

## Guinea pig에서 alcohol과 paraquat에 의한 갑상선 독성에 미치는 selenium의 방어 효과

김진상·강형섭

전북대학교 수의과대학

(1995년 9월 21일 접수)

### Protective effect of selenium on alcohol and/or paraquat-induced thyroid toxicity in guinea pigs

Jin-sang Kim, Hyung-sub Kang

College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University

(Received Sep 21, 1995)

**Abstract** : This study examined the effect of alcohol(AL) and/or paraquat(PQ) on serum TSH, thyroid hormones and enzyme activities, and the protective effect of selenium(SE) against alcohol and/or paraquat-induced thyroid toxicity in guinea pigs. The experimental group consisted of control, 15% alcohol(AL), 4ppm sodium selenite(SE), 200ppm paraquat(PQ), AL+PQ, AL+SE, PQ+SE and AL+PQ+SE mixed in drinking water-fed guinea pigs for 4 weeks. The morphological changes of thyroid gland were studied on paraffin-embedded sections stained with H-E stain. Body weight losses, high serum concentration in TSH and cholesterol, and low values in triiodothyronine(T<sub>3</sub>), thyroxine(T<sub>4</sub>), free T<sub>4</sub> and alkaline phosphatase(ALP) were produced in the groups fed AL and/or PQ. We also noted that AL+PQ-fed group was marked increase in serum TSH. In AL or AL+PQ-fed groups when compared to control group had increased the ratio of thyroid weight to body weight(ratio Twt/Bwt), whereas the ratio Twt/Bwt was decreased in SE or PQ-fed groups. However, the serum TSH, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, free T<sub>4</sub> and cholesterol values, and the ratio Twt/Bwt were reversed in groups given the combination of SE, compared with AL and/or PQ-fed groups. Also ALP values were reversed in groups given the combination of SE, compared with AL or AL+PQ-fed groups. In microscope, morphological changes showed a remarkable between the AL or PQ-fed group and controls. In AL+PQ+SE-fed guinea pig, follicular colloid is high density in thyroid follicle and increased in connective tissue around the thyroid cells, and thyroidal epithelia were composed of cuboidal or columnar epithelium. This indicated that the morphological changes of thyroid were direct action in the thyroid cell. The results of this study confirmed that the toxic effect of AL or PQ on thyroid occur independently of changes in liver function, and that SE confers marked protection against AL or PQ-induced thyroid toxicity.

**Key words** : thyroid hormone, selenium, alcohol, paraquat, TSH

\* 이 논문은 전북대학교 생체안전성 연구소 연구비에 의하여 수행되었음.

## 서 론

생체내 갑상선 호르몬은 많은 요인에 의해서 영향을 받는다. 약물은 물론 간질환, 영양결핍, 신질환, 바이러스성 감염증, 종양, 정신질환, 심근경색 및 외과적 수술 등에 의해서 변동된다. 이같은 비갑상선 질환(nonthyroid illness)에 의해서 변동될 수 있기 때문에 사람과 동물에서 갑상선 호르몬의 변동원인을 규명하거나 갑상선 질환과 구분하기에 어려움이 많다. 이들중 간질환시 thyroxine( $T_4$ )나 triiodothyronine( $T_3$ )이 저하되는데 그 이유는 다음과 같다. 첫째,  $T_4$ 와 결합하는 globulin(TBG)은 간에서 생산되기 때문에 간질환으로 TBG가 감소하거나  $T_4$ 와 TBG의 결합을 억제하는 요인이 있을 때 이 호르몬은 감소한다. 둘째,  $T_4$ 로 부터  $T_3$ 로 전환되려면 탈요오드화를 시키는 효소인 5'-deiodinase가 필요하다. 이 효소는 selenium-의존성 효소이기 때문에 selenium 결핍, 영양결핍 또는 당뇨병이 있을 때 감소되어 이 전환이 억제됨으로 혈중  $T_3$  농도가 감소한다.<sup>1,2</sup> 그래서 갑기능이 저하되면 갑상선 호르몬의 변동될 수 있다는 사실은 의심할 바 없다. 현재 내분비계에 대한 ethanol의 작용은 잘 알려져 있지 않다. 몇몇 단편적인 보고로서 ethanol이 혈중 갑상선 호르몬을 변동시키는데 비갑상선 질환과 다른 양상으로 갑상선 기능에 직접적으로 영향을 미치며<sup>3</sup> 만성 alcohol 섭취에 의한 간질환은 갑상선 호르몬 변동과 관련된다고 하였는데<sup>4</sup> 아직 이에 대한 포괄적이고 약리·독성학적 연구보고는 없다. 또한 최근 연구보고에 의하면 영양적으로 다양한 사료를 급여한 흰쥐에 ethanol을 급여할 경우 영양결핍과 관련된 갑상선 기능의 감소를 보고한 바 있으나<sup>5</sup> 갑상선 호르몬과 생체에너지 대사간의 밀접한 상호관계 때문에 ethanol, 영양상태와 갑상선 기능과의 관계에 대한 보고는 놀라운 사실이 아니다. 뿐만아니라 energy 대사에 대한 갑상선 호르몬과 ethanol의 영향은 많이 연구되었다. 한편 selenium 결핍은 동물의 성장지연 및 혈장이나 여러 기관에서 여러 효소계의 변동을 초래하는 생체의 필수 미량원소이며<sup>6</sup> 갑상선 호르몬 역시 동물에서 정상적인 생체대사를 유지하기 위한 필수적인 호르몬이다. 그러므로 이 selenium과 갑상선 기능과는 밀접하게 관련된 듯하다.<sup>7</sup> 생체의 항산화계에 필수성분인 selenium은 glutathione peroxidase의 구성성분이다.<sup>8</sup> 만약 selenium이 결핍된다면 체내에서 과다하게 생성된  $H_2O_2$ 에 의해서 세포는 손상을 받게 되지만<sup>9</sup> 또 한편으로는 갑상선에서 호르몬을 합성하기 위한 기질로써 어느정도  $H_2O_2$ 를 필

요로 하고 있다.<sup>10</sup> 그래서 selenium이 결핍된 동물에서  $T_4$ 가 증가된다는 보고<sup>11</sup>등 selenium에 의한 갑상선 호르몬 조절에 대해서는 비교적 많은 증거가 제시되어 있다.<sup>12,13</sup>

이제까지 alcohol과 갑상선 호르몬과의 관계를 밝힌 몇몇 논문은 있으나 parquat에 의한 갑상선 기능 변동에 대한 연구보고는 전혀 없다. 그래서 본 연구에서는 지질과산화물을 일으키는 두 약물을 guinea pig에 투여하여 직접적으로 갑상선에 독성작용을 하는지 아니면 간독성에 의한 2차적인 작용인지 또는 간장내 selenium의 변동을 초래한 갑상선 기능저하 인지를 알아보고 이들 독성에 대한 selenium의 방어효과를 관찰하였다.

## 재료 및 방법

**실험동물 및 약물처리** : 체중 250g 내외의 숫컷 guinea pig(7주령) 88수를 대조군, 4ppm selenium군, 15% alcohol군, 200ppm paraquat군, 15% alcohol+200ppm paraquat 혼합군, 4ppm selenium+15% alcohol 혼합군, 4ppm selenium+200ppm paraquat 혼합군 및 4ppm selenium+15% alcohol+200ppm paraquat 복합군 모두 8군으로 분류하였다(Table 1 참고). 약물의 투여는 각 군의 음수에 혼합하여 4주간 자유롭게 섭취하도록 하였다. Selenium(sodium selenite, Fluka)은 증류수에 녹인 4,000ppm의 원액을, paraquat(dipyridyl herbicides, 1-1-dimethyl-4, 4-bipyridium ion dichloride salts, 한정화학)은 증류수에 희석한 200,000ppm의 원액을 음수에 희석하였고, alcohol(99.9%, Hayman Limited)은 음수에 희석(15% v/v)하여 급여시켰다. 실험기간동안 사료(삼양사)는 모든 군에 자유롭게 섭취하도록 하였다.

**시료채취와 TSH, 갑상선 호르몬 및 생화학적 검사** : 4주 후 실험동물을 ether로 마취하여 고정된 후 복부정중선을 절개하여 복대동맥으로부터 채혈하였다. 혈액은 상온에서 응고시킨 다음, 원심분리(1,500rpm)하여 혈청을 얻은 즉시 automatic analyzer(Hitachi 7150, Japan)를 이용하여 혈청내 alkaline phosphatase(ALP) 및 cholesterol 함량을 측정하였고, TSH,  $T_4$ , free  $T_4$  및  $T_3$  농도측정은 냉동(-20°C) 보관했던 혈청을 효소면역측정법(enzyme immunoassay)으로 각각의 호르몬 측정 kit(Roche, Swiss)를 사용하여 시료에 전처치를 한 후 Cobas Corc(Roche)을 이용하여 측정하였다. 각각의 항목측정을 위해 3~100  $\mu$ l의 혈청이 사용되었다.

**Table 1.** Effect of selenium supplementation on body weights and thyroid gland weights in experimental animals

Groups	Thyroid gland wt. mg	Body wt. g	Thyroid wt/body wt. mg/kg	No. of animals
Control	73.28±5.49	454.4±23.5	161.27±8.67	11
4 ppm Selenium	66.65±4.65	450.4±24.7	147.98±7.37	9
15% Alcohol	58.56±2.53*	320.8±25.7**	182.54±7.77	13
200 ppm Paraquat	57.14±4.67*	383.4±22.0*	149.03±4.76	12
15% 200 ppm Alcohol+Paraquat	49.31±2.94***	252.8±10.2***	195.06±8.30**	12
4 ppm 15% Selenium+Alcohol	61.58±3.17	396.1±27.6	155.47±10.14 <sup>§</sup>	10
4 ppm 200 ppm Selenium+Paraquat	62.24±3.98	357.6±21.2	174.05±9.80 <sup>¶</sup>	9
4 ppm 15% 200 ppm Selenium+Alcohol+Paraquat	62.95±4.73 <sup>†</sup>	376.2±24.5 <sup>††</sup>	167.33±8.96 <sup>†</sup>	12

Values are means±SE.

All comparisons between group and group were made with a grouped t test.

\*P<0.05, \*\*P<0.02, \*\*\*P<0.001 compared with the control group.

<sup>§</sup>P<0.05 compared with the 15% alcohol group.

<sup>¶</sup>P<0.01 compared with the 200 ppm paraquat group.

<sup>†</sup>P<0.05, <sup>††</sup>P<0.001 compared with the 15% alcohol+200ppm paraquat group.

**조직소견 :** 채혈후 갑상선을 적출하여 무게를 측정 한 다음, 즉시 10% 중성 완충포르마린 용액에 넣어 고정하였다. 고정된 조직은 일반조직 처리과정을 거친 다음, paraffin 절편(4 $\mu$ m)을 만들어 H&E 염색 하여 조직병리학적 변화를 광학현미경으로 관찰하였다.

**통계처리 :** 각 군에서 얻어진 실험성적은 unpaired Student's t-test로 유의성을 검정하였다.

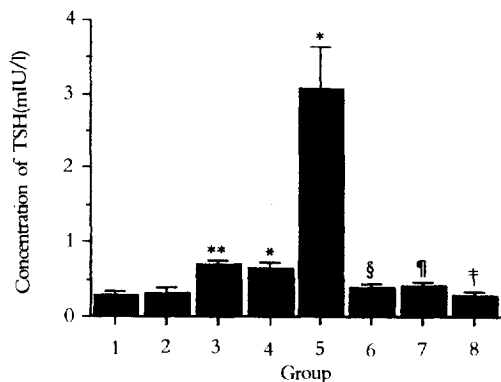
## 결 과

**체중 및 갑상선의 중량 :** 4주간 각각의 약물을 단독 또는 혼합급여한 결과 대조군과 selenium 급여군의 체중은 각각 454.4±23.5g과 450.4±24.7g으로 양군의 차이가 없었으나 alcohol, paraquat 및 alcohol-paraquat 급여군의 체중은 대조군보다 감소하였다. 상기 3개군에 selenium을 혼합급여한 결과 alcohol 급여군보다 selenium 혼합급여군에서 경미하게 증가되는 경향이였다. 특히 alcohol-paraquat 혼합급여군에서 체중과 갑상선 중량의 현저한 감소가 관찰되었고 여기에 selenium을 혼합급여한 결과 갑상선 중량이 유의하게 회복되었고 alcohol 및 Paraquat 단독급여군에 대한 selenium 혼합급여군 역시 회복된 경향으로 나타났다. 체중 kg당 갑상선의 중량비율

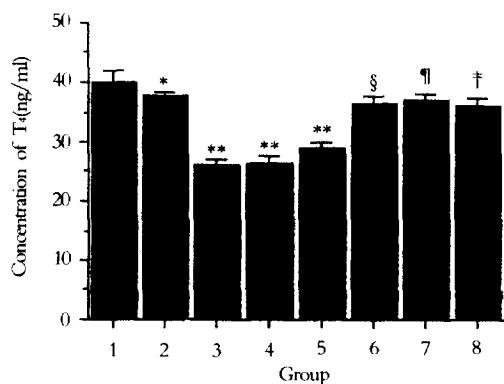
은 약물에 따라 각각 다른 결과가 관찰되었다. Selenium 및 paraquat 단독급여군에서 중량비가 감소되는 경향이였고 alcohol 및 alcohol-paraquat 급여군에서는 증가되었다. 그러나 alcohol, paraquat 및 alcohol-paraquat에 selenium 혼합급여군에서는 대조군과 비슷하였다. 즉, selenium 급여에 의해서 감소는 증가를, 증가는 감소를 나타내어 억제효과가 있음이 관찰되었다. 그리고 alcohol-paraquat 혼합급여군에서 현저한 체중 및 갑상선 중량감소가 관찰되었고 중량비는 현저히 증가되었을 뿐만아니라 이에 대한 selenium 억제작용도 뚜렷하게 나타났다(Table 1).

**TSH 농도 :** Alcohol 및 paraquat 단독급여군에서 혈중 TSH는 대조군 0.28±0.06(mIU/l)에 비하여 0.69±0.07 및 0.65±0.08로 유의성 있게 증가된 반면 alcohol 및 paraquat 단독급여군보다 selenium을 각각 혼합하여 급여한 군에서는 각각 0.38±0.07 및 0.41±0.05로 유의성 있게 감소되었다. 특히 alcohol-paraquat를 혼합급여군에서 3.08±0.55로 현저히 증가되었다. 그러나 alcohol-paraquat-selenium을 복합 급여한 군에서 TSH는 대조군과 비슷한 농도(0.28±0.05)로 측정되었다(Fig 1).

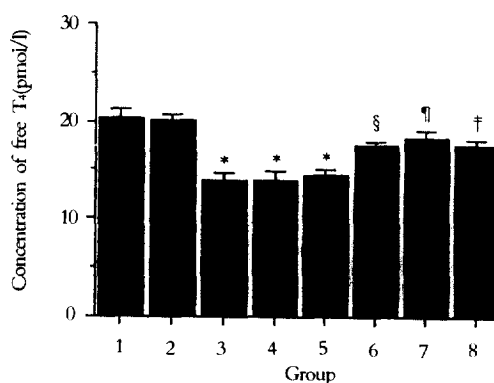
**T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> 및 free T<sub>4</sub> 농도 :** 대조군에서 혈중 T<sub>3</sub>가 0.79±0.04(ng/ml)이였고 alcohol과 paraquat 단독 또는 혼합급여군에서 각각 0.54±0.02, 0.59±0.03 및 0.55±0.03으로 현저히 감소되었다. 이들 3개군에 비하여



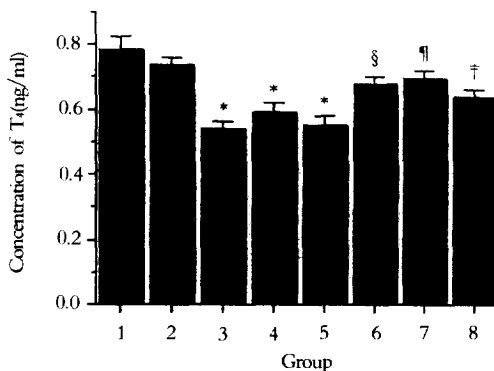
**Fig 1.** Effect of selenium supplementation on TSH release by alcohol and/or paraquat in guinea pigs. Group 1; control, tap water-fed, 2; 4ppm sodium selenite-fed, 3; 15% ethanol-fed, 4; 200ppm paraquat-fed, 5; 15% ethanol+200ppm paraquat-fed, 6; 15% ethanol+4ppm sodium selenite-fed, 7; 200ppm paraquat+4ppm sodium selenite-fed, 8; 15% ethanol+200ppm paraquat+4ppm sodium selenite-fed group. Values are means $\pm$ SE. All comparisons between group and group were made with a group t-test. \* $p < 0.005$ , \*\* $p < 0.001$  compared with the control group,  $^{\ddagger}p < 0.01$  compared with the 15% alcohol group,  $^{\text{¶}}p < 0.01$  compared with the 200ppm paraquat group,  $^{\text{†}}p < 0.005$  compared with the 15% alcohol+200ppm paraquat group.



**Fig 2.** Effect of selenium supplementation on serum T<sub>4</sub> decrease by alcohol and/or paraquat in guinea pigs. \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$  compared with the control group,  $^{\ddagger}p < 0.001$  compared with the 15% alcohol group,  $^{\text{¶}}p < 0.001$  compared with the 200ppm paraquat group,  $^{\text{†}}p < 0.005$  compared with the 15% alcohol+200ppm paraquat group. Other legends are the same as in Fig 1.



**Fig 3.** Effect of selenium supplementation on serum free T<sub>4</sub> decrease by alcohol and/or paraquat in guinea pigs. \* $p < 0.001$  compared with the control group,  $^{\ddagger}p < 0.001$  compared with the 15% alcohol group,  $^{\text{¶}}p < 0.005$  compared with the 200ppm paraquat group,  $^{\text{†}}p < 0.005$  compared with the 15% alcohol+200ppm paraquat group. Other legends are the same as in Fig 1.



**Fig 4.** Effect of selenium supplementation on serum free T<sub>3</sub> decrease by alcohol and/or paraquat in guinea pigs. \* $p < 0.005$  compared with the control group,  $^{\ddagger}p < 0.001$  compared with the 15% alcohol group,  $^{\text{¶}}p < 0.01$  compared with the 200ppm paraquat group,  $^{\text{†}}p < 0.05$  compared with the 15% alcohol+200ppm paraquat group. Other legends are the same as in Fig 1.

selenium을 추가하여 급여한 결과 각각  $0.68 \pm 0.02$ ,  $0.70 \pm 0.02$  및  $0.64 \pm 0.02$ 로 유의하게 증가되었다.  $T_3$  역시  $T_2$ 와 비슷한 변동양상이 관찰되었다. 대조군 ( $40.0 \pm 1.8 \text{ ng/ml}$ )에 비하여 alcohol과 paraquat 단독 또는 혼합급여한 3개군에서  $26.3 \pm 0.6$ ,  $26.5 \pm 1.3$  및  $29.1 \pm 1.0$ 로 현저히 감소되었다. 이들 3개군에 비하여 각각의 약물에 selenium을 혼합급여한 군에서는 각각  $36.4 \pm 1.4$ ,  $37.0 \pm 1.1$  및  $36.3 \pm 1.3$ 으로 유의하게 증가되었다. free  $T_4$  역시  $T_3$ 와  $T_4$ 의 변동양상과 비슷하였다. 대조군( $20.4 \pm 0.9 \text{ pmol/l}$ )에 비하여 alcohol 및 paraquat를 단독 또는 혼합급여한 3개군에서  $13.9 \pm 0.8$ ,  $14.0 \pm 0.9$  및  $14.5 \pm 0.7$ 로 유의성 있게 감소되었고 이들 3개군에 비하여 각각의 약물에 selenium을 혼합급여한 군에서는 각각  $17.5 \pm 0.6$ ,  $18.4 \pm 0.8$  및  $17.7 \pm 0.6$ 으로 유의하게 증가되었다. 그리고 selenium 자체만으로  $T_3$ ,  $T_4$  및 free  $T_4$ 를 약간 감소시킨 경향이이었으며 이들 호르몬 변동에 대한 alcohol과 paraquat 혼합급여는 상승효과가 있었다(Fig 2, 3, 4).

**Alkaline phosphatase(ALP) 및 cholesterol 농도 :** 갑상선 기능변동시 ALP와 cholesterol치가 변동될 수가 있다. 그래서 각각의 약물투여군의 혈청에서 ALP와 cholesterol를 측정하였다. Selenium 급여군에서 ALP 농도가  $347.0 \pm 35.9 \text{ (u/l)}$ 로 대조군의  $431.9 \pm 18.8$ 보다 낮았고 alcohol, paraquat 및 alcohol-paraquat급여군에서는 각각  $229.4 \pm 17.5$ ,  $293.7 \pm 21$  및  $248.4 \pm 16.3$ 으로 대조군에 비하여 현저히 감소되었다. Alcohol 및 alcohol-paraquat급여군에 비하여 selenium을 혼합급여한 결과,  $351.9 \pm 21.0$  및  $347.5 \pm 24.0$ 으로 유의하게 증가되었으나 paraquat에 selenium을 혼합급여한 군에서는 증가되지 않았다. Cholesterol는 대조군  $40.0 \pm 2.3 \text{ (mg/dl)}$ 에 비하여 alcohol, paraquat 및 alcohol-paraquat 급여군에서  $94.0 \pm 8.5$ ,  $52.3 \pm 1.5$  및  $88.0 \pm 4.9$ 로 현저히 증가하였으며, 이들 3개군에 비하여 각 약물에 selenium을 혼합급여한 군에서는  $46.9 \pm 3.4$ ,  $48.7 \pm 4.2$  및  $46.3 \pm 3.8$ 로 감소되었다(Fig 5, 6).

**조직학적 소견 :** 각 군의 갑상선 조직을 H-E염색하여 조직병리학적 변화를 관찰한 바, 4ppm selenium 급여군은 대조군에 비하여 큰 영향이 없었으나 15% alcohol 급여군의 갑상선 조직의 상피는 대조군에 비하여 현저히 편평상피화 되었고 일부 갑상선 세포에서 핵농축(pyknosis)이 관찰되었다. 200ppm paraquat 급여군의 갑상선은 colloid와 세포 사이에 결합조직의 증식을 확인할 수 있었고, alcohol-paraquat의 혼합급여에 의해서는 갑상선 세포의 활성이 alcohol 급여군보다 더 감소되지는 않았다. 그

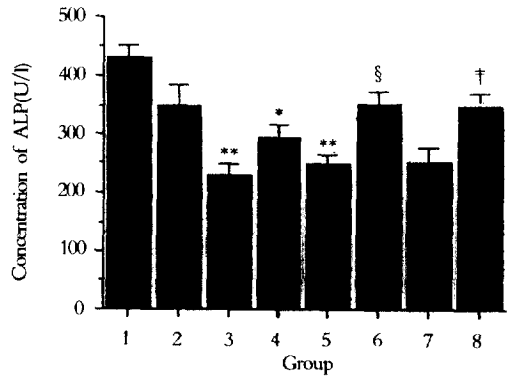


Fig 5. Effect of selenium supplementation on serum alkaline phosphatase(ALP) decrease by alcohol and/or paraquat in guinea pigs. \* $p < 0.005$ , \*\* $p < 0.001$  compared with the control group, § $p < 0.005$  compared with the 15% alcohol group, † $p < 0.01$  compared with the 15% alcohol+200ppm paraquat group. Other legends are the same as in Fig 1.

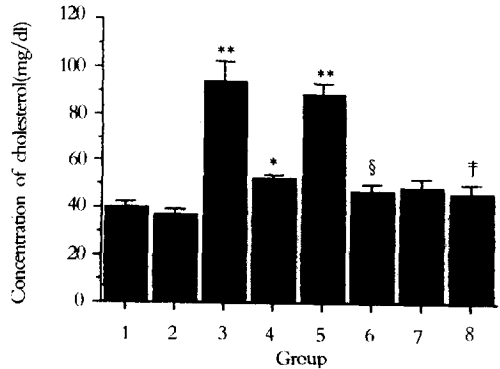


Fig 6. Effect of selenium supplementation on serum cholesterol increase by alcohol and/or paraquat in guinea pigs. \* $p < 0.005$ , \*\* $p < 0.001$  compared with the control group, § $p < 0.001$  compared with the 15% alcohol group, † $p < 0.01$  compared with the 15% alcohol+200ppm paraquat group. Other legends are the same as in Fig 1.

리나 alcohol-selenium, paraquat-selenium, alcohol-paraquat-selenium의 혼합급여군에서는 갑상선 세포의 증생과 상피조직이 원주상피 및 입방상피로 활성화되어 나타났다(Fig 7~14).

## 고 찰

Alcohol과 paraquat는 지질 과산화를 일으켜 세포막에 손상을 일으켜 그 독작용을 나타내는 대표적인 약물로 알려져 있어<sup>16</sup> 간이나 갑상선 세포막의 손상 또는 구조변동에 의한 갑상선 호르몬 변동을 일으킬 것으로 사료되어 갑상선 기능에 대한 이들 약물의 작용을 실험하였다. 본 실험에서 alcohol 및 paraquat를 단독 또는 혼합하여 guinea pig에 4주간 급여한 결과, 대조군에 비하여 혈중  $T_3$ ,  $T_4$  및 free  $T_4$ 가 현저히 감소되었고 TSH는 증가되었다. 또한 혈중 alkaline phosphatase(ALP)의 증가 및 cholesterol의 감소가 관찰되었다. 이전 연구보고에 의하면 만성 alcohol 중독자와 ethanol을 급여한 동물에서 갑상선 호르몬이 감소됨을 보고하여<sup>17-19</sup>, 본 연구결과와 일치하였으나 폐장에서 fibrosis를 일으켜 독작용을 나타내는 paraquat에 의한 갑상선 기능변동에 대해서는 이제까지 연구된 바 없다. 갑상선 호르몬의 조절에 대한 alcohol의 영향을 살펴보면 다음과 같다.  $T_4$ 는 단지 뇌하수체의 TSH-feedback 작용에 의해 갑상선에서만 합성 또는 분비되는데 일반적으로  $T_4$ 는  $T_3$ 로 전환되기 위해서는 간에서 탈요오드화가 되어야 한다. 혈중  $T_3$ 의 약 80~85%가 이 경로를 경유하여 생성되기 때문에<sup>20</sup> 만약 alcohol에 의해 간기능이 저하된다면 이 전환이 억제될 수 있을 것이다. 특히 selenium 결핍, 영양결핍 및 질병에 의해서  $T_4$ 를  $T_3$ 로 전환시키는데 필요한 dciodinase가 감소되기 때문에 이 전환이 이루어지지 않아 혈중  $T_4$ 는 높아지고  $T_3$ 는 감소된다는 것이다.<sup>21,22,23</sup> 그리고 alcohol은 직접적으로 갑상선 세포에 영향을 미치지 않고 간이나 시상하부-뇌하수체 axis에 영향을 미쳐 갑상선 호르몬을 변동시키고<sup>24</sup> ethanol의 주요 작용은 세포막 구조를 직접 변동시킨다<sup>25</sup>고 한 반면, 최근 흰쥐에 ethanol 급여는 간 mitochondria의 에너지 대사를 억제하는데 혈중  $T_4$ 가 변동되지 않아서 이 에너지 대사는 혈중  $T_4$  농도변동과 관계없이 일어난다고 하였다. 또한 alcohol은  $Na^+K^+$  ATPase 활성과 cAMP 생성을 변동시킨다<sup>26,27</sup> 이 둘은 갑상선 호르몬 생성에 중요한 요소이기 때문에<sup>28</sup> alcohol에 의한 갑상선 호르몬 변동과 매우 밀접하다. 그런데 alcohol에 의한 이 두 요소의 변동이 갑상선에서 보다는 다른 조직에서 더욱 잘 일어난다고 하였으나<sup>28,29</sup>, 갑상선 세포에 직접적인 작용에 의한 호르몬 변동인지 아닌지는 연구되지 않았다. 그러나 최근 Nasu 등<sup>30</sup>은 갑상선 배양 follicles에서 alcohol이 cAMP 형성 및  $Na^+K^+$  ATPase 활성을 촉진시키는 TSH와 같은 작용으로

갑상선 호르몬을 생성시킴을 관찰하여 alcohol이 갑상선에 직접적으로 작용함을 주장하였다. 역시 사람에서 alcohol 섭취시 갑상선 크기와 혈중 호르몬의 감소가 갑상선에 대한 독성효과에 기인한다고 하였다<sup>31</sup>.

Pamenter 등<sup>32</sup>은 개에 1년동안 ethanol을 급여한 결과, 혈중 갑상선 호르몬의 증가를 보고하였으나 본 실험결과에서 alcohol이나 paraquat에 의해  $T_4$  및  $T_3$ 가 모두 감소되어 간질환시 나타난 결과와 일치하였으나 2차적인 간질환에 의한 갑상선 기능변동이라고 설명할 수는 없다. 왜냐하면 dciodinase와 같은 효소의 감소 및 간독성에 의한 결과라면  $T_4$ 는 증가하고  $T_3$ 는 감소되어야 한다. 또한 TSH가 두 약물에 의해서 유의성 있게 증가되어 feedback 작용이 있음에도 불구하고 갑상선 호르몬이 낮게 관찰되었음은 호르몬을 생성하는 갑상선의 기능저하로 예측할 수 있다. 그러나 본 실험결과로 시상하부나 뇌하수체에 직접 작용하여 TSH를 변동시켰는지는 설명할 수 없다. 이전 많은 연구보고 및 본 실험에서 alcohol에 의한 갑상선 기능변동효과를 주로 생체내에서 실험하여<sup>33</sup> 간손상이나 영양결핍으로 인한 호르몬 변동을 초래할 수 있기 때문에<sup>34</sup> 그 작용기전을 설명하기 어렵다. 본 연구결과에서도 간기능의 지표가 되는 aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase,  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase 및 생화학적 검사치 등이 alcohol 및 paraquat 단독 또는 혼합급여에 의하여 변동되어 간기능의 손상을 나타내고 있어서(자료 제시하지 않음) 간손상에 의한 2차적인 갑상선 기능저하도 의심된다. 특히 갑상선 기능저하시 또는 영양결핍시 감소되는 alkaline phosphatase(ALP)가 감소되어 갑상선 기능저하와 간기능의 억제와 일치하고 있다(Fig 5). 흰쥐에서 영양결핍이나<sup>35</sup> 낮은 protein 급여<sup>36</sup>는  $T_4$ 의 증가를 보고하였는데 영양결핍시 감소되는 total protein이나 albumin치는 본 실험에서 증가되어 alcohol이나 paraquat에 의한 영양결핍으로 인한 갑상선 기능이 저하되었다고는 할 수 없다(자료 제시하지 않음). 그러나 alcohol과 paraquat가 직접적으로 갑상선에 작용하여 2차적으로 신체대사 억제에 의한 간기능이 저하되었는지는 본 실험결과로 설명할 수 없다.

한편 selenium은 vitamin E와 함께 대표적인 항산화제로 glutathione peroxidase(GSH-Px) 구성분으로<sup>37</sup>  $H_2O_2$ 에 의한 세포막 손상을 억제하는 물질로 사람과 동물에서 필수 미량원소이다<sup>38</sup>. 만약 동물에서 selenium이 결핍되면 성장저하, neutrophil 기능이 손상되어 세균 등에 감염성이 증가된다<sup>39</sup>. Selenium 결핍시 가장 큰 영향은 GSH-Px인 sclenoprotein의 감소

로 인한 과다축적된  $H_2O_2$ 에 의한 세포막의 손상 등을 포함한 여러 간장 효소계의 변동을 초래한다<sup>12,25</sup>. 그중 간장과 신장에 주로 함유된 type I iodothyronine-5'-deiodinase 5'D-I와 뇌와 지방조직에 존재하는 type II iodothyronine 5'-deiodinase(5'D-II)가 있는데<sup>26</sup> 5'D-I은 selenoprotein이기 때문에 selenium 결핍시 현저히 감소된다<sup>15,22,24</sup>.  $T_4$ 는 갑상선에서 생산분비되지만 생물학적 활성은 매우 낮고  $T_4$ 로 부터 탈요오드화를 거쳐 생산되는  $T_3$ 가 활성이 매우 높다. 그런데  $T_3$ 의 탈요오드화를 일으키는 5'D-I는 갑상선 기능저하 또는 selenium 결핍시 감소된다<sup>25</sup>. 그러면  $T_4$ 가  $T_3$ 로의 전환이 억제되어 혈중  $T_4$  농도는 증가,  $T_3$  농도는 감소, TSH는 증가되거나 정상이라고 한다<sup>23,24</sup>. 또한 selenium은 간보다 갑상선에 두배 정도 높은 농도로 함유되어 있어<sup>28</sup> 동물에서 selenium이 결핍된다면 다른 기관보다 갑상선이 더욱 민감한 영향을 받고<sup>26</sup>, 갑상선이 중량변동 없이  $T_4$ ,  $T_3$  및 총 iodine이 감소되며 갑상선에 GSH-Px의 활성이 50% 정도로 감소한다고 한다<sup>27</sup>. 즉, 갑상선 호르몬 대사 변동은 selenium 결핍으로 인한 GSH-Px의 활성 감소와 일치한다고 한다<sup>28</sup>. 이와 대조적으로 selenium 결핍동물에서 갑상선 호르몬 합성이 증가되는데 이 GSH-Px 활성의 감소가 직접적으로 갑상선 대사에 영향을 미친 결과라고 하였다<sup>27</sup>. 즉, 갑상선 기능에 대해서 selenium 결핍으로 GSH-Px 활성이 감소되면 세포내  $H_2O_2$  농도는 높아질 것이다. 그러면 tyrosine 요오드화가 증가되어 갑상선 호르몬 합성이 증가할 것이다. 이와같은 결과는 정상적인 selenium 존재하에서 가능한 설명이 될 수 있지만  $H_2O_2$  과다생성을 일으키는 독성약물에 의한 세포독성시 나타날 수 있다고는 할 수 없다. 본 실험에서도 selenium 자체만으로  $T_3$ 와  $T_4$ 가 대조군보다 약간 감소된 경향이 나타나 상기와 같은 주장과 일치한다고 할 수 있으나 그 정확한 기전은 모른다. 많은 이전 연구보고를 볼 때 alcohol 및 selenium은 갑상선 기능과 아주 밀접한 관계가 있다. Alcohol에 의한 갑상선 기능변동 기전에 대해서 신뢰할 만한 연구보고는 없고 selenium의 방어효과에 대한 연구보고는 전혀 없는 실정이다.

Alcohol에 의해서 체내 selenium이나 vitamin E의 농도를 감소시킬 수 있다고 하는데<sup>29,30</sup>, 본 연구에서 alcohol이나 paraquat에 의한 selenium 감소로 인해서 갑상선 호르몬이 감소되었는지 또는 이 감소효과가 selenium 공급으로 인해서 억제되었는지 모르나 각군의 조직을 조직학적으로 관찰해 볼 때 selenium 단독급여군은 대조군에 비하여 현저한 변화를 관찰할 수 없었으나 alcohol 급여군의 갑상선 상피는 대조군

에 비하여 현저히 편평상피화 되어 있었으며, 이같은 결과는 갑상선 호르몬( $T_3$ ,  $T_4$ ) 감소의 결과와 밀접한 관계가 있을 것으로 사료된다(Fig 2, 3). Paraquat 급여군에서는 결합조직의 증식을 관찰할 수 있었으며 paraquat-selenium 급여군에서는 paraquat 급여군보다 많은 갑상선 세포의 증생을 관찰할 수 있었으나 alcohol-paraquat 혼합급여군에서는 alcohol 급여군보다도 갑상선 세포가 더 불활성화 되지 않았음은 갑상선 호르몬 감소가 더욱 감소되지 않은 결과(Fig 2, 3)와 관계가 있다. Alcohol-paraquat-selenium 혼합급여군에서는 결합조직의 증식과 더불어 상피조직이 입방상피 및 원주상피로 활성화되어 있어 이는 selenium의 혼합급여에 의한 갑상선 호르몬의 증가와 유관하리라 사료됨으로 selenium의 단독급여에 의한 갑상선의 활성화 보다는 alcohol이나 paraquat에 의해 손상된 갑상선에 selenium의 투여는 치료 및 보호효과를 더욱 증가시키는 것으로 추측된다. 본 실험의 결과로 미뤄볼 때 alcohol 및 paraquat에 의한 갑상선 기능저하와 selenium의 방어효과는 갑상선 세포에 직접적인 결과라고 볼 수 있다. 그 증거로서는 첫째, alcohol과 paraquat는 지질 과산화화를 일으키는 약물이고 selenium에 의해서 방어효과가 나타났기 때문에 갑상선 세포에 대한 직접적인 과산화 작용에 의해 갑상선 세포가 손상되어 호르몬 생성 및 분비가 감소되었고 이 손상에 대한 selenium의 방어효과로 추측된다. 둘째, 갑상선 호르몬 뿐만아니라 TSH에 대한 selenium의 방어효과도 뚜렷했다. TSH가 증가된 것은 혈중 갑상선 호르몬의 감소에 대한 feedback 작용으로 설명되며 이 TSH가 높았음에도 불구하고  $T_3$ ,  $T_4$  및 free  $T_4$ 가 낮았다. 셋째, 간기능 억제 및 효소계의 억제에 의한 2차적인 효과라면  $T_3$ 는 증가되고  $T_4$ 만 감소되었어야 하는데  $T_4$  및  $T_3$ 가 모두 감소되었다. 넷째, 영양결핍에 의한 2차적인 갑상선 기능저하라면 cholesterol이나 albumin치가 감소되어야 하는데 본 실험에서 증가하였다. 다섯째, 조직학적 소견으로 alcohol 및 paraquat 투여에 의한 상피조직의 편평화, 갑상선 세포의 핵농축과 갑상선 세포수의 감소가 selenium의 혼합투여에 의하여 상피조직은 입방상피 및 원주상피로 활성화되었고 갑상선 세포의 증생이 관찰되었다.

결론적으로 alcohol 및 paraquat를 단독 또는 혼합 급여시 갑상선 기능은 저하되었으며 이에 대한 selenium의 방어작용이 현저했다. 그러나 생체내 실험이었기 때문에 많은 변동요인을 고려하여 세부적인 연구가 진행되어야 할 필요가 있다고 사료된다.

## 결 론

기니픽에서 갑상선과 TSH에 미치는 alcohol과 또는 paraquat의 영향과 갑상선 독성에 대해서 selenium의 방어효과를 관찰하였다. TSH, 갑상선 호르몬(T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, free T<sub>4</sub>) 그리고 효소의 활성은 15% alcohol, 200ppm paraquat, 15% alcohol-200ppm paraquat군과 이들 군에 4ppm sodium selenite를 혼합하여 공급한 군으로 구분하여 4주간 음수로 공급하여 이들의 혈청에서 측정하였다. 갑상선의 조직학적 변화는 paraffin 포매 후 H-E 염색하여 광학현미경하에서 관찰하였다. Alcohol, paraquat 또는 alcohol-paraquat 급여군에서 체중감소, TSH 농도 증가, 갑상선 호르몬과 ALP의 감소 및 cholesterol치의 증가양상이 관찰되었으며, alcohol-paraquat의 혼합급여군에서는 혈청내 TSH치가 현저히 증가되어 나타났다. Alcohol, alcohol-paraquat의 혼합급여군에서는 체중당 갑상선 중량비가 대조군에 비해 증가되었으나 selenium 또는 paraquat 급여군에서는 감소되어 나타났다. 그러나 selenium을 혼합

하여 급여한 군에서는 혈청 TSH, 갑상선 호르몬, cholesterol치 및 체중당 갑상선 호르몬 중량 등이 alcohol 또는 paraquat 급여군에 비하여 selenium의 혼합급여에 의해 유의성 있게 전환되었다. ALP치 또한 selenium의 혼합급여에 의하여 alcohol 또는 alcohol-paraquat의 혼합급여군에 비해 대조군과 유사한 정도로 전환되었다. 조직학적 소견으로 alcohol 급여군 기니픽의 갑상선 상피는 평평상피화 되었으며 몇몇 갑상선 세포에서 핵농축을 관찰할 수 있었다. Paraquat 급여군에서는 갑상선 여포내에 colloid와 갑상선 세포 주위에 결합조직의 증식을 관찰할 수 있었다. Alcohol-paraquat-selenium의 혼합급여군에서는 갑상선 세포 주위에 결합조직의 증식 및 갑상선 상피가 원주 또는 입방상피로 전환되어 나타났다. 이같은 조직학적 변화로 볼 때 갑상선의 변화는 갑상선 세포에 직접적인 영향임을 의미한다. 본 실험의 결과로 alcohol이나 paraquat은 간기능의 변화와는 독립적으로 갑상선에 직접적인 독성작용을 나타내며, selenium의 급여는 alcohol이나 paraquat에 의한 갑상선 독성작용에 대한 현저한 방어효과를 있음을 확인하였다.

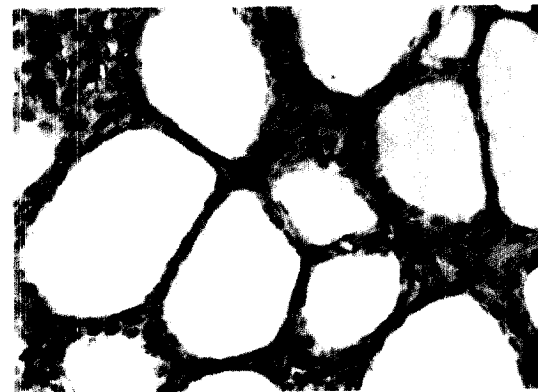
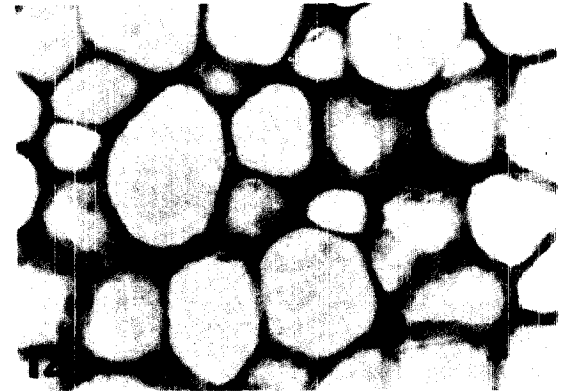
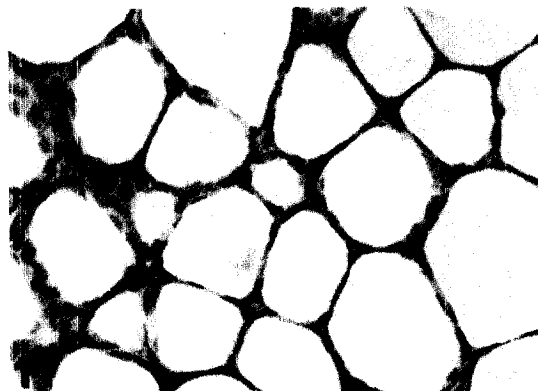
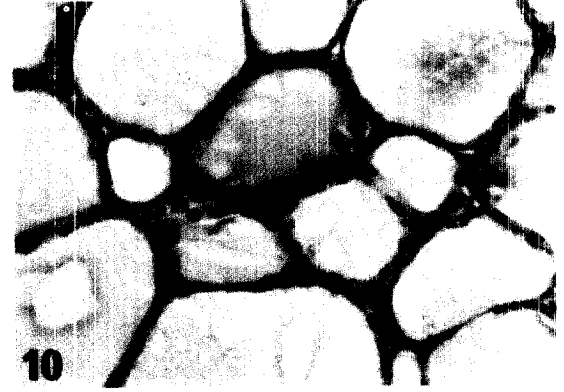
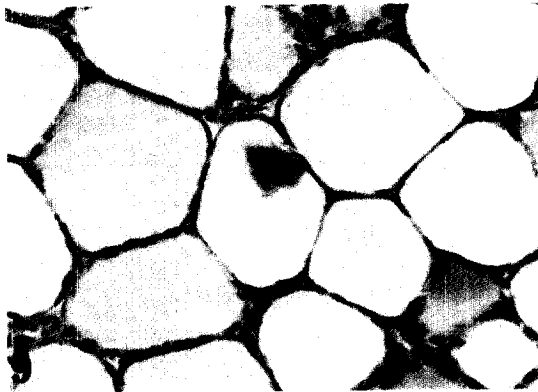
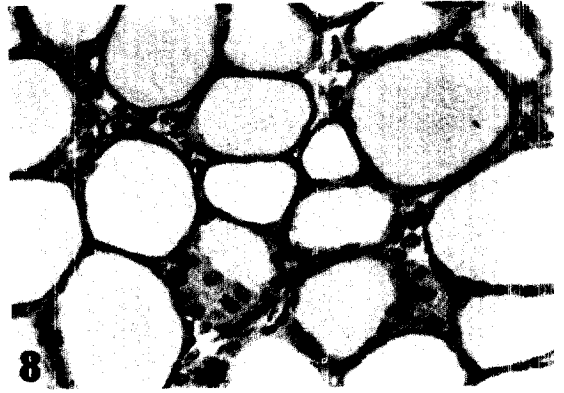
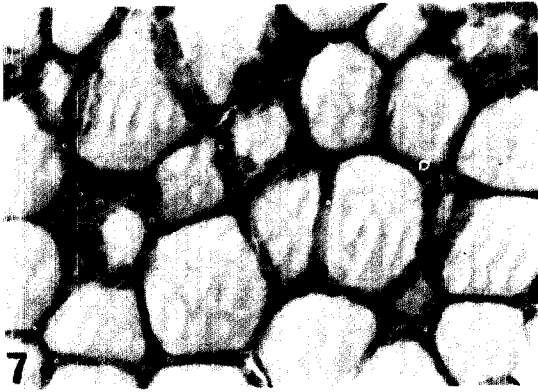
## Legends for figure

- Fig 7. Thyroid gland of normal guinea-pig(×200, H-E stain).
- Fig 8. Thyroid gland of 4ppm selenium-fed guinea-pig(×200, H-E stain).
- Fig 9. Thyroid gland of 15% alcohol-fed guinea-pig(×200, H-E stain).
- Fig 10. Thyroid gland of 200ppm paraquat-fed guinea-pig(×200, H-E stain).
- Fig 11. Thyroid gland of 15% alcohol plus 200ppm paraquat-fed guinea-pig(×200, H-E stain).
- Fig 12. Thyroid gland of 15% alcohol plus 4ppm selenium-fed guinea-pig(×200, H-E stain).
- Fig 13. Thyroid gland of 200ppm paraquat plus 4ppm selenium-fed guinea-pig(×200, H-E stain).
- Fig 14. Thyroid gland of 15% alcohol plus 200ppm paraquat and combination of 4ppm selenium-fed guinea-pig(×200, H-E stain).

## 참 고 문 헌

1. Cavalieri RR. The effects of nonthyroid disease and drugs on thyroid function tests. In: Greenspan FS, ed. *The medical clinics of north america; Thyroid disease* B.W. Saunders Company, Philadelphia, 1991; 27~39.
2. Marshall J, Pensky J, Green A. Studies on human thyroxine-binding globulin. . The nature of slow thyroxine-binding globulin. *J Clin Invest* 1972; 51: 3173~3178.
3. Beckett GJ, Nicol E, Proudfoot D, et al. The changes in hepatic enzyme expression caused by selenium deficiency and hypothyroidism in rats are produced by independent mechanisms. *Biochem J* 1990; 266: 743~747.
4. Balsam A, Ingbar S. The influence of fasting, diabetes, and several pharmacologic agents on the pathways





- of thyroxine metabolism in rat liver. *J Clin Invest* 1978; 62 : 415~419.
5. Singh SP, Patel DG, Kabir M et al. Serum T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub> and reverse T<sub>3</sub> in ethanol fed rats. *Life Sci* 1979; 25 : 889~894.
  6. Pamenter RW, Boyden TW. Interaction of ethanol with the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. *Life Sci* 1984; 34 : 707~612.
  7. Ramakrishnan S, Prasanna CV, Balasubramanian A. Effect of alcohol intake on rat hepatic enzymes and thyroid function. *Indian J Biochem Biophys* 1976; 13: L 49~51.
  8. Murphy MP, Tipton KF. Effect of chronic ethanol feeding on rat liver mitochondrial energy metabolism. *Biochem Pharmacol* 1992; 42 : 2663~2667.
  9. Combs GF Jr, Combs SG. The nutritional biochemistry of selenium. *Ann Rev Nutr*, 1984; 4 : 257~290.
  10. Arthur JR, Beckett GJ. Selenium deficiency and hormone metabolism. In : Wendel A, ed, *Selenium in biology and medicine*, Springer-Verlag, Heidelberg, 1989; 90~95.
  11. Sane HW, Drudrick S, Warren DC. Blood selenium levels and glutathione peroxidase activities in university and chronic intravenous hyperalimentation subjects. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1981; 167 : 383~390.
  12. Nordmann R, Ribiere C, Rouach H. Ethanol-induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. *Alcohol Alcohol*, 1990; 25 : 231~237.
  13. Dumont JE. The action of thyrotropin on thyroid metabolism. *Vitam Horm* 1971; 29 : 287~412.
  14. Golstein J, Corvilain B, Lamy F, et al. Effects of a selenium deficient diet on thyroid function of normal and perchlorate treated rats. *Acta Endocrinol* 1988; 118 : 495~502.
  15. Arthur JR. The role of selenium of thyroid hormone metabolism. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69 : 1648~1652.
  16. Recknagel RO, Glrnde EA, Britton RS. Free radical damage and lipid peroxidation. In : Meeks RG, ed. *Hepatotoxicology*, Boca Raton, Florida: CRC, 1991; 401~436.
  17. Szilagyi A. Thyroid hormones and alcoholic liver disease. *J Clin Gastroenterol* 1989; 9 : 189~193.
  18. Hegedus L, Rasmussen N, Raven V, et al. Independent effects of liver disease and chronic alcoholism on thyroid function and size : the possibility of a toxic effect of alcohol on the thyroid gland. *Metabolism* 1988; 37 : 229~233.
  19. Pamenter RW, Royden TW. One year of ethanol feeding increases circulating thyroid hormones in the dog. *J Lab Clin Med* 1985; 106 : 141~146.
  20. Leonard JL, Visser TJ. Biochemistry of deiodination. In : Hennemann G, Dekker M, ed, *Thyroid hormone metabolism*, New York, 1986; 189~222.
  21. Arthur JR, Morrice. Thyroid hormone concentration in selenium deficient and selenium sufficient cattle. *Res Vet Sci* 1988; 45 : 122~123.
  22. Chanoine JP, Safran M, Farwell AP, et al. Effects of selenium deficiency on thyroid hormone economy in rats. *Endocrinology* 1992 : 131 : 1787~1790.
  23. Beckett G, Beddows SE, Morrice PC, et al. Inhibition of hepatic deiodination of thyroxine is caused by selenium deficiency in rats. *Biochem J* 1987; 248 : 443.
  24. Hoek JB, Taraschi TF. Cellular adaptation to ethanol. *Trends Biochem Sci* 1988; 13 : 269~274
  25. Mashiter K, Mashiter GD, Field JB. Effect of prostaglandin E<sub>1</sub>, ethanol, TSH on the adenylate cyclase activity of beef thyroid plasma membranes and cyclic AMP content of dog thyroid slices. *Endocrinology* 1974; 94 : 370~376.
  26. Murakami S, Summer CN, Iida-Klein A, et al. Physiological de novo thyroid hormone formation in primary culture of porcine thyroid follicles : adenosine 3',5'-monophosphate alone is sufficient for thyroid hormone formation. *Endocrinology* 1990; 126 : 1692~1698.
  27. Nasu M, Sugawara M. Ethanol has thyrotropin-like activity in cultured porcine thyroid follicles. *Endocrinology* 1993; 132 : 155~160.
  28. O'Brian JT, Bybee DE, Burman KD, et al. Thyroid hormone homeostasis in state of relative caloric deprivation. *Metabolism* 1980; 29 : 721~727.
  29. Okamura K, Taurog A, DiStefano JJ III. Elevated serum levels of T<sub>3</sub> without metabolic effect in nutritionally deficient rats, attributable to reduced cellular uptake of T<sub>3</sub>. *Endocrinology* 1981; 109 : 673~675.
  30. Tulp OL, Krupp PP, Danforth E Jr, et al. Characteristics of thyroid function in experimental protein malnutrition. *J Nutr* 1979; 109 : 1321~1332.
  31. Boyne R, Arthur JR. The response of selenium-deficient mice to candida albicans infection. *J Nutr* 1986; 116 : 816~822.
  32. Reiter R, Wendel A. Selenium and drug metabolism. II. Independence of glutathione peroxidase and rever-

- sibility of hepatic enzyme modulations in deficient mice. *Biochem Pharmacol* 1984; 33: 1923~1928.
33. Leonard JL. Identification and structure analysis of iodothyronine deiodinase. In: Greer MA, ed, *The thyroid gland*, Raven Press, New York, 1990; 285~305.
  34. Arthur JR, Nicol F, Beckett GJ. Hepatic iodothyronine 5'-deiodinase. The role of selenium. *Biochem J* 1990; 272: 537~540.
  35. Aaseth J, Frey H, Glatte E, et al. Selenium concentration in the human thyroid gland. *Biol Trace Elem Res* 1990; 24: 147~152.
  36. Behne D, Hilmert H, Scheid S, et al. Evidence for specific selenium target tissues and new biologically important selenoproteins. *Biochem Biophys Acta* 1988; 966: 12~21.
  37. Arthur JR, Nicol F, Rae PWH, et al. Effects of selenium deficiency on the thyroid gland and on plasma and pituitary thyrotropin and growth hormone concentrations in the rats. *Clin Chem Enzyme Commun* 1990; 3: 209~214.
  38. Arthur JR, Nicol F, Hutchison AR, et al. The effects of selenium depletion and repletion on the metabolism of thyroid hormones in the rat. *J Inorg Biochem* 1990; 39: 101~108.
  39. Ribiere C, Hininger I, Rouach H, et al. Effect of chronic ethanol administration on free radical defence in rat myocardium. *Biochem Pharmacol* 1992; 44: 1495~1500.
  40. Lecomte E, Herbeth B, Pirollet P, et al. Effect of alcohol consumption on blood antioxidants and oxidative stress indicators. *Am. J Clin Nutr* 1994; 60: 255~261.
-