

Methionine과 Selenium 수준이 흰쥐의 알코올대사 효소계에 미치는 영향

김명주[†] · 박은미 · 이미경 · 조수열*

대구산업전문대학 식품영양과

*영남대학교 식품영양학과

Effect of Methionine and Selenium Levels on Alcohol Metabolic Enzyme System in Rats

Myung-Joo Kim[†], Eun-Mi Park, Mi-Kyung Lee and Soo-Yeal Cho*

Dept. of Food Science and Nutrition, Taegu Polytechnic College, Taegu 706-022, Korea

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

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of methionine(Met) and selenium(Se) levels on alcohol metabolic enzyme system in rats. Sprague-Dawley male rats were fed on diets containing one of the three levels of Met(0, 3, 9g/kg diet) with or without Se(0.45mg/kg diet). Alcohol was administrated with 25%(v/v) ethanol orally at the same time once a day in alcohol group and isocaloric sucrose was administrated to the control group. The rats were sacrificed after 5 and 10 week of feeding periods. Alcohol dehydrogenase(ADH) and microsomal ethanol oxidizing system(MEOS) activities of hepatic tissue were increased more in alcohol treated groups than control group. Increment of activities prenat-ed in simultaneous deficiency of dietary Met and Se(LMet-Se+EtOH) group. Aldehyde dehydrogenase(AIDH) activity was decreased more in alcohol treated groups than control group and sig-nificantly decreased in Met and Se supplemented(NMet+Se+EtOH) group. Hepatic cytochrome P-450 content and xanthine oxidase(XO) activity were significantly increased in alcohol treated groups Compared to control group and predominated in Met deficiency(LMet) group and excessive Met administration(HMet) group. Superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione S-transferase(GST) activities tended to increase by alcohol administration, the degree of increase predominated in 10 week. The activity of glutathione peroxidase(GSH-Px) was decreased in alcohol groups and tended to increase in propo-rtion to the level of dietary Met.

Key words: methionine, selenium, alcohol metabolic enzyme system

서 론

알코올의 산화과정에서 생성되는 중간대사산물은 여러가지 생리작용의 변화를 유발하여 각종 대사성 질환과 알코올성 간경변을 초래하며, 섭취하는 알코올의 양·섭취기간·식이의 영양적 균형상태 및 체내 항산화제 수준 등에 의해 알코올에 의한 간의 손상정도가 달라진다(1,2). 알코올은 급성이나 소량으로 공급될 경우에 ADH나 cytochrome P-450에 의해 대사되어 아세트알데히드를 생성하고, 만성적 혹은 과량으로 공급되면 시토크롬 뿐만 아니라 MEOS에 의해서도 아세트알데히드의 생성량이 증가된다(3). 아세트알데히드는 생체

내에서 반응성이 강하며 알코올 중독의 주원인 물질로서 정상적인 농도의 아세트알데히드는 주로 aldehyde dehydrogenase(AIDH)에 의해 대사되며 과량의 알코올을 섭취하면 xanthine oxidase(XO)에 의한 아세트알데히드의 분해량이 증가된다(4). 알코올 대사와 독성에서 지질과산화 반응의 역할은 아직 일치된 견해를 보이지 않지만 알코올에 의한 지질과산화 반응은 주로 생체내에서 반응성이 강한 유리기에 의한 연쇄반응으로 일어난다(5). 생체내 비효소적인 지질과산화 방어기구 체계는 지질과산화를 효과적으로 억제시킬 수 있는데, methionine(Met)과 selenium(Se)이 그 예이다(6). Met은 free radical의 scavenger로서 작용하여 글루타티온

[†]To whom all correspondence should be addressed

의 농도를 일정하게 유지시키며, glutathione peroxidase (GSH-Px)의 기질로서 작용한다(7,8). 또한, 알코올 대사산물인 아세트알데히드는 합황아미노산인 간의 마이크로소움 단백질과 높은 친화력을 가지며, 혈장막의 지질성분 변화를 유발하여 지방증·간괴사 등의 간손상을 일으키므로(9) 설프히드릴기를 함유한 Met의 적정량 공급은 시스테인과 글루타티온 등의 티올과 아세트알데히드의 결합으로 그 독성을 억제시킨다(10). Se은 글루타티온 존재하에서 free radical 생성을 억제하는 GSH-Px의 필수구성성분으로 세포막 손상을 방지하고 산화에 예민한 세포부위를 보호하는 기능을 가진다(11). 알코올 투여시 Se 결핍에 의한 알코올 산화가 촉진되는데, 이는 알코올 섭취시 간의 총 지방과 중성 지방 함량이 증가하여 지질과산화물을 일으킬 수 있는 기회를 제공하게 되며(12), 여기에 Se이 결핍되어 GSH-Px의 활성이 감소되면 간의 지질과산화는 더욱 촉진될 것이기 때문이다(13).

따라서 본 연구는 생체내에서 영양적으로 상호보완 관계를 갖고 서로 다른 기전으로 free radical의 생성을 억제하는 Met과 Se의 상호작용을 관찰하기 위하여 Se의 공급식이와 제한식이에 각각 메티오닌을 수준(0, 3, 9g/kg diet)별로 공급하고 실험기간을 장·단기(5주 및 10주)로 설정하여 알코올 급여 흰쥐의 알코올 대사효소와 항산화 방어효소계의 활성도를 관찰하였다.

재료 및 방법

실험동물 사육 및 식이

실험동물은 Sprague-Dawley종의 이원형 음성 흰쥐

Table 1. Composition of basal diet

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

¹⁾Cellulose: Sigma Co.

²⁾AIN-76(14) mineral and vitamin mixture(g/kg mix.)

96마리를 10일간 기본식으로 적응시킨 후 평균 체중이 110±10g인 것을 난괴법에 의해 8군으로 나누어 한마리씩 분리하여 5주와 10주간 사육하였다. 실험동물 사육시 일어날 수 있는 무기질의 오염을 방지하기 위하여 실험 시작 전 사육에 필요한 모든 기구는 0.4% EDTA 용액으로 세척하여 사용하였다. 기본식은 AIN-76(14)(Table 1)에 따랐으며 실험식은 Table 2에 나타내었다. 단백질 급원은 Met이 제한되고 Se이 적게 함유된 대두단백(Tekled Co.)을 사용하였고, 알코올은 25%의 에탄올을 체중 1kg당 2.5g씩 1일 1회 구강 투여하였다. 대조군은 알코올과 동일열량의 수크로오스용액을 투여하였다.

시료의 채취

각각 5주와 10주간 사육한 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 에테르로 마취시켜 개복하고, 적절한 간조직은 0.25M 수크로오스용액을 가하여 균질기로 빙냉하에서 마쇄

Table 2. Experimental design

Experimental groups	Methionine level(g/kg diet)	Selenium level(mg/kg diet)	Alcohol administration
NMet-Se	3	0	-
LMet-Se+EtOH	0	0	+
NMet-Se+EtOH	3	0	+
HMet-Se+EtOH	9	0	+
NMet+Se	3	0.45	-
LMet+Se+EtOH	0	0.45	+
NMet+Se+EtOH	3	0.45	+
HMet+Se+EtOH	9	0.45	+

NMet-Se: Normal methionine, low selenium diet group

LMet-Se+EtOH: EtOH treated low methionine, low selenium diet group

NMet-Se+EtOH: EtOH treated normal methionine, low selenium diet group

HMet-Se+EtOH: EtOH treated high methionine, low selenium diet group

NMet+Se: Normal methionine, normal selenium diet group

LMet+Se+EtOH: EtOH treated low methionine, normal selenium diet group

NMet+Se+EtOH: EtOH treated normal methionine, normal selenium diet group

HMet+Se+EtOH: EtOH treated high methionine, normal selenium diet group

하여 얻은 균질액(20%, w/v)을 600×g에서 10분간 원심분리하여 상정액을 얻어 10,000×g에서 20분간 원심분리(Hitachi 20PR-520)하고 미토콘드리아 분획을 분리한 후 다시 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 시토졸 분획과 마이크로소움 분획을 분리하고, 효소 활성 측정시 효소원으로 사용하였다. 효소활성은 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 Lowry법(15)에 준해 측정된 단백질 mg당의 고유활성도로 나타내었다.

시료의 분석

Alcohol dehydrogenase 활성은 Bergmeyer의 방법(16)에 의하여 측정하였고 microsomal ethanol-oxidizing system의 활성은 Lieber와 Decarli의 방법(17)을 변경한 최의 방법(18)으로, aldehyde dehydrogenase 활성은 Koivula와 Koivusalo의 방법(19)에 준하여 측정하였으며, cytochrome P-450의 함량은 조(20)의 방법으로, xanthine oxidase의 활성은 Stripe와 Della의 방법(21)에 의하여 측정하였고, superoxide dismutase의 활성은 Marklund와 Marklund의 방법(22)으로, catalase의 활성 측정은 Aebi의 방법(23)에 준하였으며, glutathione peroxidase의 활성 측정은 Paglia와 Valentine의 방법(24)으로, glutathione S-transferase의 활성 측정은 Habig 등(25)의 방법으로 측정하였다.

통계처리

실험결과는 SAS package를 이용하여 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고 각군간 평균치의 통계적 유의성은 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple test(26)에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

ADH, MEOS 및 AIDH의 활성

간조직 중의 ADH, MEOS 및 AIDH 활성변동은 Table 3에 나타내었다.

ADH 활성은 알코올 투여군이 대조군에 비하여 유의한 증가를 보였으며, NMet군이 LMet군과 HMet군에 비하여 뚜렷한 증가를 나타내었다. 또한 Se 공급군은 결핍군에 비하여 ADH 활성이 유의적으로 증가하였다. ADH는 알코올을 아세트알데히드로 산화시키는 효소로서 급성의 경우 아급성 중독시에 비해 활성도가 높으며, 장기 투여시 간자체의 변성으로 활성이 감소되어 다른 알코올 대사계인 MEOS에 의해 알코올 대사가 이루어진다(3). 본 실험결과는 알코올의 아급성 중독상태의 흰쥐에서 ADH 활성이 증가되었다는 주 등(27)의 보고와 유사하며, Met과 Se의 정상공급은 알코올 투여시 간에서의 ADH 활성을 조절하여 알코올 대사계를 더욱 활성시키므로써 알코올 해독에 관여할 것으로 사료된다. 알코올 투여기간에 따른 간조직 중의 ADH 활성 억제는 알코올 투여기간이 장기화될수록 가중되었는데, 이 결과는 영양적으로 불균형한 식이를 섭취할 경우 알코올 투여로 인한 적응증가가 제대로 일어나지 않음을 의미하는 것으로 생각된다.

간의 MEOS 활성은 알코올 투여군이 대조군에 비하여 유의한 증가를 보였으며, Met 공급수준에 따른 그 활성차이는 NMet군이 LMet과 HMet군에 비하여 유의적으로 증가하였고, Se 공급군이 결핍군에 비하여 현저한 증가를 나타내었다. 생체내에서 MEOS에 의한 알코올 대사는 약 10~25% 정도이며, 알코올의 만성투여는 cytochrome P-450이 함유된 활면소포체의 여러 구성

Table 3. Effect of dietary methionine and selenium levels on hepatic ADH, MEOS and AIDH activities in alcohol-treated rats

Group	ADH (nmoles/min/mg protein)		MEOS (nmoles/min/mg protein)		AIDH (nmoles/min/mg protein)	
	5 weeks	10 weeks	5 weeks	10 weeks	5 weeks	10 weeks
	NMet-Se	12.60±1.13 ^a	14.03±0.77 ^{f*}	21.31±1.11 ^f	19.62±1.48 ^{f*}	21.14±1.07 ^b
LMet-Se+EtOH	16.96±1.14 ^c	13.08±0.64 ^{a*}	23.09±0.93 ^e	21.56±0.57 ^{c*}	17.60±0.68 ^d	13.99±0.59 ^{c*}
NMet-Se+EtOH	20.38±0.65 ^{bc}	19.86±0.79 ^b	30.13±1.00 ^b	28.34±0.75 ^{b*}	19.65±0.63 ^c	15.55±0.57 ^{cd*}
HMet-Se+EtOH	19.00±0.87 ^{cd}	18.68±1.11 ^c	25.72±0.68 ^c	23.61±0.72 ^{d*}	17.79±0.66 ^d	14.74±0.74 ^{de*}
NMet+Se+EtOH	14.41±1.17 ^f	15.25±0.57 ^c	20.05±1.34 ^a	24.74±0.67 ^{d*}	23.71±1.83 ^a	18.75±1.04 ^{a*}
LMet+Se+EtOH	17.50±1.31 ^{de}	16.54±0.65 ^d	24.54±0.76 ^d	23.53±1.06 ^d	18.59±0.94 ^{cd}	16.28±1.25 ^{c*}
NMet+Se+EtOH	22.38±1.29 ^a	29.23±0.37 ^{a*}	35.79±1.58 ^a	40.28±1.17 ^{a*}	21.27±1.34 ^b	17.72±0.90 ^{ab*}
HMet+Se+EtOH	20.98±2.54 ^{ab}	16.33±1.13 ^{d*}	26.58±0.86 ^c	26.53±1.06 ^c	18.70±1.23 ^{cd}	17.57±1.14 ^b

Values are mean±S.D.(n=6)

Means followed by the same letter in the column are not significantly different(p<0.05)

*Significantly different between 5 and 10 week in same experimental group

성분들과 MEOS의 활성증가를 유도하고, 증가된 MEOS는 알코올의 산화과정에서 NADPH를 소모하므로써 에너지의 낭비를 초래한다(28). Lieber와 DeCarli(29)는 알코올의 급성투여시 MEOS 활성에 변화가 없었으며, 알코올을 장기간 투여한 흰쥐의 혈중 알코올 제거율이 시토크롬의 ADH나 간조직중의 catalase 활성변화와 무관하게 증가하였다고 보고하였다. 또한 MEOS는 낮은 km치를 가진 ADH 경로와 대조적으로 높은 km치를 가지고 있으며, 따라서 MEOS 경로는 혈중 알코올 농도가 높을 경우, 특히 만성적 알코올 섭취에 의해 그 활성도가 증가될 것이라는 Lieber(30)의 보고와 같이 본 실험에서 Met이 정상공급된 알코올군의 경우 5주보다 10주 실험군에서 그 활성의 증가가 현저하였다.

AIDH의 활성은 알코올 투여군이 대조군에 비하여 유의하게 감소되었으며, 5주시 NMet군이 LMet군과 HMet군에 비하여 유의적인 증가를 보였다. 또한 Se의 동시 공급시 Se 결핍군에 비하여 유의한 증가를 나타내었으며 알코올 투여기간에 따른 차이는 5주군에 비해 10주군의 그 활성이 현저하게 감소되었다. 이는 흰쥐에게 알코올 투여시 아세트알데히드의 독성으로부터 생체를 방어하기 위해 간의 AIDH 활성이 증가되었다는 Horton(31)의 보고와는 다소 상이하나 알코올의 만성투여시 미토콘드리아와 시토크롬의 AIDH 활성이 감소되었다는 Jenkins 등(32)의 보고와 유사하다. Kosten 등(33)은 알코올의 만성투여시 혈중 아세트알데히드 수준이 증가됨을 보고하였는데, 이는 알코올의 산화능 상승, 미토콘드리아에서 아세트알데히드 산화능의 감소 및 AIDH의 활성감소에 의한 것으로 설명될 수 있다.

Cytochrome P-450 함량과 XO의 활성변동

Met과 Se을 수준별로 공급하고 알코올을 투여하여

5주 및 10주간 사육한 실험군과 대조군의 cytochrome P-450의 함량과 XO의 활성변동은 Table 4에 나타내었다.

간의 cytochrome P-450 함량은 알코올 투여시 대조군에 비하여 유의적인 증가를 나타내었으며, NMet군이 LMet군 및 HMet군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 또한 Se 동시 공급군의 함량이 Se 결핍군에 비해 유의적으로 감소되었다. 알코올 투여 및 Met와 Se 공급수준에 따른 사육기간의 영향은 5주 실험군에 비해 10주 실험군이 뚜렷한 증가를 나타내었다. 알코올 산화에 특이적인 활성증가를 보이는 cytochrome P-450은 산소를 이용하여 유리기를 생성시키며 특히 간의 정맥주위에서 알코올을 대사시키며 알코올 공급량이 증가할수록 간과 혈액 중의 아세트알데히드 함량을 증가시킨다(34). Se 공급에 따른 cytochrome P-450에 대한 연구로는 심한 Se 결핍시에만 cytochrome P-450 함량에 변화가 있었다는 Walter(35)의 보고와 식이성 Se이 신장 점막의 cytochrome P-450 함량유지에 필요하다는 김 등(36)의 보고가 있으며 본 실험에서는 Met과 Se 동시 공급시 Se 결핍군에 비하여 그 함량이 감소되었다.

간조직중의 XO 활성은 알코올 투여군이 대조군에 비하여 유의적인 증가를 나타내었으며, Met 공급수준에 따른 활성변동은 Se이 공급된 5주 실험군에서는 Met 수준이 높을수록 감소하는 경향이었고, 10주 실험군에서는 NMet군이 LMet군과 HMet군에 비해 유의적으로 감소하였다. 또한 5주시에는 Se 공급유무에 따른 차이가 유의적이지는 않았으나, 10주 사육시에는 Se 공급군이 결핍군에 비해 XO 활성이 유의적으로 감소되었다. 알코올 투여기간에 따른 활성변화는 10주 실험군이 5주 실험군에 비해 유의적인 증가를 나타내었다. 알코올 투여시 XO 활성은 ADH나 MEOS에 의해 증가된 아세트알데히드를 아세테이트로 전환시키므로

Table 4. Effect of dietary methionine and selenium levels on hepatic cytochrome P-450 content and XO activity in alcohol-treated rats

Group	Cytochrome P-450(nmole/mg protein)		XO(uric acid nmole/mg protein/min)	
	5 weeks	10 weeks	5 weeks	10 weeks
NMet-Se	0.44±0.01 ^g	0.46±0.02 ^e	3.00±0.11 ^b	2.84±0.12 ^d
LMet-Se+EtOH	0.60±0.02 ^b	0.71±0.01 ^{a*}	3.51±0.18 ^a	4.14±0.12 ^{a*}
NMet-Se+EtOH	0.51±0.01 ^c	0.62±0.02 ^{c*}	3.14±0.79 ^{ab}	3.45±0.12 ^{c*}
HMet-Se+EtOH	0.63±0.01 ^a	0.66±0.02 ^{b*}	3.20±0.16 ^{ab}	3.78±0.14 ^{b*}
NMet+Se	0.40±0.01 ^h	0.43±0.02 ^{f*}	2.14±0.18 ^d	2.65±0.12 ^{e*}
LMet+Se+EtOH	0.56±0.01 ^c	0.69±0.01 ^{a*}	3.12±0.08 ^{ab}	3.50±0.08 ^{c*}
NMet+Se+EtOH	0.48±0.00 ^f	0.58±0.01 ^{d*}	2.87±0.18 ^{bc}	2.91±0.11 ^d
HMet+Se+EtOH	0.54±0.02 ^d	0.63±0.02 ^{c*}	2.60±0.22 ^c	3.40±0.10 ^{c*}

Values are mean±S.D.(n=6)

Means followed by the same letter in the column are not significantly different(p<0.05)

*Significantly different between 5 and 10 week in same experimental group

써(37) 그 활성이 증가된 것으로 사료되며, 과량의 알코올 투여시 XO에 의한 아세트알데히드 분해량 증가와 부산물인 superoxide radical 생성량의 증가는(38) 알코올에 의한 지질과산화 유발의 한 기전으로 생각된다. 또한 Met이 free radical의 scavenger로서의 작용이 있다는 Shaw 등(10)의 보고에서와 같이 본 실험에서는 알코올 투여시 NMet군은 LMet군과 HMe군에 비해 알코올 투여로 증가된 XO 활성을 대조군에 가까운 수준으로 회복시켰다.

SOD와 catalase 활성

Table 5에는 실험식이와 알코올을 투여한 흰쥐의 간조직중 SOD와 catalase의 활성을 나타내었다.

SOD의 활성은 10주 사육시 모든 알코올 투여군이 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였다. 또한 Met 공급수준에 따른 활성변동은 Se이 공급된 5주 실험군에서는 Met 수준이 높아질수록 감소되는 경향이였으며, 10주시는 NMet군이 LMet군 및 HMe군에 비하여 감소하는 경향이였다. 5주 및 10주군 모두 Se 공급 유무에 따른 차이는 나타나지 않았으며 알코올 투여기간에 따른 그 활성변동은 5주 실험군에 비하여 10주 실험군이 현저하게 증가되었다. SOD는 반응성이 크고 독성이 강한 O_2^- 을 과산화수소로 분해시키는 효소로서 알코올 투여에 의한 활성변화는 알코올 투여시 SOD의 구성성분인 구리·망간 및 아연 등 미량원소의 고갈에 의해 그 활성이 감소된다는 보고(39)와는 상반되는 결과이나 알코올의 급·만성투여 후 미토콘드리아에서 O_2^- 생성이 증가하였으며(2) SOD 활성이 증가하였다는 Keen 등(40)의 보고와는 일치되는 결과이다. 알코올을 투여하여 5주간 사육한 군에서는 Se 결핍시 SOD 활성이 증가되었는데 이는 Se 결핍시 GSH-Px 활성 감소에

대한 보상작용으로 그 활성이 증가하였다는 Ji 등(41)의 보고와도 유사한 결과이다.

Catalase 활성은 5주와 10주 사육시 알코올 투여군이 대조군에 비하여 증가하는 경향이였으며 Met 공급수준과 Se 공급유무에 따른 유의한 차이는 나타나지 않았다. Catalase는 지방의 자동산화 및 유기물의 산화로 생성된 과산화수소를 GSH-Px와 함께 분해하는 효소로서(22) GSH-Px에 비해 km치가 높아 과산화수소 농도가 높을 때 작용한다(6). Met 공급에 따른 catalase 활성감소는 설프히드릴기를 함유한 Met 대사산물에 의해 지질과산화물 생성이 저하되어 나타난 결과로 사료된다. 또한 Se 공급에 의한 유의적인 차이가 나타나지 않은 것은 Thomson 등(42)이 흰쥐에 있어 Se 결핍시 catalase 활성이 증가되었다는 보고와는 상반되는 결과이나 Se 결핍시 catalase 활성은 유의적인 변화가 없었다는 Baliga의 보고(43)와 유사한 결과이다. Se이 GSH-Px의 합성에는 관여하나 catalase 활성유도에는 별다른 영향을 미치지 못한다는 Chow(44)의 보고에서와 같이 Se은 catalase의 직접적인 합성유도 보다는 지질과산화물 형성 및 분해에 관여하므로써 catalase 활성에 간접적인 영향을 미치는 것으로 사료된다.

GSH-Px와 GST 활성

간의 GSH-Px와 GST의 활성변동은 Table 6에 나타내었다.

GSH-Px 활성은 5주와 10주 공히 알코올 투여군이 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타내었으며, Se 공급유무에 관계없이 Met 수준이 높을수록 증가하는 경향이였고 Se 공급군이 Se 결핍군에 비하여 증가하였다. 알코올은 조직중 과산화수소를 증가시켜 이를 분해하는 GSH-Px 활성에 영향을 미치는데, 즉 간의 GSH-

Table 5. Effect of dietary methionine and selenium levels on SOD and catalase activities in alcohol-treated rats

Group	SOD(unit/mg protein)		Catalase(decreased H_2O_2 nmoles/mg protein/min)	
	5 weeks	10 weeks	5 weeks	10 weeks
NMet-Se	12.22±0.99 ^{bc}	14.01±0.46 ^{de*}	19.47±3.10 ^{bc}	29.32±4.84 ^{bcd*}
LMet-Se+EtOH	14.35±1.07 ^a	16.22±0.90 ^{ab*}	23.03±2.94 ^{ab}	33.72±2.96 ^{a*}
NMet-Se+EtOH	12.90±1.35 ^{abc}	14.55±1.11 ^{cd*}	20.97±2.99 ^{abc}	30.57±3.77 ^{abc*}
HMet-Se+EtOH	13.00±1.31 ^{abc}	17.01±0.73 ^{a*}	24.65±4.31 ^a	31.57±5.18 ^{ab*}
NMet+Se	11.52±0.82 ^c	13.32±0.96 ^{c*}	18.45±3.29 ^c	24.52±1.95 ^{e*}
LMet+Se+EtOH	13.23±1.29 ^{ab}	15.38±1.31 ^{bc*}	22.17±2.33 ^{abc}	30.19±1.52 ^{de}
NMet+Se+EtOH	12.23±1.40 ^{bc}	14.54±0.93 ^{cd*}	20.46±3.22 ^{bc}	38.63±1.98 ^{cde*}
HMet+Se+EtOH	11.63±0.80 ^c	16.24±0.72 ^{ab*}	21.99±2.06 ^{abc}	40.66±2.07 ^{bcdde*}

Values are mean±S.D.(n=6)

Means followed by the same letter in the column are not significantly different($p<0.05$)

*Significantly different between 5 and 10 week in same experimental group

Table 6. Effect of dietary methionine and selenium levels on GSH-Px and GST activities in alcohol-treated rats

Group	GSH-Px(decreased NADPH nmoles/mg protein/min)		GST(nmoles DNCB/mg protein/min)	
	5 weeks	10 weeks	5 weeks	10 weeks
NMet-Se	5.50±0.31 ^a	5.28±0.21 ^b	17.11±0.54 ^{de}	13.28±0.55 ^{d*}
LMet-Se+EtOH	4.12±0.19 ^e	3.63±0.26 ^{e*}	20.30±0.26 ^a	18.73±1.56 ^{a*}
NMet-Se+EtOH	4.32±0.16 ^{de}	4.54±0.33 ^c	18.86±0.45 ^{bc}	15.47±1.82 ^{bc*}
HMet-Se+EtOH	4.48±0.20 ^{cd}	4.91±0.45 ^{c*}	17.60±0.45 ^d	15.06±1.19 ^{bc*}
NMet+Se	5.71±0.21 ^a	5.69±0.28 ^a	16.32±1.33 ^e	14.12±1.13 ^{cd*}
LMet+Se+EtOH	4.25±0.20 ^{de}	4.11±0.47 ^d	19.30±0.75 ^b	16.71±1.45 ^{b*}
NMet+Se+EtOH	4.68±0.26 ^{bc}	4.61±0.17 ^c	17.96±1.02 ^{cd}	14.97±0.92 ^{bc*}
HMet+Se+EtOH	4.81±0.16 ^b	4.82±0.12 ^c	17.71±0.78 ^d	15.75±1.53 ^{bc*}

Values are mean±S.D.(n=6)

Means followed by the same letter in the column are not significantly different(p<0.05)

*Significantly different between 5 and 10 week in same experimental group

Px 순환회수를 가속화시켜 그 활성저하를 초래하며 또한 알코올은 체내 Se의 흡수 및 보유를 저해하므로써 그 활성감소를 심화시키는 것으로 사료된다. 반면 Aykac 등(45)은 만성적인 알코올 투여시 적응효과에 의해 GSH-Px 활성이 증가됨을 보고하고 있어 본 실험결과와 다소 상반된 결과이다. Se 공급에 따른 활성 변동은 Se의 정상적인 공급시 식이성 Met으로부터의 황진달 효율의 증가로 글루타티온의 형성이 촉진되고(46) 이로 인해 GSH-Px의 활성이 증가된다. Se 결핍시 Se 공급군에 비해 그 활성이 유의적으로 낮아진 것은 간의 GSH-Px 활성이 Se 공급수준과 비례한다는 박과 정(47)의 보고와 일치하는 결과이다. 본 실험에서 알코올 섭취시 GSH-Px 활성이 대조군에 비하여 현저히 감소되었으며, Met과 Se의 결핍은 알코올에 의한 산화를 촉진시켰다. 이는 알코올 대사시 생성된 과량의 NADH에 의한 지방산 합성증가로 지질과산화가 촉진되며, Met과 Se 결핍시 GSH-Px의 활성감소는 간의 지질과산화를 더욱 촉진시키기 때문이다. 그러므로 알코올 투여군중 LMet-Se+EtOH군의 GSH-Px 활성이 가장 유의적으로 감소된 것은 GSH-Px의 필수 구성성분인 식이성 Se과 기질인 Met의 영향 때문으로 사료된다.

간의 GST 활성은 알코올 투여군이 대조군에 비하여 증가하는 경향이였으며, 5주 사육시 Met 수준이 높을수록 그 활성이 감소하였으며, 10주시에는 NMet군이 LMet군과 HMet에 비하여 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 LMet군에서 Se 결핍군에 비하여 Se 공급시 유의한 감소가 나타났으며, 알코올 투여기간이 길어질수록 간조직중의 GST 활성이 유의적으로 감소하였다. Se 비의존성 효소인 GST는 독성물질의 친전자성체에 환원형 글루타티온을 포함시키며 글루타티온 티오에스테르 형성반응을 촉매하여 무독화한다(48). 비록 GST는 과산화수소는 분해할 수 없으나 Se이 결핍

된 간조직의 유기과산화물 분해에 중요한 역할을 하며 GSH-Px 활성감소에 대한 보상반응을 수행한다(49). 본 실험결과에서 5주와 10주군 공히 LMet-Se+EtOH군의 GST 활성이 현저하게 높았는데 이는 GST가 지질과산화에 대항하여 세포를 보호하는 효소로서 Se 결핍시 그 활성이 유의적으로 증가된다는 Tanner 등(50)의 보고와 유사한 결과이다.

요 약

Met과 Se의 공급수준이 흰쥐의 알코올대사 효소계에 미치는 영향을 관찰하고자, Sprague-Dawley종의 웅성 흰쥐에게 Se 무첨가 및 정상 공급식이(0, 0.45mg/kg diet)에 Met(0, 3, 9g/kg diet)을 투여한 후 5주와 10주간 사육하여 간조직중의 알코올 대사효소와 항산화 방어 효소계 활성도를 관찰하였다. 알코올은 aldehyde dehydrogenase와 microsomal ethanol oxidizing system 활성도를 유의적으로 증가시켰으며, Met과 Se의 동시 결핍시 현저하게 감소하였고 Met과 Se의 동시 공급군의 경우 알코올 투여기간이 길수록 그 활성이 유의적으로 증가하였다. Aldehyde dehydrogenase 활성도는 알코올 투여로 감소하였으며 Met과 Se 동시 결핍군에서는 현저한 감소를 나타내었고, 사육기간이 길수록 그 활성이 유의적으로 감소되었다. Cytochrome P-450과 xanthine oxidase 활성도는 알코올 투여시 유의적으로 증가되었는데 Se 결핍시 Met 결핍군과 과량공급군에서 그 증가가 현저하였으며, 5주 실험군에 비해 10주 실험군에서 유의적인 증가를 나타내었다. Superoxide dismutase, catalase 및 glutathione S-transferase 활성도는 알코올 투여시 증가되었으며, superoxide dismutase와 catalase 활성도는 알코올 투여기간이 길수록 유의적인 증가를 나타내었다. 알코올 투여시 glutathione

peroxidase 활성도는 감소되었으며, Met 수준이 높을수록 증가하는 경향이었고, Met과 Se 동시 결핍시 현저하게 감소하였다. 이상의 결과에서 식이성 Met과 Se은 동물의 성장 및 정상적 대사유지에 필수적인 영양소로서 알코올을 투여시 Met과 Se 첨가에 따라 알코올대사 효소활성도와 항산화 방어효소 활성도의 변화를 유도할 수 있었다. 또한 식이 kg당 3g의 Met과 0.45mg의 Se 동시 공급시 원활한 알코올 대사를 유도하여 알코올성 간손상을 가장 효율적으로 경감시킬 수 있는 것으로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 1996년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- Weiner, N. and Taylor, P. : Alcohol : In "The pharmacological basis of therapeutics" Gilman, A. G., Goodman, L. S., Rall, T. W. and Murad, F.(eds.), 7th ed., Macmill Publishing Co., New York, p.66(1980)
- Mendelson, J. H. : Alcohol abuse and alcohol-related illness. In "Cecil textbook of medicine" Beeson, P. B., Mcdermptt, W. and Wyngaarden, J. B.(eds.), 5th ed., W. B. Saunders company, London, p.705(1979)
- Koivula, T. and Lindors, K. O. : Effect of long-term ethanol treatment on aldehyde and alcohol dehydrogenase activities in rat liver. *Biochem. Pharmacol.*, **24**, 1937(1975)
- Nordmann, R., Ribiere, C. and Rouach, H. : Ethanol induced lipidperoxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. *Alcohol-Alcoholism*, **25**, 231(1990)
- Summerfield, F. W. and Tappel, A. L. : Effect of dietary polyunsaturated fats and vitamin E on aging and peroxidative damage to DNA. *Arch. Biochem. Biophys.*, **233**, 408(1984)
- 박평심 : 백서에서 에탄올에 의해 유도되는 간 손상에 대한 양과의 억제 효과. 조선대학교 논문집, p.1(1993)
- Hafeman, D. G. and Hoekstra, W. G. : Protection against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E, selenium and methionine as measured by ethanol evolution. *J. Nutr.*, **107**, 656(1977)
- Reed, D. J. : Regulation of reductive processes by glutathione. *Biochem. Pharmacol.*, **35**, 7(1986)
- Younes, M. and Strubelt, O. : Role of free radicals in ethanol-induced acute hepatotoxicity. *Adv. Biochem.*, **76**, 261(1994)
- Shaw, S., Jayatilleka, E., Ross, W. A., Gordon, E. R. and Lieber, C. S. : Ethanol-induced lipid peroxidation : Potentiation by long-term alcohol feeding and attenuation by methionine. *J. Lab. Clin. Med.*, **98**, 417(1981)
- Hill, K. E., Burk, R. F. 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)
- Lieber, C. S. : Alcohol and the liver. *Gastro*, **106**, 1085(1994)
- Vina, J., Estrella, J. M., Guerro, C. and Romero, F. J. : Effect of ethanol on glutathione concentration in isolated hepatocytes. *J. Biochem.*, **188**, 549(1980)
- 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 phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
- Bergmeyer, H. U. : Methods of enzymatic analysis. Academic Press, New York, p.28(1974)
- Lieber, C. S. and DeCarli, L. M. : Ethanol oxidation by hepatic microsomes-adaptive increase after ethanol feeding. *Science*, **162**, 917(1968)
- 최종원 : 인삼 사포닌이 알콜의 약리작용 및 대사효소 활성에 미치는 영향. 영남대학교 대학원 박사학위논문 (1983)
- Koivula, T. and Koivusalo, M. : Different from of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochem. Biophys. ACTA*, **397**, 9(1975)
- 조윤성 : 고추가 백쥐의 간 마이크로솜 cytochrome P-450에 미치는 영향. 대한약리학회지, **10**, 17(1979)
- Stirpe, F. and Della, C. E. : The regulation of rat liver xanthine oxidase : Conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase(Type D) to oxidase(Tape O). *J. Biol. Chem.*, **244**, 3855(1969)
- Marklund, S. and Marklund, G. : Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol & a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, **47**, 469(1974)
- Aebi, H. : Catalase. In "Methods of enzymetic analysis" Bergmeyer, H. U.(ed.), Academic Press, New York, Vol. 2, p.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., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B. : Glutathione S-transferase : The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130(1974)
- Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. : Statistical methods. 6th., Iowa State University Press, Iowa, p.1(1967)
- 주충도, 구자현, 강방희 : 인삼사포닌의 생화학적 연구 (XIV) ; 인삼사포닌이 알코올 산화에 미치는 영향. 한국생화학회지, **12**, 18(1979)
- Teschke, R., Moreno, F. and Petrides, A. S. : Hepatic microsomal ethanol oxidizing system(MEOS) : Respective roles of ethanol and carbohydrates for the enhanced activity after chronic alcohol consumption. *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 1745(1981)
- Lieber, C. S. and DeCarli, L. M. : Hepatic microsomal ethanol oxidizing system : *In vitro* characteristics and adaptive properties *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, **245**, 2505(1970)
- Lieber, C. S. : The influence of alcohol on nutritional

- status. *Nutr. Rev.*, **46**, 241(1988)
31. Horton, A. A. : Indiction of aldehyde dehydrogenase in microsomal fraction. *Biochem. Biophys. Acta*, **253**, 514(1971)
 32. Jenkins, W. J., Cakebred, K. and Palmer, K. R. : Effect of ethanol consumption on hepatic aldehyde dehydrogenase activity in alcoholic patients. *Lancet*, **1**, 1048 (1984)
 33. Kosten, M. A., Matsusaki, S., Feinman, L. and Liber, C. S. : High blood acetaldehyde levels after ethanol administration. *New Eng. J. Med.*, **292**, 386(1975)
 34. Lieber, C. S., Baraona, E., Hernandez-Munoz, R., Kutoba, S., Sato, N., Kawano, S., Matura, T. and Inatom, N. : Impaired oxygen utilization. *J. Clin. Invest.*, **83**, 1682 (1989)
 35. Walter, M. : Trace element in human and animal nutrition. 5th ed., Academic Press, INC.(1986)
 36. 김갑순, 정승용, 김석환 : 식이내 selenium과 vitamin E 가 alcohol을 섭취한 흰쥐의 간지질산화에 관련된 효소의 활성에 미치는 영향. *한국영양학회지*, **22**, 116(1993)
 37. Klaassen, C. D., Andur, M. O. and Doull, J. : Casarett and doull's toxicology. 3th ed., MCMillan Publishing company, New York, p.556(1986)
 38. Peter, R., Beverleigh, T., Jerone, D. and Robert, D. S. : Ethanol induced injury to the rat gastric mucosa. *Gastroenterology*, **98**, 909(1990)
 39. Karkkainen, P., Mussalo-Rauhamaa, H., Poikolainen, K. and Lehto, J. : Alcohol intake correlated with serum trace elements. *Alcohol-Alcoholism*, **23**, 279(1988)
 40. 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)
 41. Ji, L. L., Stratman, F. W. and Lardy, H. A. : Antioxidant enzyme response to Se-deficiency in rat myocardium. *J. Am. College Nutr.*, **11**, 79(1992)
 42. Thomson, C. D., Lay, K. O. and Marion, F. R. : Effect of supplementation with high-selenium wheat bread on selenium, glutathione peroxidase and related enzymes in blood components of New Zealand residents. *Am. J. Clin. Nutr.*, **42**, 1015(1985)
 43. Baliga, R., Baliga, M. and Shan, S. V. : Effect of selenium-deficient diet in experimental glomerular disease. *Am. J. Physiol.*, **263**, 56(1992)
 44. Chow, C. K. : Effect of dietary selenium and vitamin E on the antioxidant defence system of rat erythrocytes. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **49**, 182(1979)
 45. Aykac, G., Uysal, M., Yalcin, S., Kocak-Toker, N., Sivas, A. and Oz, H. : The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicol.*, **36**, 71(1985)
 46. Reddy, K. and Tappel, A. L. : Effect of dietary selenium and autoxidized lipids on the glutathione peroxide system of gastrointestinal tract and other tissues in the rat. *J. Nutr.*, **104**, 1069(1974)
 47. 박영일, 정안식 : Selenium을 투여한 백서의 간에 있어 glutathione S-transferase의 유도. *한국생화학회지*, **22**, 61(1989)
 48. Arther, J. A., Morrice, P. C., Nicol, F., Beddows, S. E., Boyd, R., Hyes, J. D. and Beckett, G. J. : The effect of selenium and copper deficient on glutathione S-transferase and glutathione peroxidase in the rat liver. *Biochem. J.*, **248**, 539(1987)
 49. Kaplowitz, N. : Physiological significance of GSH S-transferases. *Am. J. Physiol.*, **239**, 439(1980)
 50. Tanner, A. R., Bantock, I., Hinks, L., Lloyd, B., Turner, N. R. and Wright, R. : Depressed selenium and vitamin E levels in an alcoholic population : Possible relationship to hepatic injury through increased lipid peroxidation. *Digestive Diseases and Science*, **31**, 1307(1986)

(1997년 2월 13일 접수)