 수준과 tryptophan 투여간의 상호 작용에 따른 차이가 유의적이어서 tryptophan을 투여한 Mr+t군에서는 tryptophan을 투여하지 않은 Mr군보다 유의적으로 감소하였으나 Hr+t군이나 Lr+t군의 경우에는 변화가 없었다.

혈장내 유리 proline 농도는 식이 탄수화물 수준,



**Fig. 4.** The electron micrograph of L group in Exp 1. Severely swollen mitochondria, smooth endoplasmic reticulum(SER, arrow) near the nucleus were observed. G : Golgi's complex.

tryptophan 투여 및 두 인자간의 상호 작용에 따른 차이가 모두 유의적이였다. 따라서 tryptophan을 투여한 Lr+t군에서는 tryptophan을 투여하지 않은 군보다 유의적으로 증가하였으며 Mr+t군에서는 유의적인 것은 아니었으나 다소 증가하는 경향을 보인 반면, Hr+t군에서는 변화하지 않았다. 한편 혈장내 유리 threonine, alanine, cystine, methionine, glutamate 농도는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

실험군간에 혈장내 필수 아미노산, 불필수 아미노산 및 총 아미노산 농도를 비교한 결과, Table 9에서 보는 바와 같았다. 필수 아미노산과 불필수 아미노산 농도는 reserpine이나 tryptophan을 투여했을 때 모든 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 tryptophan 투여로 다소 감소하는 경향을 보였으며 총 아미노산 농도도 유사한 경향을 보였다.

한편, Whitehead & Dean 아미노산 농도비는 reserpine 투여시 식이 탄수화물 수준에 따른 차이는 없었다. 그러나 reseprine 투여후 tryptophan을 투여했을때 식이 탄수화물 수준에 따른 차이가 유의적이어서 아미노산 농도비는 Hr+t군에서 tryptophan을 투여하지 않은 군보다 유의적으로 낮아졌으나 Mr+t군과 Lr+t군에서

**Table 8.** Plasma free amino acid concentrations of rats in Exp 2 ( $\mu\text{M/L}$ )

Group	Taurine	Aspartate	Threonine	Serine
Hr	119.9 $\pm$ 17.8 <sup>1) a<sup>2)</sup></sup>	54.1 $\pm$ 5.3 a	218.2 $\pm$ 58.3 ns <sup>3)</sup>	389.4 $\pm$ 41.8 b
Hr+t	75.1 $\pm$ 43.0 ab	37.4 $\pm$ 15.6 ab	291.7 $\pm$ 37.2	334.0 $\pm$ 83.3 b
Mr	97.0 $\pm$ 22.8 ab	51.3 $\pm$ 3.8 ab	274.0 $\pm$ 61.9	676.0 $\pm$ 229.8 a
Mr+t	66.0 $\pm$ 13.7 ab	33.7 $\pm$ 4.0 b	333.5 $\pm$ 77.3	309.9 $\pm$ 53.7 b
Lr	86.5 $\pm$ 29.0 ab	49.1 $\pm$ 11.5 ab	343.9 $\pm$ 284.2	446.1 $\pm$ 171.1 b
Lr+t	58.3 $\pm$ 18.7 b	36.9 $\pm$ 6.1 ab	377.0 $\pm$ 115.7	359.2 $\pm$ 45.6 b
Significant factor <sup>4)</sup>	B	B		B, AB
Group	Asparagine	Glutamine	Proline	Glycine
Hr	35.9 $\pm$ 7.1 ns	483.7 $\pm$ 189.1 ns	33.8 $\pm$ 22.8 b	382.4 $\pm$ 46.6 ns
Hr+t	59.9 $\pm$ 13.1	327.3 $\pm$ 90.5	24.6 $\pm$ 19.9 b	295.6 $\pm$ 67.3
Mr	28.5 $\pm$ 5.6	249.2 $\pm$ 89.4	34.1 $\pm$ 31.5 b	587.3 $\pm$ 251.9
Mr+t	55.2 $\pm$ 16.4	402.8 $\pm$ 87.2	61.8 $\pm$ 36.0 ab	342.9 $\pm$ 57.4
Lr	44.8 $\pm$ 40.5	340.8 $\pm$ 233.5	20.5 $\pm$ 25.5 b	456.7 $\pm$ 258.0
Lr+t	48.0 $\pm$ 6.2	515.3 $\pm$ 66.4	98.7 $\pm$ 22.6 a	362.5 $\pm$ 50.2
Significant factor	B	AB	A, B, AB	B
Group	Alanine	Valine	Cystine	Methionine
Hr	246.7 $\pm$ 77.6 <sup>1) ns<sup>3)</sup></sup>	176.0 $\pm$ 16.3 ns	17.9 $\pm$ 10.3 ns	12.7 $\pm$ 18.9 ns
Hr+t	317.8 $\pm$ 108.6	193.3 $\pm$ 43.7	20.6 $\pm$ 2.3	8.0 $\pm$ 11.1
Mr	199.9 $\pm$ 39.3	215.6 $\pm$ 35.7	19.8 $\pm$ 1.8	10.7 $\pm$ 10.4
Mr+t	229.8 $\pm$ 32.7	139.8 $\pm$ 16.0	21.5 $\pm$ 10.6	0.0 $\pm$ 0.0
Lr	239.5 $\pm$ 50.0	205.6 $\pm$ 73.2	19.8 $\pm$ 14.0	33.3 $\pm$ 15.9
Lr+t	273.0 $\pm$ 47.0	167.2 $\pm$ 23.5	18.6 $\pm$ 3.1	7.3 $\pm$ 16.2
Significant factor	A,B	AB		B
Group	Isoleucine	Leucine	Tyrosine	Phenylalanine
Hr	32.4 $\pm$ 6.9 b	292.8 $\pm$ 33.0 ab	117.4 $\pm$ 14.3 ns	62.5 $\pm$ 13.1 ab
Hr+t	73.7 $\pm$ 9.3 ab	283.9 $\pm$ 58.5 ab	92.9 $\pm$ 18.5	56.5 $\pm$ 19.8 ab
Mr	36.1 $\pm$ 9.0 b	344.9 $\pm$ 49.5 a	114.0 $\pm$ 9.6	68.5 $\pm$ 8.0 a
Mr+t	74.7 $\pm$ 23.1 ab	209.3 $\pm$ 14.4 b	82.0 $\pm$ 9.2	31.6 $\pm$ 7.9 b
Lr	52.6 $\pm$ 37.5 ab	318.5 $\pm$ 94.7 ab	109.2 $\pm$ 26.6	74.0 $\pm$ 29.3 a
Lr+t	95.0 $\pm$ 28.6 a	242.5 $\pm$ 33.3 ab	92.3 $\pm$ 10.8	47.5 $\pm$ 8.2 b
Significant factor	B	B	B	B
Group	Lysine	Histidine	Arginine	Glutamate
Hr	1149.1 $\pm$ 215.6 ns	92.4 $\pm$ 9.3 ns	439.9 $\pm$ 126.8 ns	1.3 $\pm$ 0.2 ns
Hr+t	912.1 $\pm$ 436.8	87.4 $\pm$ 24.3	377.9 $\pm$ 125.4	0.8 $\pm$ 0.5
Mr	1219.6 $\pm$ 278.7	116.2 $\pm$ 25.8	492.4 $\pm$ 143.4	1.5 $\pm$ 0.3
Mr+t	701.8 $\pm$ 168.4	67.1 $\pm$ 10.7	300.8 $\pm$ 21.9	1.1 $\pm$ 0.4
Lr	975.4 $\pm$ 244.3	119.0 $\pm$ 56.7	452.0 $\pm$ 87.7	8.5 $\pm$ 9.6
Lr+t	828.7 $\pm$ 217.0	91.6 $\pm$ 17.8	316.3 $\pm$ 38.8	1.3 $\pm$ 0.4
Significant factor	B	B	B	

1) Mean  $\pm$  S.D.2) Values with different alphabet within the same column significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffe's test3) Not significant at  $\alpha=0.05$  level by Scheffe's test4) A : Effect of dietary carbohydrate level was significant at  $\alpha=0.05$  level by F-testB : Effect of dietary tryptophan administration was significant at  $\alpha=0.05$  level by F-testAB : Interaction between A & B factor was significant at  $\alpha=0.05$  level by F-test

는 차이를 보이지 않았다.

## 3) 간 무게와 microsomal cytochrome P 450 함량

각 군간에 간 무게와 microsomal cytochrome P

450 함량을 비교한 결과는 Table 10에서 보는 바와 같았다. Reserpine을 투여했을 때 Lr군의 간 무게는 Hr군의 것보다 유의적으로 낮았으며 reserpine 투여후 tryptophan 투여했을 때 식이 탄수화물 수준에 의한 차



**Table 9.** Plasma essential, nonessential and total amino acid concentrations of rats in Exp 2 ( $\mu\text{M/L}$ )

Group	Essential amino acid	Nonessential amino acid	Total amino acid	Ratio <sup>5)</sup>
Hr	2475.1 ± 393.9 <sup>1)ns<sup>2)</sup></sup>	1762.3 ± 773.5 ns	4237.4 ± 565.4 ns	2.7 ± 0.4 a <sup>3)</sup>
Hr+t	2284.6 ± 621.5	1510.9 ± 350.1	3795.5 ± 946.3	1.8 ± 0.3 b
Mr	2778.0 ± 419.6	1961.5 ± 346.1	4739.5 ± 709.3	2.7 ± 0.4 a
Mr+t	1858.7 ± 239.3	1540.3 ± 239.3	3399.6 ± 397.0	2.6 ± 0.4 a
Lr	2574.3 ± 857.1	1734.9 ± 760.1	4309.2 ± 1613.6	2.1 ± 0.3 ab
Lr+t	2173.1 ± 411.5	1805.8 ± 202.8	3978.8 ± 608.5	2.5 ± 0.3 ab
Significant factor <sup>4)</sup>	B	B		A

1) Mean ± S.D.

2) Not significant at  $\alpha=0.05$  level by Scheffe's test

3) Values with different alphabet within the same column were significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffe's test

4) A : Effect of dietary carbohydrate level was significant at  $\alpha=0.05$  level by F-test

B : Effect of dietary tryptophan administration was significant at  $\alpha=0.05$  level by F-test

AB : Interaction between A & B factor was significant at  $\alpha=0.05$  level by F-test

5) Whitehead & Dean ratio

$$\text{ratio} = \frac{\text{gly} + \text{ser} + \text{glm} + \text{tau}}{\text{val} + \text{leu} + \text{lleu} + \text{met}}$$

**Table 10.** Liver weight and microsomal cytochrome P 450 contents of rats in Exp 2.

Group	Liver weight (g)	Microsomal cytochrome P 450 (nM/mg liver protein)
Hr	4.85 ± 0.93 <sup>1)b<sup>2)</sup></sup>	0.80 ± 0.74 ns <sup>3)</sup>
Hr+t	4.97 ± 0.35 b	0.79 ± 0.34
Mr	4.38 ± 1.01 ab	1.04 ± 0.71
Mr+t	5.01 ± 0.85 b	0.94 ± 0.59
Lr	3.14 ± 0.22 a	1.17 ± 0.38
Lr+t	3.42 ± 0.31 a	0.88 ± 0.58
Significant factor <sup>4)</sup>		A

1) Mean ± S.D.

2) Values with different alphabet within the same column were significantly different at  $\alpha=0.05$  level by Scheffe's test

3) Not significant at  $\alpha=0.05$  level by Scheffe's test

4) A : Effect of dietary carbohydrate level was significant at  $\alpha=0.05$  level by F-test

이가 유의적이어서 Mr+t군의 간 무게가 tryptophan을 투여하지 않은 군보다 다소 무거운 경향을 보인 반면 Hr+t군이나 Lr+t군에서는 별 차이를 보이지 않았다.

간 microsomal P 450 함량은 각 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 reserpine 투여시 탄수화물 수준이 낮은 Lr군에서 Hr군이나 Mr군보다 대체로 낮은 경향을 보였으며 reserpine 투여후 tryptophan 투여로 cytochrome P 450 함량이 세군 모두에서 낮아지는 경향을 보였다.

#### 4) 간 세포의 전자현미경 관찰 소견

각 실험군간에 reserpine과 tryptophan을 투여 유무에 따른 간세포의 미세구조는 Fig. 5~10과 같았다.

Reserpine 투여후 tryptophan을 투여하지 않은 Hr군

의 간세포에서는 mitochondrial cristae가 대단히 불분명하며 ribosome이 감소된 RER 주변으로 유리 ribosome과 glycogen 입자가 엉켜있었다(Fig. 5). 반면에 tryptophan을 투여한 Hr+t군의 간세포에서는 거의 정상적인 형태의 mitochondria와 RER이 관찰되나 RER은 ribosome이 부분적으로 감소되어 있으며 glycogen 과립이 mitochondria 주변의 RER에 집중적으로 몰려 있었다(Fig. 6).

한편, reserpine 투여후 tryptophan을 투여하지 않은 Mr군의 간세포에서는 mitochondria의 막과 cristae 구조가 희미하고 많이 손상된 형태로 관찰되었다. RER은 ribosome이 대단히 감소되어져 있었으며 lipofuscin이 발견되었다(Fig. 7). 그러나 tryptophan을 투여한 Mr+t군에서는 mitochondria 막 구조와 cristae가 Mr군보다 비교적 선명하게 나타나지만 RER은 부착 ribosome이 감소되었으며 RER 간격이 확장되어 있었다(Fig. 8).

Reserpine 투여후 tryptophan을 투여하지 않은 Lr군의 간세포에서는 mitochondria의 막 구조가 선명하지 않으며 cristae 배열이 매우 불규칙하였다. RER과 glycogen이 거의 관찰되지 않은 반면, 여러 lipofuscin이 보였다(Fig. 9). Tryptophan을 투여한 Lr+t군에서도 mitochondria의 막구조와 cristae가 몹시 불분명하였으며 mitochondria가 엉켜 있었다. 한편 RER은 부착 ribosome이 거의 감소하고 RER 간격이 확장되어 있을 뿐 아니라 유리 ribosome이 RER 간격에 집중되어 있었다(Fig. 10). 특히 Lr 군과 Lr+t군에서는 다른 군들과는 달리 핵막 부위가 함몰되거나 변형되어져 있어 관찰되었다.



Fig. 5. The electron micrograph of Hr group in Exp 2. Severe disruption of mitochondrial cristae, glycogen particles aggregated near RER, and RER with dissociation of membrane bound ribosome were observed.

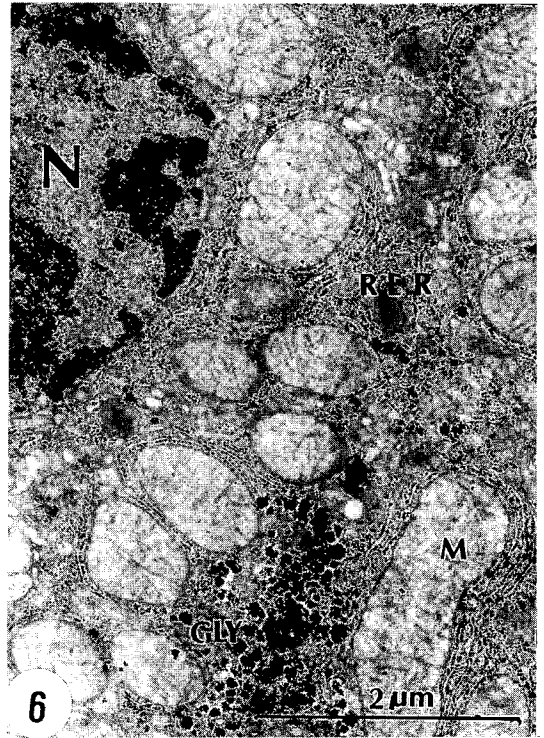


Fig. 6. The electron micrograph of Hr+t group in Exp 2. Normal mitochondria and RER, and glycogen aggregated near RER were observed.

### 고찰 및 결론

일반적으로 체내에 유입된 약물은 간 조직의 세포내 endoplasmic reticulum에서 산화환원 및 분해된 후 다른 대사물질로 전환되거나 또는 다른 물질과 결합되어 불활성화되는 단계의 대사과정을 거치며 담낭이나 신장을 통해 배설된다. 이때에 체 단백질과 혈액 아미노산을 비롯한 지방 및 niacin, Vit B2, Cu, Fe 등의 영양소를 이용한다<sup>14)</sup>. 특히 약물 대사과정에서는 glucuronic acid와 glycine, glutamine, methionine 등의 아미노산과 microsomal cytochrome P 450의 이용이 증대된다. 또한 단백질이 결합된 식이를 섭취한 동물에게 약물을 투여했을 때 간 microsomal cytochrome P 450 활성이 50% 이상 감소하며 간 단백질 함량은 감소하고 지방 함량은 증가한다고 하였다<sup>15)16)</sup>.

본 실험에서는 실험 동물의 두뇌 serotonin 함량을 감소시키기 위해 6% casein 식이와 함께 reserpine을 투여하였으며 serotonin 함량을 증가시키기 위해 tryptophan을 투여하였으므로 실험 동물은 단백질 결핍과

더불어 약물 대사를 위한 영양소 소모가 증가되어 심한 영양 결핍 증세를 보일 가능성이 높으며 이때 식이 탄수화물 수준에 따라 영양 결핍 정도가 달라질 것으로 보인다.

식이 탄수화물 수준이 높은 저단백식을 섭취한 실험 동물의 식이섭취량은 탄수화물 수준이 낮은 저단백식을 섭취한 동물보다 증가하였고 실험 종료시 체중도 더 무거웠으며 식이효율(FER) 또한 더 높았다. Reserpine 투여후 tryptophan을 투여했을 때도 식이 탄수화물 수준이 높은 식이를 섭취한 동물의 식이섭취량이 식이 탄수화물 수준이 낮은 식이를 섭취한 동물보다 많았으며 실험 종료시 체중도 더 무거웠으며 식이 효율도 높아지는 경향을 보였다.

혈액 아미노산 농도의 변화는 영양상태에 따라 민감하게 반응하며 동시에 항상성 유지기전이 신속하게 이루어지는 것으로 알려져 있으나<sup>17)18)</sup> 최근 간 질환나 암과 같은 질환의 진단 및 임상적 치료를 목적으로 혈액 및 조직의 아미노산 농도에 관한 관심이 증대되고 있다. 그런 연구 결과에 의하면 증세에 따라 다양한 profiles을 보여서 간경화증세에서는 혈장내 방향족 아미노산과 methionine 농도가 높아지며<sup>19)</sup> 간암의 경우에는 혈장

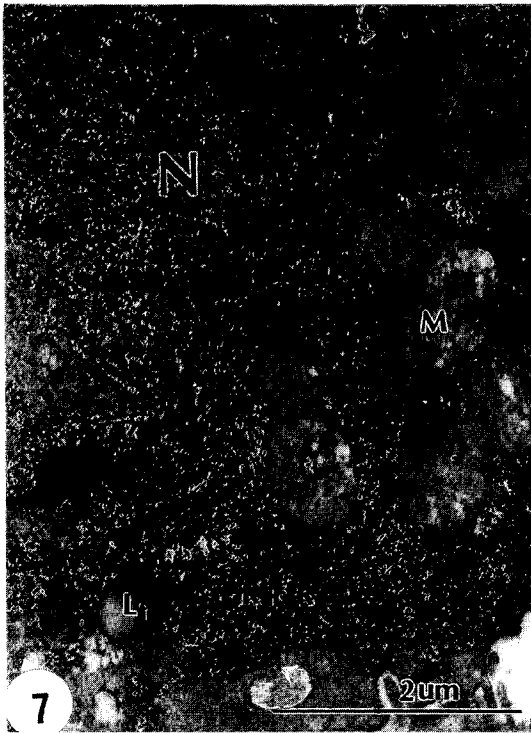


Fig. 7. The electron micrograph of Mr group in Exp 2. Severe disruption of mitochondria and RER, and lipofuscin(Lf) were observed.

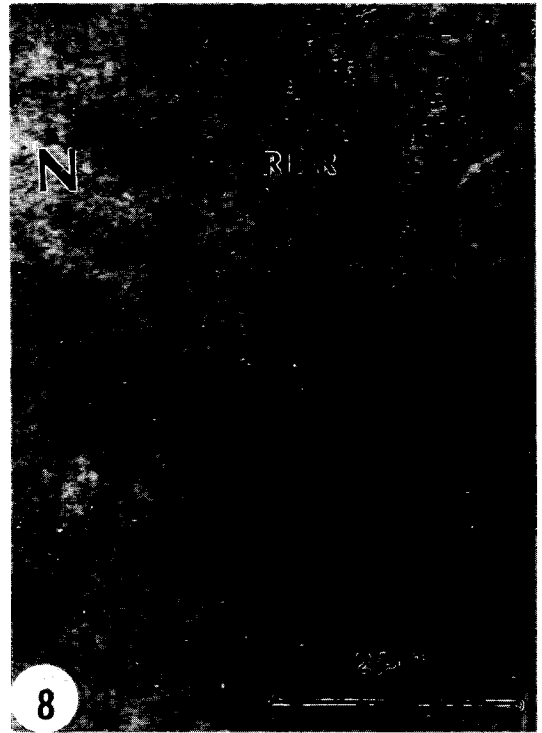


Fig. 8. The electron micrograph of Mr+t group in Exp 2. Dilatation of cristae of RER accompanied with dissociation of membrane bound ribosome was observed.

methionine, phenylalanine, tyrosine 농도가 정상인이나 간경화 경우보다 높아진다<sup>20)</sup>. 여자들 경우 breast cancer 환자의 혈장내 총 아미노산, 필수 아미노산, branched 아미노산, 방향족 아미노산 농도가 다른 부위의 암환자나 정상인 혈장 아미노산 농도보다 유의적으로 높아지며<sup>21)</sup> gluconeogenic amino acid는 감소하는 경향을 보이고 tryptophan, glutamate는 증가하였으나 lung cancer의 경우는 gluconeogenic amino acid 농도가 정상이고 tryptophan, glutamate, taurine 농도는 감소하는 경향을 보인다고 하였다<sup>22)</sup>. 본 연구의 실험 결과, threonine, leucine을 비롯한 대부분의 아미노산 농도가 식이 탄수화물 수준이 높을 수록 높게 나타났으며 glutamate 농도는 식이 탄수화물 수준이 낮을 때 높은 경향을 보였다. Reserpine 투여시 대부분의 혈장 아미노산 농도는 각군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. Reserpine투여후 tryptophan 투여 유무에 의한 차이는 유의적이어서 tryptophan을 투여했을때 혈장 phenylalanine과 leucine 농도는 낮아졌으며 proline, isoleucine 농도는 상승하였다. 저단백 식이를 섭취하는 실험 동물들의 간대사가 저하되고 더우기 약물을 투여하였으므로 간의 해독 대사과정으로 인한 이중 부담으로

그 기능이 저하된다는 것을 예상할 수 있으며 실험 결과를 통해 간기능 장애가 어느 정도 있었던 것으로 판단된다. 혈장과 조직의 leucine, isoleucine 등 branched-chain amino acid와 proline 농도는 다른 아미노산에 비해 항상성 유지가 쉽지 않으며<sup>23)</sup>, 혈액내 농도 변화는 영양 상태(5%~75% protein diet)에 관계없이 간 기능 변화를 대변한다는 보고<sup>24)25)</sup>는 흥미롭다.

저단백 식이를 섭취한 실험동물의 혈장 아미노산 농도를 필수, 불필수 및 총 아미노산 농도의 측면에서 비교했을 때 전반적으로 아미노산 농도가 낮은 수준이었으며 탄수화물 수준에 따른 차이를 볼 수 없었다. 또한 reserpine 투여후 tryptophan 투여를 하였을때 혈장 아미노산 농도는 다소 낮아지는 경향을 보이긴 했으나 유의적인 차이는 아니었다. 한편 Whitehead & Dean<sup>13)</sup>은 영양 상태가 양호할 때는 여덟가지 아미노산의 ratio 값은 평균 1.5이며 심한 영양불량 상태에서는 3.5~5.0의 값을 보인다고 제시하였다. 식이 탄수화물 수준이 서로 다를 때 아미노산 ratio는 2.0~3.0 수준을 보여 mild 한 영양불량 상태라고 판정하였다. 한편 식이 탄수화물 수준이 높을때 tryptophan 투여로 이 ratio는 1.8 수준의 값을 보여서 저단백 식이를 섭취함에도 불구하고

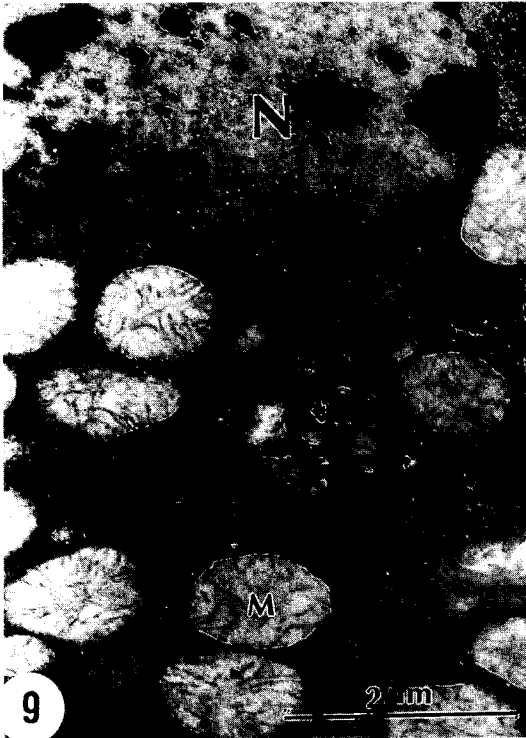


Fig. 9. The electron micrograph of Lr group in Exp 2. Irregular cristae of mitochondria and some lipofuscins were observed. RER and glycogen particles were not observed.

거의 정상 수준에 가까운 수치를 보였다.

많은 약물 대사는 간 기능에 따라 달라지며 적당한 영양 상태의 유지가 간 기능을 정상적으로 유지시킨다. 특히 간의 약물대사 과정에 관여하는 효소로 cytochrome P 450, oxidase, sulfotransferase, glucuronoltransferase, glutathione transferase 등이 알려져 있다<sup>26)</sup>. 정상적인 흰쥐의 간 microsomal cytochrome P 450 농도는 대략 1.5 nmoles/mg protein 인데<sup>8)</sup> 본 연구에서는 실험 동물의 간 microsomal cytochrome P 450 함량이 전반적으로 낮아서 1.32~0.72 nmole/mg protein 수준으로 나타났으며 실험군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 약물을 투여하기 전인 실험 1에서는 식이 탄수화물 수준이 낮을 때 간 microsomal cytochrome P 450 함량이 낮은 경향을 보였으며 약물 투여 기간인 실험 2에서는 reserpine을 투여하였을 때 탄수화물 수준이 낮을 수록 cytochrome P 450 함량이 오히려 높은 경향을 보인 반면, tryptophan을 투여한 경우에 tryptophan을 투여하지 않은 경우보다 cytochrome P 450 수준이 낮아지는 경향을 보였다. 본 연구에서는 cytochrome P 450의 함량변화를 비교하였으므로 그 활성 정도를 정확히 알

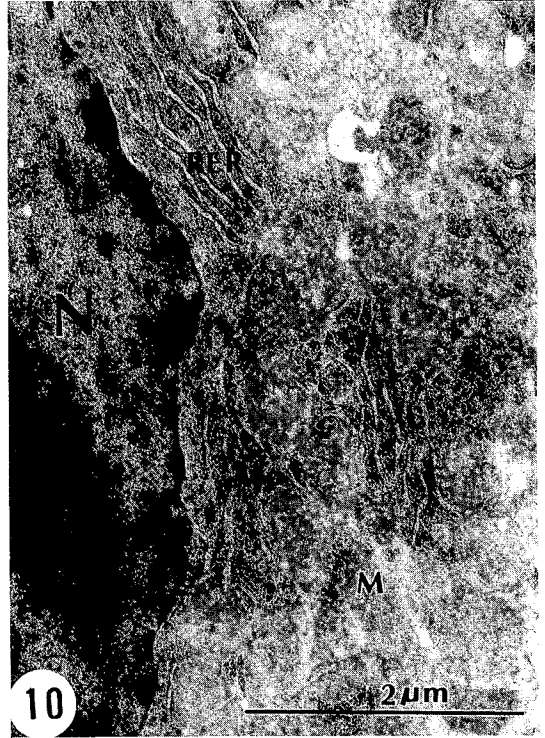


Fig. 10. The electron micrograph of Lr+H group in Exp 2. Severely disrupted and aggregated mitochondria, and dilatation of cristae of RER were observed.

수 없으나 혹시 reseprine 투여시 탄수화물 수준이 낮은 군에서 그 함량이 높은 것은 활성저하에 대한 보상 작용으로 간세포의 cytochrome P 450 함량을 최대한 증가시킨 때문으로 생각할 수 있다. 한편, tryptophan 투여시 모든 실험군에서 cytochrome P 450 함량이 낮아진 것은 활성이 다소 높아졌기 때문으로 생각된다. Hayes나 Mgbodile에 의하면 단백질이 결핍된 식이를 섭취한 흰쥐에게 약물을 투여할 때 cytochrome P 450 활성이 50% 이상 감소한다<sup>15)16)</sup> 고 하였다. 한편, 식이 탄수화물 수준이 낮아질때 상대적으로 지방 수준이 높아져서 실제로 실험군의 식이 지방 함유율은 각기 1%, 11%, 20% 이었다. 그것이 cytochrome P 450 함량 변화에 영향을 줄 가능성을 배제할 수 없으나 Sitar<sup>28)</sup>는 식이 지방을 4%~28%까지 증가시켰을때 간 cytochrome P 450 농도 차이가 없다고 하였으므로 식이 지방 수준에 의한 효과는 크지 않았을 것으로 생각된다. 여러 실험<sup>29)30)</sup>에서 분석된 간 microsomal cytochrome P 450 함량은 다소간 차이가 있으며 식이 지방의 종류나 함량에 따른 약물 투여 효과의 결과를 살핀 타 연구들과 isocaloric diet를 조성하는 과정에서 생긴 식이 지방의 차이에 따른 약물 투여 효과의 결과를 비교한 본 연구의 결과를 직접 비교

하기에는 무리한 점이 없지 않다.

한편, 광학 현미경으로 실험군의 간조직을 정상 쥐와 비교했을 때, 정상쥐의 간세포가 서로 조밀하게 연결되어 있으며 central vein으로 부터 sinuoidal space를 따라 규칙적인 배열을 하고 있는 것과는 달리, 실험군에서는 전반적으로 세포 배열이 불규칙하며 세포 간격이 느슨해졌음이 관찰되었다. 그러한 경향은 탄수화물 수준이 높은 식이를 섭취한 H군에서는 비교적 심하지 않은 것으로 보였으며 탄수화물 수준이 낮은 식이를 섭취하는 L군에서 뚜렷하게 나타났다. 같은 부위에 대해 전자현미경 관찰 결과, 모든 실험군에서 세포 미세 구조의 변화가 심하게 일어났음을 알 수 있었다. 전반적으로 세포내 mitochondria가 팽윤되고 부착 ribosome이 감소되어 RER의 표면이 미끈해졌으며 glycogen 입자가 감소되었다. 식이 탄수화물 수준이 낮을수록, reserpine을 투여했을 때 그러한 간 세포의 미세구조 변화는 더욱 심하게 나타나서 세포질내 glycogen 입자가 현저히 감소하였으며 lipofuscin이 관찰되었다. 그러나 tryptophan을 투여했을 때 간세포는 대체로 회복되며 식이 탄수화물 수준이 높을때 그러한 경향이 뚜렷해서 mitochondria의 막구조가 분명해지고 RER에 ribosome이 증가하며 glycogen 입자가 증가하였다. 이러한 관찰 결과는 DNA, RNA나 단백질 합성을 억제하는 cyclohexamide<sup>31)</sup>나 Cd<sup>32)</sup>, Hg<sup>33)</sup>, telluric acid<sup>34)</sup> 같은 중금속들을 동물에게 투여했을 때 간세포에서 나타나는 구조적 변화와 매우 유사하였다. 약물 종류, 투여량과 기간에 따라 그 변화 정도는 차이를 보일 수 있으며 영양 상태에 따라서도 달라질 수 있는데, Cd의 경우는 고단백 식이에서 간세포 미세구조의 변화를 줄일 수 있었던 반면<sup>32)</sup>, 본 실험에서와 같이 저단백 식이의 경우에는 식이 탄수화물 수준이 높을 때 약물 투여에 의한 간 세포 손상을 감소시킬 수 있음을 보여 주었다. 따라서 조직학적으로 보았을 때 저단백 식이를 섭취하는 실험동물에게 식이 탄수화물 수준을 높일 때 reserpine 투여로 인한 간 손상을 줄이는 경향을 보였으며 tryptophan 투여는 저단백 식이와 reserpine투여로 인한 간 손상을 회복시키는 효과를 보였는데 이 경우에도 역시 식이 탄수화물 수준이 높을수록 효과적으로 회복되는 경향을 보였다.

본 연구의 결과를 정리해 보면 다음과 같다. 저단백 식이를 섭취한 실험 동물은 식이 탄수화물 수준이 높을 때 식이 섭취량이 많고 체중이 무거우며 식이 효율이 높게 나타났으며, reserpine 투여후 tryptophan을 투여했을 때 식이 탄수화물 수준이 높은 식이를 섭취한 동물의 식이 섭취량이 식이 탄수화물 수준이 낮은 식이를 섭취한 동물보다 많았으며 실험 종료시 체중도 더 무거웠

며 식이 효율도 높아지는 경향을 보였다. 저단백 식이를 섭취한 실험동물의 혈장 아미노산 농도를 필수, 불필수 및 총 아미노산 농도의 측면에서 비교했을 때 전반적으로 아미노산 농도가 낮은 수준이었으며 탄수화물 수준에 따른 차이를 볼 수 없었다. 또한 reserpine 투여후 tryptophan을 투여하였을 때 혈장 아미노산 농도는 다소 낮아지는 경향을 보이긴 했으나 유의적인 차이는 아니었다. 실험동물의 간 microsomal cytochrome P450 함량이 전반적으로 낮아서 1.32~0.72 nmole/mg protein 수준으로 나타났으며 실험군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 조직학적으로 보았을 때 저단백 식이를 섭취하는 실험동물에게 식이 탄수화물 수준을 높일 때 reserpine 투여로 인한 간 손상을 줄이는 경향을 보였으며 tryptophan 투여는 저단백 식이와 reserpine투여로 인한 간 손상을 회복시키는 효과를 보였는데 이 경우에도 역시 식이 탄수화물 수준이 높을 수록 효과적으로 회복되는 경향을 보였다.

결론적으로 저단백 식이에서 식이 탄수화물 수준 및 reserpine과 tryptophan 투여에 따른 영양상태의 변화를 알려 주는 영양 판정 지표들의 결과를 전자 현미경 관찰을 통한 간세포 미세구조의 변화와 비교했을 때, 식이 섭취량, 체중 증가량과 같은 일반적인 판정지표가 혈장 아미노산 농도나 간 microsomal cytochrome P 450 함량과 같은 기능적인 판정 기준보다 간 세포 미세구조의 변화와 일치하는 결과를 보였다.

### Literature cited

- 1) Rozan P. Are carbohydrates and protein intakes separately regulated? *J Comp Physio Psychi* 65 : 23-29, 1968
- 2) Ashley DVM, Anderson GH. Correlation between the plasma tryptophan to neutral amino acid ratio and protein intake in the self-selecting weanling rat. *J Nutri* 105 : 1412-1421, 1975
- 3) Harper AH, Nutritional assessment : Plasma amino acid concentration in relation to evaluation of nutritional status, *Ross Labo, Ohio*, 29-31, 1981
- 4) Wurtman JJ, Wurtman RJ. Drug that induce central serotonergic transmission diminish selective carbohydrate consumption by rats. *Lif Sci* 24 : 895-904, 1979
- 5) Burndell JE & Rogers PJ. Effect of anorexic drugs on food intake, food selection and preference and hunger motivation and subjective experiences. *Appetite* 1 : 151-165, 1980
- 6) 신동순 · 김미경. 식이 단백질 수준 및 tryptophan투여가 serotonin대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 26 : 231-247, 1993

- 7) 신동순. Reserpine과 tryptophan투여가 식이 단백질 섭취 수준이 다른 흰쥐의 혈액 아미노산 농도와 장기 구성 성분 에 미치는 영향. *대한가정학회지* 30 : 89-105, 1992
- 8) Omura T Sato G. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J Biol Chem* 239 : 2379-2388, 1964
- 9) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biochem* 193 : 256-275, 1951
- 10) 일본 병리학회, 응용 전자현미경학(손태중역). 한국학술진흥재단 62, 292-300
- 11) Biostatistics. The bare essentials, *Norman & Streiner*, 73-82, 1994
- 12) Mareja J. Norusis, SPSS/PC+ 매뉴얼(김영오 역) 기전연구사, 1990
- 13) Whitehead A. Protein-calorie malnutrition, *Edward Anold*, 155, 1977
- 14) Williams RT, Nutrients and drug interaction, *Acade Press*, 303-318 1980
- 15) Hayes JR, TC. Campell, Effect of protein deficiency on the inducibility of the hepatic microsomal drug metabolizing enzyme system, *Biochem, Pharmacol* 23 : 1921-31, 1974
- 16) Mgbodile MMK, Canbell. Effect of protein deprivation of male weanling rats on the kinetics of hepatic microsomal enzyme activity. *J Nutri* 102 : 53-60, 1972
- 17) Harper AH. The reviews of physiological chemistry, 19th (ed), 401, 1979
- 18) Young VR. Daily fluctuation of plasma amino acid levels in adult man : Effect of dietary tryptophan intake and distribution of meals. *J Nutri* 109, 291, 1971
- 19) Carcino A, Cangiano C, Fiaccadori F. Plasma and cerebro-spinal fluid amino acid patterns in hepatic encephalopathy. *Dig Dis Sci* 27 : 828-832, 1982
- 20) Watanabe A, Higashi T. Serum amino acid levels in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 54 : 1875-1882, 1984
- 21) Kubota A, Meguid MM, Hitch DC. Amino acid profiles correlate diagnostically with organ site in three kinds of malignant tumors. *Cancer* 69 : 2343-2348, 1992
- 22) Campos ACL, Meguid MM. Amino acid requirements in cancer : in Amino acid metabolism and therapy in health and nutritional disease, 411-421, 1994
- 23) Park Tae Sun, Rogers QR. Changes in Blood and tissue free amino acid concentrations in cats adapted to low- and high-protein diets. 28 : 976-985, 1995
- 24) Anton JM, Wagenmakers and Peter B Soeters. Metabolism of branched-chain amino acids, in Amino acid metabolism and therapy in health and nutritional disease 67-83, 1995
- 25) Giulio Marchesini, Adrea Fabbi, Giampalo Biabchi and Elisabetta Bigianesi. Branched-chain amino acids in liver disease, in Amino acid metabolism and therapy in health and nutritional disease, 337-345, 1995
- 26) Jan Hasik. Food and drug interactions, in Nutritional sciences for human health, Fifth European Nutrition Conference, *Smith Gordon*, 95-97, 1988
- 27) Madas BM, Munro HN. Relative of free tryptophan in serum to tissue tryptophan concentration. *Metabolism* 23 : 1107-1116, 1974
- 28) Sitar DS, Gordon ER. Effect of diet and drug on the qualitative and Quantitative distribution of cytochrome p450 in rat liver. *Can J Physiol Pharmacol*. 58 : 331-335, 1980
- 29) 최옥희 · 윤혜진 · 김정희. 만성 알콜 섭취시 2-acetylaminofluorene 투여가 흰쥐 간 Cytochrome P 450 및 Glutathione 이용효소계 활성화에 미치는 영향. *한국영양식량학회지* 24 : 859-866, 1995
- 30) 유정순 · 김초일 · 장경자. 쥐에서 2-acetylaminofluorene의 투여시기에 따라 식이 지방이 간의 지질과산화물 대사 및 cytochrome P450 함량에 미치는 영향. *한국영양학회지* : 442-450, 1994
- 31) 김수연 · 이규식. Cyclohexamide가 mouse의 간세포에 미치는 영향에 관한 전자현미경적 연구. *한국전자현미경학회지* 9 : 55-67 1979
- 32) 권오란 · 김미경. 식이 단백질과 Calcium 수준이 흰쥐의 Cadmium 중독 과정중 Metallothionein과 조직의 형태변화에 미치는 영향. *한국영양학회지* 25 : 360-378, 1992
- 32) 노재운 · 박찬일 · 연 건 · 이광길. 성별 및, 임신유무에 따른 염화수은의 간독성에 대한 실험적 연구. *한국전자현미경학회지* 9 : 21-33, 1979
- 33) 노미경 · 손성향 · 부문중 · 김용옥. 흰쥐 간조직에서의 비소처리 영향 및 비소 전처리 효과. *한국전자현미경학회지* 24 : 78-85, 1994
- 34) 손석주 · 정영길 · 조승목 · 백태경 · 최창도 · 최월봉. Teluric acid가 흰쥐 간조직의 미세구조에 미치는 영향. *한국전자현미경학회지* 25 : 83-103, 1995