

## 메티오닌과 셀렌이 에탄올 중독된 흰쥐의 뇌지질과산화에 미치는 영향

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

영남대학교 식품영양학과

\*대구산업전문대학 식품영양과

### Effect of Methionine Levels on Brain Lipid Peroxidation in Ethanol-treated Rats of Selenium Deficiency

Soo-Yeul Cho<sup>†</sup>, Mi-Kyung Lee, Eun-Mi Park, Ju-Yeun Jang and Myung-Joo Kim\*

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

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

#### Abstract

This study was designed to investigate the effects of methionine(Met) on the activities of brain lipid peroxidation related enzymes in ethanol administrated rats of selenium(Se) deficiency. Male Sprague-Dawley rats were fed Se deficiency diets containing one of the three levels of Met(0, 3, 9g/kg diet) and ethanol(2.5g/kg of body weight) was administrated as 25v/v% ethanol treated groups orally. The rats sacrificed after 5 and 10 weeks of feeding periods. Alcohol dehydrogenase activity was increased in ethanol treated groups and was higher Met normal group than Met deficiency and excessive groups at 5 and 10 weeks dieting. Aldehyde dehydrogenase activity was decreased in ethanol treated groups and significantly decreased in Met deficiency group. Monoamine oxidase activity in brain was increased in ethanol treated groups and was predominantly increased in Met deficiency groups. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities were decreased in ethanol treated groups and tended to increase in proportion to level of dietary methionine. Glutathione S-transferase and catalase activities and lipid peroxide content were increased by ethanol administration and were higher Met deficiency group than normal and excessive groups.

**Key words:** methionine, selenium, ethanol, brain lipid peroxidation

#### 서 론

현대사회는 정신적 스트레스로 인한 에탄올 섭취량의 증가로 영양불량과 에탄올 중독의 상호반응이 공중 보건 문제로 대두되므로, 에탄올의 신경독성에 영양결핍의 상대적 공존에 대한 논의가 제기되고 있다(1). 뇌는 에탄올과 그 대사산물 및 acetaldehyde를 포함한 약물에 민감하게 영향을 받는 조직으로 에탄올에 의해 직접 독성적 손상이 유발됨이 알려져 있으며, 임상적 자료에 의하면 영양결핍이 뇌손상에 중요한 역할을 한다고 제시되고 있다(1). 에탄올 중독은 장기간 연구되어 왔으나 중추신경계에서 일어나는 에탄올 대사에 대한 명확한 자료는 얻지 못한 실정이다.

에탄올은 비타민, 미량원소, 단백질과 같은 영양소

를 함유하고 있지 않기 때문에 'empty calorie food'라 하며, 식이의 질을 떨어뜨려 영양성 질병을 일으킬 수 있다. 에탄올 중독은 대부분 필수영양소의 대사·수송·이용·활성·저장을 변화시키므로(1) 영양결핍과 에탄올 중독은 신경계에 손상을 가중시킨다는 사실은 에탄올 중독치료에 있어서 영양섭취의 중요성을 더욱 부각시킨다.

에탄올 대사는 지질과산화에 의한 손상을 야기하는데 특히 신경조직이 지질과산화로 인한 손상에 민감한 것은 산소 소비량이 높고 산화가 용이한 다가불포화지방산과 카테콜아민 함량이 높은 반면, 세포내 항산화 방어와 관련된 효소의 활성이 저하되기 때문이다(2). 이러한 에탄올에 의한 지질과산화물 생성은 환황아미노산인 methionine(Met)과 glutathione(GSH), 비타민 C,

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

E 및 selenium(Se) 등과 같은 항산화 영양소를 공급함으로써 예방할 수 있다. 뇌에서 항산화제로서의 비타민 E와 C의 역할은 비타민 E를 결핍시킨 실험으로 확인되었으며, 저농도에서 pro-oxidant로 작용하는 비타민 C는 고농도에서는 항산화제로 활성화됨이 보고(3)되었다. 또한 신경조직의 지질과산화 억제에 GSH가 관여하며 급성 에탄올 투여는 소뇌의 Se과 Zn 농도를 감소시키는 것으로 알려져 있다.

Met은 세포조직의 성장·유지 및 다른 대사적 기능을 위한 필수아미노산으로서 생체내에서 지질과산화 반응에 관여하나 그 기전에 대해서는 완전히 규명되지 않았다. 다만 Met이나 그 대사물질의 -SH기가 직접적인 유리기 제거제로서 작용하여 GSH의 농도를 일정하게 유지시키며, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 및 지질과산화물로부터 세포를 보호하기 위해 glutathione peroxidase(GSH-Px)의 기질로서 작용할 것이라는 의견(4)이 제시되고 있다. 또한 항산화작용과 중금속 해독작용이 있는 Se은 GSH 존재하에서 지질과산화등의 유기과산화물과 과산화수소를 H<sub>2</sub>O로 전환하여 유리기 생성을 억제하는 GSH-Px의 필수 구성성분으로서 세포막 손상을 방지하고 산화에 예민한 세포를 보호하는 기능을 가진다(5). Se이 제한된 식이 공급시 흰쥐들의 성장이 저하되고 간의 GSH-Px 활성이 현저하게 감소되었으나, 함황아미노산은 GSH-Px 활성에 효과적이지는 못하였다. 즉 trans-sulfuration 효율은 Se 결핍에 의해 손상된다(6). Se의 효과는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 지질과산화물을 이화하여 지질과산화 반응의 개시를 억제하는 selenoenzyme 즉 GSH-Px를 통해 나타나며, 함황아미노산의 방어기능은 세포내 GSH의 적정합성을 위한 cysteine을 공급한다(7). 또한 Se과 함황아미노산은 에탄올 독성에 방어효과를 가진다. Se 결핍에 기인한 손상에 대해 대사산물 중 -SH기를 생성하는 Met이 보호작용을 나타낼 것으로 생각된다(7).

따라서 뇌에서의 에탄올 대사는 여전히 논란의 주제이나 에탄올 중독치료를 적정한 식이 공급이 중요하므로, 본 연구에서는 에탄올에 중독된 흰쥐를 대상으로 영양적으로 상호보완 관계에 있는 Met과 Se의 양적 관계를 밝히고자, Se을 결핍시킨 후 Met 수준을 달리

급여하므로써 에탄올에 의한 뇌조직 과산화지질에 미치는 항산화 영양소의 상호작용을 구명코자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물 사육 및 식이

실험동물은 Sprague-Dawley 종의 이유한 웅성 흰쥐 48마리를 사용하여 10일간 기본식으로 적응시킨 후, 평균체중이 110±10g인 것을 난괴법에 의해 4군(Table 1)으로 나누어 stainless steel cage에 한마리씩 분리하여 5주 및 10주간 사육하였다. 실험동물 사육시 일어날 수 있는 무기질 오염을 방지하기 위하여 실험시작 전 사육에 필요한 모든 기구는 0.4% EDTA 용액으로 세척하여 사용하였다. 기본식은 AIN-76(8)(Table 2) 조성에 따랐으며 단백질 급원은 Met이 제한되고 Se이 적게 함유되어 있는 soy protein(Tekled Co.)을 사용하였고, 에탄올은 Liu 등(9)의 방법에 따라 25% 에탄올을 체중 1kg 당 2.5g씩 1일 1회 구강 투여하였다. 대조군은 에탄올과 동일열량의 sucrose 용액을 투여하였다.

### 시료의 채취

5주와 10주간 사육한 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 에테르로 마취시켜 적출한 뇌조직을 5mM EDTA를 함

Table 2. Composition of basal diet

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

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

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

Table 1. Grouping of experimental animals

Experimental group	Methionine(g/kg diet)	Selenium(mg/kg diet)	EtOH administration
Control	3	0.45	-
LMet-EtOH	0	0.0	+
NMet-EtOH	3	0.0	+
HMet-EtOH	9	0.0	+

Control: Normal methionine, normal selenium diet group

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

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

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

유한 10mM phosphate buffer(pH 7.4) 용액을 가하여 빙냉하에서 마쇄한 균질액(10w/v%)을 얻어, 600×g에서 10분간 원심분리하였다. 상정액을 취하여 10,000×g에서 20분간 원심분리(Hitachi 20PR-520)하고 mitochondria fraction을 분리한 후 다시 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol fraction과 microsomal fraction을 효소원으로 취하였다. 효소활성은 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 Lowry법(10)에 준해 측정된 단백질 mg당의 고유 활성도로 나타내었다.

### 시료의 분석

Alcohol dehydrogenase 활성은 Bergmeyer(11)의 방법으로, aldehyde dehydrogenase의 활성은 Koivula와 Koivusalo(12)의 방법에 준하여 측정하였다. Monoamine oxidase의 활성은 Kalaria 등(13)의 방법에 따라 측정하고, superoxide dismutase의 활성은 Marklund와 Marklund(14)의 방법에 준하여 측정하였다. Glutathione peroxidase의 활성 측정은 Paglia와 Valentine(15)의 방법에 준하여 측정하였고, glutathione S-transferase의 활성 측정은 Habig 등(16)의 방법에 준하였으며, catalase의 활성 측정은 Aebi(17)의 방법으로 측정하였다. 뇌조직 중의 glutathione의 함량은 Ellman(18)의 방법으로 측정하였으며, 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등(19)의 방법에 의하여 측정하였다.

### 통계처리

실험결과는 SAS package를 이용하여 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고 각군간 평균치의 통계적 유의성은  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple test(20)에 의해 검정하였다.

## 결과 및 고찰

Alcohol dehydrogenase와 aldehyde dehydrogenase의 활성도

뇌조직 중의 Alcohol dehydrogenase(ADH)와 alde-

hyde dehydrogenase(AIDH)의 활성변동은 Table 3에 나타내었다.

ADH 활성은 실험기간 5주와 10주 모두 에탄올 투여군이 대조군에 비해 유의적인 증가를 보였으며, Met 정상급여군이 결핍과 과량급여군에 비해 뚜렷한 증가를 나타내었다. 에탄올 투여군에서 Met과 Se 동시 결핍 시 ADH 활성이 억제되었으며 투여기간이 길수록 ADH의 활성 억제가 가중되었다.

뇌의 ADH의 존재와 에탄올 대사 능력만으로는 뇌에서의 에탄올 영향을 설명할 수는 없으나, 에탄올 섭취 후 뇌조직의 산소 소비량이 감소되므로써 뇌세포막에 변화가 초래되는 것으로 보인다(21).

뇌에서 에탄올이 acetaldehyde로 전화되지 않았다는 보고(22)가 있는 반면, 에탄올 농도가 간의 2배 정도 고농도에서는 ADH가 활성화된다는 보고(23)와 같이 본 실험에서는 에탄올 투여시 ADH의 활성이 유의적으로 증가되었다. Met을 식이로 급여할 경우 뇌의 ADH 활성은 현저하게 증가되었다.

AIDH의 활성은 Met 결핍군의 경우 에탄올 투여시 유의하게 감소되었으며 5주 및 10주 공히 Met 정상급여군이 결핍과 과량급여군에 비해 유의적으로 감소를 억제하였다. 에탄올 투여 기간에 따른 차이는 유의적이지는 않으나 10주군이 5주군에 비해 감소하는 경향이 있었다. 이는 에탄올의 만성적 투여시에도 뇌의 AIDH 활성은 변화되지 않았다는 보고(24)와 Breese 등(25)은 뇌에서 biogenic aldehyde의 환원을 촉매하는 효소의 기질특이성이 간의 AIDH와 다른 때문으로 설명하고 있다.

Acetaldehyde는 뇌에서 대사되어 생성된 것인지 또는 말초기관에서 순환 결과로 뇌에 나타나는지 분명치 않으나 뇌에서 acetaldehyde를 acetate로의 전환을 촉매하는 효소는 AIDH로서, 그 특징은  $\text{NAD}^+$  의존성이 높으며 AIDH의 활성 부위는 -SH기를 포함하고 있어 thiohemiacetal을 형성하여 aldehyde 기질과 결합하는 것으로 알려져 있다(26).

Table 3. Effect of methionine levels on brain ADH and AIDH activities in EtOH-treated rats of Se deficiency

Group	ADH(nmoles/min/mg protein)		AIDH(nmoles/min/mg protein)	
	5week	10week	5week	10week
Control	6.50±0.28 <sup>c</sup>	6.80±0.33 <sup>d</sup>	11.18±0.37 <sup>a</sup>	10.43±0.37 <sup>a</sup>
LMet-EtOH	8.09±0.58 <sup>b</sup>	7.52±0.28 <sup>*c</sup>	9.23±0.47 <sup>c</sup>	9.00±0.46 <sup>b</sup>
NMet-EtOH	9.85±0.43 <sup>a</sup>	9.31±0.34 <sup>a</sup>	10.60±0.53 <sup>ab</sup>	10.53±0.22 <sup>a</sup>
HMet-EtOH	9.44±0.62 <sup>a</sup>	8.80±0.50 <sup>b*</sup>	10.11±0.53 <sup>b</sup>	9.98±0.27 <sup>ab</sup>

Values are mean±S.D.(n=6)

\*Significantly different between 5 and 10 weeks in same experimental group

### Monoamine oxidase와 superoxide dismutase의 활성도

에탄올과 실험식을 급여한 흰쥐의 뇌조직 중의 monoamine oxidase(MAO)와 superoxide dismutase(SOD)의 활성은 Table 4와 같다.

MAO 활성은 에탄올 투여군이 대조군에 비해 유의적인 증가를 나타내었으며, Met과 Se 동시 결핍군의 그 증가가 가장 현저하였다. Met 급여에 의해 MAO 활성이 억제되었고 투여기간에 따른 영향은 유의적이지 않았다.

SOD 활성은 에탄올 투여로 유의적으로 감소되었으며, 5주 및 10주 모두 Met 과량급여군이 결핍과 정상급여군에 비해 유수적으로 증가하였다. 기간에 따른 영향을 살펴보면 10주군이 5주군에 비해 에탄올에 의한 SOD 활성 감소 정도가 낮은 것으로 나타났다. 이와 같이 에탄올 투여로 인한 뇌조직의 SOD 활성 감소는 에탄올에 의해 증가된 superoxide radical에 의한 소모 때문(27)이며, 또한 에탄올 섭취시 Met과 Se의 동시 결핍은 SOD 활성을 현저하게 감소시켰는데 Se 결핍은 에탄올 투여에 따른 superoxide radical 생성을 가중시켰으며 이를 제거하기 위해 소모된 때문으로 생각된다.

에탄올은 뇌 미토콘드리아의 산화적 인산화를 저해하는 것이 아니라 대뇌피질에 의한 산소 소비가 억제되므로 에탄올에 의한 손상부위가 산화계와 관련되어 있을 것이며, 이로 인해 세포막의 정상적 기능에 영향을 미칠 것이므로 본 실험에서 MAO와 SOD의 활성이 에탄올 투여시 현저하게 감소된 것으로 생각된다(21).

### Glutathione peroxidase와 glutathione S-transferase의 활성도

5주와 10주동안 에탄올 투여하고 Met을 수준별로 급여한 결과 뇌조직 중의 glutathione peroxidase(GSH-Px)와 glutathione S-transferase(GST)의 활성은 Table 5와 같다.

GSH-Px 활성은 5주와 10주군 모두 에탄올 투여시 감소되었으며 Met 과량급여군이 결핍군과 정상급여군에 비해 유의적으로 감소를 억제하였다. 이는 GSH-Px의 필수 구성성분인 식이성 Se의 영향 때문으로 Se과 Met 동시 결핍시 활성이 정상급여군에 비해 유의적으로 감소하였는데 이는 Se 결핍이 뇌조직의 지질과산화물을 더욱 촉진한 때문으로 사료된다. 또한 10주군의 경우 에탄올 투여시 Met 과량급여군의 GSH-Px 활성이 다른 에탄올 투여군에 비해 현저하게 높았는데 이는 과잉의 Met 급여는 오히려 지질과산화반응을 촉진시켜서 이에 대한 방어기전으로서 GSH-Px의 활성도가 높아질 수 있다는 보고(28)와 유사한 경향이다.

에탄올 투여로 증가된 GST 활성은 Met 결핍에 의해 더욱 가중되었으며 10주군이 5주군에 비해 GST 활성이 유의적으로 증가된 것으로 보아 장기간의 Met 결핍은 에탄올 중독을 심화시킬 것으로 생각된다. 이 경향은 지질과산화물 함량이 높은 Met과 Se 동시 결핍군에서 현저하게 나타났다. 즉 Se 비의존성 효소인 GST는 독성물질의 친전자성체에 환원형 GSH를 포함시켜 GSH thioester 형성을 촉매하여 무독화시키는데 (29), 이상의 결과는 에탄올 투여, Met 결핍 및 Se 결핍

Table 4. Effect of methionine levels on brain MAO and SOD activities in EtOH-treated rats of Se deficiency

Group	MAO(nmoles/mg protein/min)		SOD(unit/mg protein)	
	5week	10week	5week	10week
Control	5.34±0.20 <sup>c</sup>	5.36±0.23 <sup>c</sup>	10.48±1.12 <sup>a</sup>	8.25±0.86 <sup>a*</sup>
LMet-EtOH	6.19±0.47 <sup>a</sup>	6.29±0.37 <sup>a</sup>	5.59±0.24 <sup>d</sup>	6.84±0.49 <sup>b*</sup>
NMet-EtOH	5.67±0.19 <sup>bc</sup>	5.93±0.23 <sup>ab</sup>	6.77±0.44 <sup>c</sup>	7.11±0.45 <sup>b</sup>
HMet-EtOH	5.94±0.25 <sup>ab</sup>	5.59±0.38 <sup>bc</sup>	8.15±0.45 <sup>b</sup>	7.69±0.04 <sup>ab</sup>

Values are mean±S.D.(n=6)

\*Significantly different between 5 and 10 weeks in same experimental group

Table 5. Effect of methionine levels on brain GSH-Px and GST activities in EtOH-treated rats of Se deficiency

Group	GSH-Px(Decreased NADPH nmoles/mg protein/min)		GST(nmoles DNCB/mg protein/min)	
	5week	10week	5week	10week
Control	22.39±2.17 <sup>a</sup>	23.19±2.63 <sup>a</sup>	1.07±0.20 <sup>b</sup>	2.46±0.34 <sup>bc*</sup>
LMet-EtOH	11.02±0.90 <sup>d</sup>	16.57±0.67 <sup>c*</sup>	1.61±0.29 <sup>a</sup>	3.72±0.30 <sup>a*</sup>
NMet-EtOH	14.02±2.48 <sup>c</sup>	19.69±1.60 <sup>b*</sup>	1.21±0.33 <sup>ab</sup>	2.68±0.21 <sup>b*</sup>
HMet-EtOH	18.31±2.48 <sup>b</sup>	23.38±2.37 <sup>a*</sup>	1.40±0.31 <sup>ab</sup>	2.26±0.32 <sup>c*</sup>

Values are mean±S.D.(n=6)

\*Significantly different between 5 and 10 weeks in same experimental group

으로 지질과산화가 촉진되고 GSH-Px의 활성이 저하되어 지질과산화가 억제되지 않으므로써 생성된 유리기에 의한 독성물질을 제거키 위해 GST의 활성이 증가된 것으로 사료된다.

#### Catalase 활성도

실험식이와 에탄올을 투여하여 5주 및 10주간 사육한 흰쥐의 뇌조직 중의 catalase 활성은 Table 6에 나타내었다.

Catalase 활성은 5주 및 10주 동안 에탄올 투여시 유의적인 증가를 나타내었고, Met이 제한된 군의 경우 Met 정상급여군 및 과량급여군에 비하여 유의적인 증가를 보였다. Anderson과 Schulman은 catalase에 매개된 에탄올 대사는 뇌에 존재하는 MAO와 같은 과산화물 생성계에 의한 것으로 보고(30)하고 있다. 그러나 뇌에서 catalase가 acetaldehyde를 생성치 않을 것이라(31) 상반된 보고도 있다.

Catalase는 체내에서 지방의 자동산화 및 유기물의 산화로 생긴 과산화수소를 소거하는 2가지 주효소 중의 하나로서 이상의 결과는 Se 결핍으로 인한 GSH-Px의 활성 저하가 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 체내 축적을 가중시켜 뇌에서의 catalase 활성을 촉진하게 된 것으로 사료된다.

#### Glutathione과 lipid peroxide 함량

뇌조직 중의 glutathione(GSH)와 lipid peroxide(LPO)

**Table 6. Effect of methionine levels on brain catalase activity in EtOH-treated rats of Se deficiency**

Group	Catalase (Decreased H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> nmoles/mg protein/min)	
	5week	10week
Control	1.15±0.10 <sup>d</sup>	1.58±0.05 <sup>c*</sup>
LMet-EtOH	2.36±0.14 <sup>a</sup>	2.02±0.07 <sup>a*</sup>
NMet-EtOH	2.12±0.14 <sup>b</sup>	1.74±0.04 <sup>b*</sup>
HMet-EtOH	1.66±0.03 <sup>c</sup>	1.72±0.01 <sup>b*</sup>

Values are mean±S.D.(n=6)

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

**Table 7. Effect of methionine levels on brain GSH and LPO contents in EtOH-treated rats of Se deficiency**

Group	GSH(μmoles/g of tissue)		LPO(MDA nmoles/g of tissue)	
	5week	10week	5week	10week
Control	0.44±0.01 <sup>a</sup>	0.48±0.01 <sup>a*</sup>	1.44±0.10 <sup>c</sup>	1.54±0.03 <sup>b</sup>
LMet-EtOH	0.15±0.01 <sup>d</sup>	0.30±0.01 <sup>c*</sup>	2.49±0.06 <sup>a</sup>	2.01±0.02 <sup>a*</sup>
NMet-EtOH	0.23±0.01 <sup>c</sup>	0.36±0.01 <sup>b</sup>	1.79±0.10 <sup>b</sup>	1.95±0.07 <sup>a</sup>
HMet-EtOH	0.40±0.02 <sup>b</sup>	0.29±0.03 <sup>c*</sup>	1.57±0.07 <sup>bc</sup>	1.97±0.14 <sup>a*</sup>

Values are mean±S.D.(n=6)

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

함량변동은 Table 7에 나타내었다.

GSH 함량은 에탄올 투여에 의해 유의적으로 감소되었는데 Met 급여수준이 높아질수록 에탄올로 인해 감소된 GSH 함량이 유의적으로 증가되었으며, 10주군이 5주군에 비해 증가 정도가 현저하였다. 이는 지질과산화물 생성 증가로 GSH 함량 감소가 유도될 것으로 생각된다. 본실험에서 Se과 Met 동시 결핍은 체내 Se이 결핍된 상태에서 식이로 급여시킨 Met으로부터의 transsulfuration 효율이 저하되어 cysteine의 형성이 감소되며 따라서 GSH 형성이 저하된다(6). 에탄올이 체내 GSH 함량에 미치는 영향은 섭취하는 에탄올의 섭취량, 급·만성 여부, 실험동물의 종류 및 식이의 항산화제 수준 등에 의해 좌우되는데, 과량의 Met 급여는 에탄올 유도 GSH 함량감소를 방어해 지질과산화를 억제하며, 뇌의 GSH 수준 유지가 에탄올성 뇌손상 진행을 변화시킬 수 있다는 사실을 확인하였다.

LPO 함량은 에탄올 투여시 증가되었으며 5주군의 경우 Se과 Met 동시 결핍에 의해 지질과산화물 생성이 현저하게 높았는데 이 현상은 Met 정상급여와 과량 급여시 어느 정도 감소되었다. 이는 Shaw 등(4)이 식이에 GSH의 전구체인 Met을 강화할 경우 지질과산화가 감소되었다는 보고와 일치하는 결과로서 cysteine과 GSH의 전구체인 Met이 생체내 일정 농도의 GSH를 보유하여 과산화물을 감소시키며 독성물질에 대해서 방어작용을 하는 것으로 사료된다. 또한 Se 결핍시 Met의 과량급여는 지질과산화물 함량이 다른 에탄올 투여군에 비하여 가장 낮았는데 이는 GSH과 이에 연관된 thiol들은 지질과산화와 상관관계가 있으며, 이들 화합물이 세포에 형성된 과산화수소를 감소시킬뿐 아니라 과산화를 개시하는 유리기와 결합하기 때문으로 영양적으로 Se 결핍에 대한 Met의 항산화적 효과를 관찰할 수 있었다. 지질과산화의 증가는 synaptosomal 막 유동성과 일부 신경전달물질 대사를 변화시켜 에탄올 내성과 방어기전을 촉진케 한다(32). 따라서 항산화 영양소인 Se과 Met은 저분자량 이온 유도체를 증가시켜 산화적 스트레스 유도를 방어하므로써 에탄올과 관

련된 주요 장애를 예방하는데 가치가 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

에탄올 투여로 인한 뇌조직의 지질과산화에 미치는 식이성 Met과 Se의 효과를 구명코자 Se을 결핍시킨 흰쥐를 대상으로 Met을 수준(0, 3, 9g/kg diet)별로 급여하였으며, 실험기간은 5주와 10주로 사육하여 뇌조직의 알코올 대사효소와 유리기 제거 효소계의 활성을 관찰하였다. 알코올 대사효소인 ADH 활성은 5주와 10주군에서 에탄올 투여시 증가되었고 Met 정상급여군이 결핍과 과량급여군에 비해 유의적인 증가를 나타내었다. ADH 활성은 에탄올 투여로 유의하게 감소되었고 특히 Met와 Se 동시 결핍시 감소가 가장 현저하였다. 투여기간이 길수록 활성은 감소하는 경향이였다. MAO 활성은 에탄올 투여군이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, Met 급여에 의해 활성은 억제되는 것으로 나타났다. SOD 활성은 에탄올 투여로 유의적인 감소를 보였으며 5주 및 10주 모두 Met 과량급여군이 결핍과 정상급여군에 비해 유의적으로 증가하였다. GSH-Px 활성은 에탄올 투여로 유의적으로 감소되었으며, Met과 Se 동시결핍군에서 가장 감소정도가 큰 것으로 나타났다. Met 급여수준이 증가할수록 그 활성은 유의적으로 증가하였으며, 10주군이 5주군에 비해 활성이 증가하였다. 에탄올 투여로 증가된 GST 활성은 Met 결핍에 의해 더욱 가중되었으며 10주군이 5주군에 비해 GST 활성이 유의적으로 증가된 것으로 보아 장기간의 Met 결핍은 에탄올 중독을 심화시킬 것으로 생각된다. Catalase 활성은 에탄올 투여로 유의적인 증가를 나타내었고 Met 결핍군이 정상급여군 및 과량급여군에 비하여 유의적인 증가를 보였다. GSH 함량은 에탄올에 의해 유의적으로 감소되었는데 Met 급여수준이 증가할수록 에탄올로 인해 감소된 GSH 함량이 유의적으로 증가되었으며, 10주군이 5주군에 비해 증가 정도가 현저하였다. 과산화의 지표인 LPO 함량은 에탄올 투여시 증가되었고 Met 결핍군은 정상급여군에 비해 유의적으로 증가되었으며, 특히 Met 과량급여시 5주군에 비해 10주군이 유의적으로 증가하였다. 이상의 결과에서 Se 결핍시 Met 급여로 인해 에탄올 대사효소의 활성 증가 및 에탄올에 의해 증가된 뇌의 지질과산화를 줄이는 것으로 보아 Met이 생체의 노화를 방지할 수 있을 것으로 생각되며, Se 결핍으로 증가된 지질과산화 반응에 대한 보호와 적응 수단으로써 방어효소의 활성도가 높아진 것으로 사료된다.

## 문 헌

- Manzo, L., Locatelli, C., Candura, S. M. and Costa, L. G. : Nutrition and alcohol neurotoxicity. *Neurotoxicology*, **15**, 555(1994)
- Roger, N., Catherine, R. and Helene, R. : Ethanol-induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. *Alcohol alcoholism*, **25**, 231(1990)
- Tabakoff, B. and Gelpke, C. C. : Alcohol and aldehyde metabolim in brain. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **56**, 141(1975)
- Shaw, S., Jayatilleke, R., Ross, W. A., Gordon, E. R. and Lieber, C. S. : Ethanol induced lipid peroxidation : potentiation by chronic alcohol feeding and attenuation by methionine. *J. Lab. Clin. Med.*, **98**, 417(1981)
- Thuluvath, P. J. and Triger, D. R. : Selenium in chronic liver disease. *J. Hepatology*, **14**, 176(1992)
- Halpin, K. M. and Baker, D. R. : Selenium deficiency and transsulfuration in the chick. *J. Nutr.*, **114**, 606(1984)
- Hafeman, D. G. and Hoekstra, W. G. : Protective against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E, selenium and methionine as measured by ethane evolution. *J. Nutr.*, **107**, 656(1977)
- Report of the American Institute of Nutrition : Ad Hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, **107**, 1340(1977)
- Liu, S. J., Ramsey, R. K. and Fallon, H. J. : Effects of ethanol on hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes in the rats. *Biochem. Pharmacol.*, **24**, 369(1975)
- 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, N. Y., p.28(1974)
- Koivula, T. and Koivusalo, M. : Different forms of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochem. Biophys. Acta*, **397**, 9(1975)
- Kalaria, R. N., Mitchell, M. J. and Harik, S. I. : Correlation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity with blood-brain barrier monoamine oxidase activity. *Proc. Natl. Aca. Sci.*, **84**, 3521(1987)
- 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)
- 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)
- Aebi, H. : Catalase. In "Methods of enzymetic analysis" Bergmeyer, H. U.(ed.), Academic Press, New York, Vol. 2, p.673(1974)
- Ellman, G. L. : Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70(1959)
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. : Assay for lipid

- peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**, 51(1979)
20. Senedecor, G. W. and Cochrane, W. G. : Statistical methods. 6th., Iowa State University Press, Iowa, p.1 (1967)
21. Rawat, A. K. : Effects of ethanol on brain metabolism. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **56**, 165(1975)
22. Majchrowicz, E. : Effect of aliphatic alcohols and aldehydes on the metabolism of potassium-stimulated rat brain cortex slices. *Canad. J. Biochem.*, **13**, 1041(1965)
23. Theorell, H. and Kulonen, E. : Effect of ethanol dehydrogenase II. *Acta Chem. Scand.*, **15**, 1811(1961)
24. Tabakoff, B. and Williamson, O. : The effect of ethanol and disulfiram on serotonin-C14 metabolism in rat liver homogenates. *Life, Sci.*, **7**, 777(1968)
25. Breese, G. R., Chase, T. N. and Kopin, I. J. : Metabolism of some phenylethylamines and their  $\beta$ -hydroxylated analogs in brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **165**, 9(1969)
26. Feldman, R. I. and Weiner, H. : Horse liver aldehyde dehydrogenase II. Kinetics and mechanistic implications of the dehydrogenase and esterase activity. *J. Biol. Chem.*, p.247(1972)
27. Strubelt, O., Younes, M. and Pentz, R. : Enhancement by glutathione depletion of ethanol-induced acute hepatotoxicity *in vitro*. *Toxicology*, **45**, 213(1987)
28. Reddy, K. and Tappel, A. L. : Effect of dietary selenium and autoxidized lipids on the glutathione peroxidase system of gastrointestinal tract and other tissues in the rat. *J. Nutr.*, **104**, 1069(1974)
29. Arthur, 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 deficiencies on glutathione S-transferase and glutathione peroxidase in the rat liver. *Biochem. J.*, **248**, 539(1987)
30. Anderson, R. A. and Schulman, M. P. : Monoamine-dependent ethanol oxidation in mouse brain. *Trans. Am. Soc. Neurochem. Abs.*, **5**, 9(1974)
31. Oshino, N., Chance, B., Sies, H. and Bucher, T. : Role of  $H_2O_2$  generation in perfused rat liver and the reaction of catalase-compound I and hydrogen donors. *Arch. Biochem. Biophys.*, **154**, 117(1973)
32. Cederbaum, A. I. : Introduction : Role of lipid peroxidation and oxidative stress in alcohol toxicity. *Free Radic. Biol. Med.*, **7**, 537(1989)

(1996년 12월 6일 접수)