

에탄올 전처치한 흰쥐에 Xylene 투여가 간조직 중 Xanthine Oxidase 활성 변동에 미치는 영향

이상희 · 전태원 · 윤종국[†]

계명대학교 공중보건학과

Effect of Ethanol-pretreatment on the Liver Xanthine Oxidase Activity in Xylene-treated Rats

Sang-Hee Lee, Tae-Won Jeon and Chong-Guk Yoon[†]

Dept. of Public Health, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

Abstract

To evaluate an effect of ethanol pretreatment on the liver xanthine oxidase(XO) activity, 0.25ml of xylene(50% in olive oil) per 100g body weight was daily given four days to the rats at 2hrs after administration of ethanol each day, while each control group(ethanol, xylene, olive oil) was treated at the same dose described as above. The animals were sacrificed at 24hrs after last injection. Xylene-treated rats showed the more decreased activity of liver XO compared to the control. But the pretreatment of ethanol to the xylene-treated rats enhanced the liver XO activity. Furthermore, the xylene-treated rats led to more increased V_{max} value in liver XO compared to the only xylene-treated rats. On the other hand, hepatic aldehyde dehydrogenase activity was more decreased in xylene-treated rats pretreated with ethanol than in xylene-treated rats. And the intermediated xylene metabolites, methyl benzylalcohol or aldehyde inhibited the XO activity "in vitro". In conclusion, the phenomenon that pretreatment of ethanol to the xylene-treated rats led to the enhancement of liver XO activity, may be due to an influence of acetaldehyde.

Key words: xylene, ethanol, liver xanthine oxidase

서 론

최근 산업의 급속한 발전에 따른 산업화학물질의 인체 폭로에 알콜(에탄올)섭취의 변수가 인간의 건강에 심각한 문제를 제기하고 있다. 이들 산업화학 물질 중 생체이물(xenobiotics)의 일종인 xylene은 하나의 고리를 가진 방향족 탄화수소로 산업장 및 실험실에서 유기 용제로 많이 사용되고 있다.

인체가 xylene에 폭로될 때 신경계(1,2), 조혈계(3,4) 그리고 간손상(5,6)이 초래된다고 보고되고 있어 이의 유해성의 재평가가 요구되고 있는 실정이다.

Xylene은 *o*, *m*, *p*-xylene의 3가지 이성체로 작용하며 공업용 xylene은 이들 3가지 이성체가 혼합되어 있고, 그 구성비를 증가할수록 많은 부분을 차지하는 *m*-xylene의 생체내 대사는 주로 간에서 혼합기능 산화효소

계(mixed function oxidation system)에 의하여 *m*-methyl benzylalcohol, *m*-methyl benzaldehyde, *m*-toluic acid로 산화된 다음 glycine과 포함되어 *m*-methyl hippuric acid로 전환되어 요중에 배설된다(7-9).

Xenobiotics 중 CCl_4 (10,11), ethanol(12) 및 toluene(13) 투여시 간 또는 혈액 중 xanthine oxidase(XO) 활성이 증가된다고 하였다. 일반적으로 xenobiotics성 간독성시에 간 XO가 증가된다고 하지만 xenobiotics의 종류에 따라서 간조직 중 본 효소활성이 억제되는 경우도 배제할 수 없다고 생각한다. 또한 동일한 화학구조에 있어서도 치환기에 따라서는 본 효소활성 변동의 차이가 나타날 수 있으리라고 생각한다. 따라서 toluene과 유사한 화학구조를 가진 xylene의 경우에도 XO 활성 유도작용이 toluene과 달리 나타날 수 있으리라 사료된다.

XO는 purine체와 여러 가지 heterocyclic compound

[†]To whom all correspondence should be addressed

및 aldehyde류의 대사에 관여하는 비특이적 효소(14)로서 포유동물의 간 및 소장조직에서 그 활성이 높게 나타난다고 한다. 또한 본 효소의 type O는 oxygen free radical 생성에 관여하기 때문에 생체 방어 기전에 관여할 것이라는 보고(15)도 있다.

한편 에탄올과 xenobiotics의 생체내 폭로가 병행될 때 간독성이 상승된다고 하며 이때 XO 활성은 높게 나타난다(12,16)고 한다. 최근 윤 등(17)은 에탄올과 toluene을 병행투여시 간독성이 심화됨을 관찰함과 동시에 간조직 중 XO 활성이 증가된다고 하였다. 그러나 toluene 계열의 xylene과 에탄올의 병행투여시 생체내 병태생화적 변화에 대한 논문은 접할 수 없었다.

이에 본 연구에서는 흰쥐에 에탄올을 전처치 후 xylene을 투여하고 간조직 중의 XO 활성을 측정하여 xylene만 투여한 군과 비교 관찰하였다. 그리고 또한 그 활성변동의 원인을 구명하는 일환으로 간조직 XO 효소의 기질 변동에 따른 반응속도를 관찰하는 한편 xylene 대사에 관여하는 효소활성을 측정하여 이들 성적을 비교 관찰하였다.

재료 및 방법

동물 및 처치

실험동물은 체중 200g 내외의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종의 수 흰쥐를 시중에서 구입한 동물사료(삼양사료 주식회사 제품)로 1주일간 적응시켜 실험에 사용하였다. 사육기간 동안 물과 사료의 양은 제한 없이 공급하였다.

각 실험군은 대조군, 에탄올 투여군, xylene 투여군 및 에탄올과 xylene 병행투여군으로 분리 수용하였다. 에탄올 투여는 에탄올과 생리식염수의 동량 혼합액을 만들어 Cohen 등(18)의 방법에 준해 체중 100g당 0.3ml 씩 1일 1회 4일간 복강내로 주사하였으며 xylene 투여는 olive oil로 희석한 50%(v/v) 용액을 체중 100g당 0.25 ml 씩 Pathiratne 등(19)의 방법에 준하여 1일 1회 4일간 복강내 주사하였다. 에탄올과 xylene의 병행 투여군은 에탄올을 에탄올 투여군과 동일한 방법으로 투여한 2시간 후에 xylene 투여군과 동량의 xylene을 주사하였다. 4군 모두 마지막 주사 후 24시간 동안 물만 주고 금식시킨 후 처치하였다.

동물의 처치는 효소활성의 일중 변동을 고려하여 일정 시간에 실시할 수 있도록 시간을 조절하였다. 동물은 ether 마취하에서 개복한 후 복부 대동맥으로부터 채혈하여 실험사 시키고, 4°C 생리식염수로 간을 관류하여 간조직내에 남아 있는 혈액을 제거한 다음 적출하였

다. 적출한 장기는 장기내에 남아있는 생리식염수를 가능한 모두 제거한 다음 무게를 칭량하였다.

효소 시료의 조제

적출한 간조직을 빙냉하에서 절편으로 만들고 그 중 일정량을 칭량하여 4배 양의 0.25M sucrose 용액을 가하고 glass teflon homogenizer로 마쇄하여 마쇄균질액(20% w/v)을 만들었다. 이 마쇄균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거하고 상층액을 10,000×g에서 20분간 원심분리한 후 다시 그 상층액을 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosolic 및 microsomal 분획을 얻었다. Cytosolic 분획은 XO, alcohol dehydrogenase(ADH) 및 aldehyde dehydrogenase(ALDH)의 활성도 측정에 사용하였고 microsomal 분획은 aniline hydroxylase(AH) 및 glucose-6-phosphatase(G-6-Pase)의 활성도 측정에 사용하였다.

효소활성도 측정

간조직 중 XO 활성도 측정은 Stirpe와 Della Corte(20) 및 Yoon(21)의 방법에 준하여 측정하였으며 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백 1mg이 1분 동안 반응하여 기질로부터 생성된 uric acid양을 nmole 농도로 표시하였다. 한편 에탄올 투여군, xylene 투여군, 에탄올과 xylene 병행투여군 및 대조군의 간조직 가용성 분획을 투석시킨 효소반응액에서 기질인 xanthine의 농도를 변화시켜 가면서 XO 활성도를 측정하였다. 이때 이들 성적으로부터 1/V치를 그리고 기질농도로부터 1/[S]치를 계산하여 이중역수도(double-reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터 K_m 과 V_{max} 치를 산출하였다(22). 간조직 중 AH 활성도 측정은 Kato 등(23)의 방법을 이용하였다. 활성도 단위는 간조직 효소액 중에 함유된 1mg protein이 1시간 동안 반응하여 기질로부터 생성된 p-aminophenol의 양을 nmole로 표시하였다. 간조직에서 ADH 및 ALDH 활성도 측정은 Bergmeyer(24) 및 Koivula와 Koivusolo(25)의 방법에 준하였으며 활성도 단위는 단백 1mg이 1분 동안 반응하여 생성된 NADH 양을 nmole로 표시하였다. 간조직 중 microsomal 분획의 G-6-Pase 활성도는 Hasushi 등(26)의 방법에 준하였으며 활성 반응에서 유리되는 inorganic phosphorous는 Fiske와 Subbarow(27)의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 1mg protein이 20분간 반응하여 생성되는 phosphorous의 양을 μ mole 농도로 표시하였다. 한편 간조직의 postmitochondrial 분획 상층액 1ml(protein 20mg)에 xylene, methyl benzylalcohol

및 aldehyde를 0.75, 1.5 및 3μl 함유시키고 37°C에서 60분간 preincubation한 후 이를 시료로 하여 xylene, methyl benzylalcohol 및 aldehyde가 *in vitro*에서 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향을 측정하였다.

간조직 과산화지질(LPO) 함량 측정

간조직 중 과산화지질 함량은 Ohkawa 등(28)의 방법에 준하였다. LPO 함량은 조직 1g당 nmole로 표시하였다.

간조직 reduced glutathione(GSH) 함량 측정

GSH의 함량은 Ellman(29)의 방법에 준하여 측정하였다. GSH 함량은 간조직 g당 μmole로 표시하였다.

단백질 정량

단백질 정량은 Lowry 등(30)의 방법에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

이상 실험결과의 통계처리는 student's t-test(31)을 이용하여 상호 비교하였다.

결과 및 고찰

간조직 중 XO 활성 변동

에탄올, xylene, 에탄올과 xylene 병행투여군 및 olive oil만 투여한 대조군에 있어서 간조직 XO 활성을 나타낸 것이 Table 1과 같다. Xylene 투여군의 간조직 XO 활성은 대조군에 비하여 약 30%의 유의한(p<0.001) 감소를 보였으나, 에탄올과 xylene 병행투여군은 xylene 투여군에 비하여 약 32% 유의하게(p<0.05) 증가하였다. 또한 투석한 효소액으로 측정할 경우에도 조효소와 유사한 변동양상을 나타내었다.

본 실험에서는 xylene과 같은 xenobiotics 투여시에

는 간조직 XO 활성이 현저히 감소되었으나 CCl₄(10,11), toluene(13) 및 bromobenzene(12,16)과 같은 xenobiotics를 실험동물에 투여시 간조직 XO 활성이 오히려 증가된다는 보고를 고려해 볼 때, xenobiotics의 종류에 따라서 XO의 활성 유도가 달리 나타남을 알 수 있다.

간조직 XO의 기질변동에 따른 반응속도

실험동물에 xylene 및 xylene과 에탄올 병행 투여시 간조직 XO 활성변동의 원인을 검토하기 위한 일환으로 각 실험군의 동일한 간조직의 혼액(pooled enzyme source)을 효소원으로 사용하여 xanthine 기질농도변동에 따른 본 효소의 반응속도를 관찰한 결과가 Fig. 1과 같다.

대조군, xylene 투여군, 에탄올 투여군 및 에탄올 전처치 후 xylene 투여군 간에 K_m치는 별다른 차이를 볼 수 없었다. Xylene 투여군에 있어서 V_{max}치는 대조군에 비하여 약 34% 감소되었으며, 에탄올과 xylene의 병행투여군은 xylene만 투여한 군에 비하여 V_{max}치가 오히려 증가되는 경향을 보였다. 따라서 xylene 투여시 XO 활성 감소현상은 본 효소 단백질합성 억제에 기인된 결과로 생각되며, 에탄올을 전처치하므로써 얻어진 XO 활성 증가는 에탄올이 본 효소의 합성유도에 영향을 미쳐 나타난 현상으로 사료된다. 더우기 에탄올 단독투여군에서 V_{max}치가 대조군보다 높게 나타남은 에탄올의 본 효소활성 합성 유도에 의한 것으로 생각되며 이는 xylene 투여시 에탄올을 전처리 하므로써 xylene 투여로 감소된 XO 활성이 회복된 것은 에탄올의 영향에 기인된 것으로 생각된다. 그리고 Kato 등(32)이 에탄올 투여시 XO 활성이 증가되어 이때 에탄올의 대사산물인

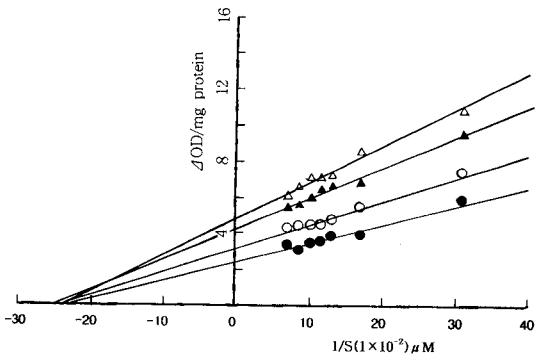


Fig. 1. Double reciprocal lineweaver-burk plot for liver xanthine oxidase with xanthine as substrate(pH=8.0).
 ○—○: Control, ●—●: EtOH
 △—△: Xylene, ▲—▲: EtOH+Xylene
 Each value represents the mean of 5 experiments.

Table 1. Effect of xylene treatment on the liver xanthine oxidase activity in ethanol-pretreated rats

Groups	Crude sup.	Dialized
Control	2.76±0.10	3.10±0.28
EtOH	3.27±0.52	3.82±0.80
Xylene	1.92±0.12 ^{***a)}	2.36±0.15 ^{*a)}
EtOH+Xylene	2.54±0.18 ^{*)}	3.04±0.18 ^{*)}

Each value represents the mean±S.E. of 5 rats.
^{a)}Significantly different from the control.
^{b)}Significantly different from the xylene-treated group (*p<0.05, ***p<0.001).

acetaldehyde가 기질성 물질로 작용한다는 보고가 이를 뒷받침해주고 있다.

Xylene 대사 효소 활성 변동과 xylene 대사 중간 생성물질이 XO 활성 변동에 미치는 영향

Xylene 투여시 간조직 XO 효소 단백질합성 억제에 관여하는 기전을 검토하는 일환으로 xylene 대사에 관여하는 효소활성을 측정된 것이 Table 2와 같다.

에탄올 투여군 및 xylene 투여군 모두에서 ALDH 활성이 대조군에 비하여 각각 32% 및 17% 억제되었으며 그 억제도는 에탄올 투여군에서 높게 나타났다. 또한 에탄올을 전처리한 후 xylene을 투여하였을 때는 xylene 단독투여군보다 ADH 및 ALDH 활성이 각각 25% 및 31% 억제되었다. 이러한 결과는 에탄올의 중간대사산물인 acetaldehyde가 ALDH의 활성을 억제시킨다는 보고(33)를 고려해 볼 때 에탄올 전처리로 억제된 ALDH의 활성이 xylene을 투여하므로써 생성된 methylbenzaldehyde가 가세하므로써 더욱 ALDH 활성이 억제될 것으로 생각된다. 에탄올과 xylene의 병행투여군에 있어서 xylene 및 xylene 중간대사산물의 체내 유지율이 증가될 것으로 생각되며, 이때 이들 xylene 중간대사산물이 XO 활성을 억제시킬 것으로 사료된다.

In vitro 실험에서도 간조직 효소액에 xylene, methylbenzylalcohol 및 methylbenzaldehyde를 농도별로 첨가시켜 37°C에서 60분간 preincubation시킨 후 이

를 효소 시료로 하여 XO 활성을 측정해 본 결과 이들 물질 농도에 비례하여 본 효소활성이 억제된 현상이 이를 뒷받침하고 있다(Fig. 2). 그리고 에탄올 전처리한 후 xylene 투여군이 xylene 단독투여군보다 특히 간조직 ALDH 활성이 현저히 감소된 것은 xylene 투여시 에탄올 전처리가 체내 acetaldehyde 및 methylbenzaldehyde 축적율이 증가됨으로써 XO 활성이 억제되는 반면 본 효소 단백질합성이 유도되는 양면성을 가질 것으로 사료되며 이점에 대해서는 추후 계속 연구 검토될 과제로 남아 있다.

Xylene 투여시 에탄올 전처리가 간손상에 미치는 영향

Xylene 투여시 에탄올 전처리로 체내 조직손상을 초래한다는 acetaldehyde와 더불어 methylbenzaldehyde 축적이 증가됨으로써 이들 물질에 의한 간손상 정도를 검토한 것이 Table 3과 같다.

급성 간손상시 증가된다는 간무게, 과산화지질 및 간조직 GSH 함량의 대조군에 대한 증가율과 간손상시 감소된다는 microsomal G-6-Pase 활성의 대조군에 대한 감소율은 에탄올과 xylene 병행투여군이 에탄올 투여군과 xylene 투여군보다 높게 나타났다. 이러한 실험결과는 바로 xylene 투여시 에탄올 전처리하므로써 체내 xylene 대사 중간생성물질 및 acetaldehyde 유지율이 증가됨을 암시해 주고 있다.

Table 2. Effect of xylene treatment on the hepatic aniline hydroxylase, alcohol and aldehyde dehydrogenase activities in ethanol-pretreated rats

Groups	Enzymes	AH ¹⁾	ADH ²⁾	ALDH ³⁾
Control		3.91 ± 0.50	2.47 ± 0.16	3.33 ± 0.09
EtOH		4.52 ± 0.31	2.59 ± 0.10	2.25 ± 0.06
Xylene		6.01 ± 1.10	2.34 ± 0.05	2.76 ± 0.15 ^{a)}
EtOH + Xylene		3.40 ± 0.60	1.74 ± 0.10 ^{***b)}	1.90 ± 0.08 ^{***b)}

Each value represents the mean ± S.E. of 5 rats.

Unit: ¹⁾nmoles p-aminophenol/mg protein/min, ^{2,3)}nmoles NADH/mg protein/min

^{a)}Significantly different from the control(*p<0.05), ^{b)}Significantly different from the xylene-treated group(***p<0.001).

Table 3. Effect of xylene treatment on the liver wt./body wt.(%), hepatic contents of lipid peroxide, reduced glutathione and hepatic microsomal glucose-6-phosphatase activity in ethanol-pretreated rats

Groups	Parameters	Liver wt.(%)	LPO ¹⁾	G-6-Pase ²⁾	GSH ³⁾
Control		3.17 ± 0.09	8.02 ± 1.21	36.22 ± 1.90	4.27 ± 0.34
EtOH		3.08 ± 0.10	8.32 ± 0.09	31.20 ± 4.56	4.67 ± 1.52
Xylene		3.66 ± 0.04	9.22 ± 0.29	31.66 ± 1.84	5.28 ± 0.24
EtOH + Xylene		4.23 ± 0.16 ^{**}	11.66 ± 0.87	26.34 ± 2.31	6.70 ± 1.12

Each value represents the mean ± S.E. of 5 rats.

Unit: ¹⁾nmoles/g of tissue, ²⁾nmoles pi mg/mg protein/min, ³⁾μmoles/g of tissue.

Significantly different from the control(**p<0.01).

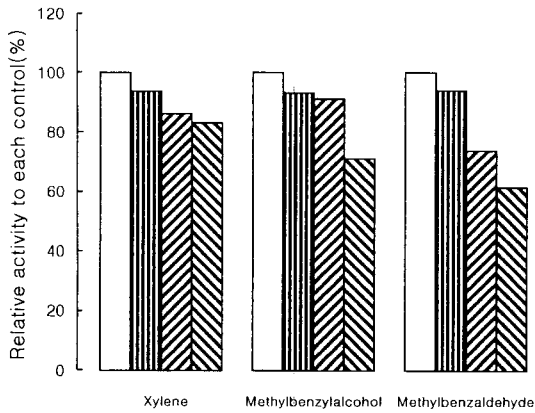


Fig. 2. Effect of xylene or its metabolite on the liver xanthine oxidase activity *in vitro*. Each liver supernatant containing, xylene, aldehyde and alcohol was preincubated at 37°C for 1hr. Each value represents the mean of 5 experiments. □: Control, ▨: 0.75μl/ml, ▩: 1.5μl/ml, ▪: 3.0μl/ml

요약

실험동물에 xylene 또는 에탄올과 xylene을 1일 1회 4일간 복강으로 병행투여한 다음 24시간 후 처치하여 다음과 같은 결과를 얻었다. Xylene 투여시 간조직 xanthine oxidase(XO)의 활성은 감소하였으나 에탄올을 전처치하므로써 xylene에 의한 간조직 XO 활성억제가 회복되는 현상이 관찰되었다. 그리고 반응속도론적인 측면에서 간조직 XO의 활성을 측정하였을때 xylene에 의해 간조직 XO의 합성유도가 억제되었으며 에탄올 전처치로 이러한 현상이 감소되었다. 또한 *in vitro*에서 xylene 및 그 대사산물은 간조직 XO의 활성을 억제시켰다. Xylene 또는 에탄올 투여에 의해 xylene 대사에 관여하는 효소 중 aldehyde dehydrogenase의 활성이 억제되었으며, 에탄올 전처치 후 xylene을 투여한 군에서 본 효소의 억제율이 높게 나타났다. Xylene을 투여한 실험군에서 간손상이 다소 초래되었으며 에탄올 전처치로 간손상이 보다 더 심화되었다. 이상의 실험성적 등을 종합해 볼 때 xylene 투여로 이의 대사산물에 의해 간조직 XO의 활성이 저해될 것으로 사료되어지며, 에탄올의 전처치로 생성된 acetaldehyde에 의해 간조직 XO의 합성이 증가되므로써, 이러한 작용이 상쇄된 것으로 사료되어진다

문헌

1. Gamberale, F., Annwall, G. and Hultengren, M. : Exposure to xylene and ethylbenzene. III. Effects on cen-

tral nervous function. *Scan. J. Work Environ. Health*, **4**, 204(1978)

2. Andersson, K., Fuxe, K., Nilsen, O. G., Toftgard, R., Eneroth, P. and Gustafsson, J. K. : Production of discrete changes in dopamine and noradrenalin levels and turnover in various parts of the rat brain following exposure to xylene, ortho-, meta-, and para-xylene, and ethylbenzene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **60**, 535 (1981)

3. Korsak, Z., Sokal, J. A. and Swiercz, R. : The toxic effects of combined exposure to toluene and m-xylene in animals. II. Blood toluene and m-xylene during single and combined exposure in rats. *Pol. J. Occup. Med.*, **4**, 377(1979)

4. Wronska-Nofer, T., Rosin, J. and Bartosz, G. : Interaction of ethanol and xylene in their effects on erythrocytes and other hematological parameters in the rat. *J. Appl. Toxicol.*, **11**, 289(1991)

5. Rydzynski, K., Korsak, Z., Jedlinska, U. and Sokal, J. A. : The toxic effects of combined exposure to toluene and m-xylene in animals. IV. Liver ultrastructure after subchronic inhalatory exposure. *Pol. J. Occup. Med. Environ. Health*, **5**, 35(1992)

6. Rana, S. V. and Kumar, S. : Effect of xylene, toluene and methyl alcohol on liver collagenesis in rats. *Indian J. Exp. Biol.*, **31**, 782(1993)

7. Ogata, M., Tomokuni, K. and Takatsuka, Y. : Urinary excretion of hippuric acid and m- or p-methylhippuric acid in the urine of persons exposed to vapors of toluene and m- or p-xylene as a test of exposure. *Br. J. Ind. med.*, **27**, 43(1970)

8. Sedivec, V. and Flek, J. : The absorption, metabolism, excretion of xylenes in man. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **37**, 205(1976)

9. Van Doorn, R. : Effect of toluene and xylene on liver glutathione and their urinary excretion as mercapturic acids in the rat. *Arch. Toxicol.*, **43**, 293(1980)

10. Yoon, C. G., Park, H. S. and Lee, S. I. : Effect of dietary tungstate on the liver damage in CCl₄-treated rats. *J. Korean. Soc. Food Nutri.*, **22**, 678(1993)

11. 배지혜, 윤종국, 이상일: 흰쥐에 있어서 사염화탄소에 의한 간손상에 allopurinol의 영향. *한국독성학회지*, **11**, 247(1995)

12. 윤종국, 김병렬, 이상일: Ethanol 전처리한 흰쥐의 간 및 혈청 xanthine oxidase 활성에 미치는 사염화탄소의 영향. *한국환경위생학회지*, **19**, 69(1993)

13. 전태원, 강희양, 윤종국: 흰쥐에게 toluene 투여가 혈청 xanthine oxidase 활성변동에 미치는 영향. *한국독성학회지*, **11**, 279(1995)

14. Dixon, M. : Studies on xanthine oxidase VII. the specificity of the system. *J. Biochem.*, **20**, 703(1926)

15. Tubaro, E., Banci, F. and Lotti, B. : Xanthine oxidase activation in animal liver during infectious processes. *Arzneim-Forsch(Drug Res)*, **26**, 2185(1976)

16. 윤종국, 임영숙: Ethanol을 전처리한 흰쥐의 간 및 혈청 xanthine oxidase 활성에 미치는 bromobenzene의 영향. *동아시아식생활학회지*, **7**, 21(1997)

17. 윤종국, 전재현, 신중규: 흰쥐에 toluene과 alcohol의 병행투여가 toluene 대사효소활성에 미치는 영향. *한국식*

- 품영양과학회지, **25**, 976(1996)
18. Cohen, G., MacNamee, D. and Debiec, D. : Elevation in blood acetaldehyde by pargyline during ethanol administration. *Biochem. Pharmacol.*, **24**, 313(1974)
 19. Pathiratne, A., Puyear, R. L. and Brammer, U. D. : A comparative study of the effects of benzene, toluene and xylene on their *in vitro* metabolism and drug-metabolizing enzymes in rat liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **82**, 272(1986)
 20. Stirpe, F. and Della Corte, E. : The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, **244**, 3855(1969)
 21. Yoon, C. G. : A modified colorimetric assay for xanthine oxidase in rat liver extracts. *Keimyung Research Journal(Keimyung Junior College)*, **2**, 295(1984)
 22. Segel, I. H. : *Biochemical calculations*. 2nd ed., John Wiley and Sons, Inc, New York, p.214(1976)
 23. Kato, R., Oshima, T. and Tomizawa, S. : Toxicity and metabolism of drug in relation to dietary protein. *Jap. J. Pharmacol.*, **18**, 356(1968)
 24. Bergmeyer, H. U. : *Methods of enzymatic analysis*. 2nd ed., Academic Press, New York, p.428(1974)
 25. Koivula, T. and Koivusolo, M. : Different forms of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochem. Biophys. Acta.*, **397**, 9(1975)
 26. Hasushi, Y., Tescke, R. and Lieber, C. S. : Increased CCl_4 hepatotoxicity and its metabolism after chronic ethanol consumption. *Gastroenterology*, **66**, 415(1974)
 27. Fiske, C. H. and Subbarow, Y. : The colorimetric determination of phosphorous. *J. Biol. Chem.*, **66**, 375(1925)
 28. Ohkawa, H., Ohish, N. and Yaki, K. : Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**, 351(1979)
 29. Ellman, G. L. : Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70(1959)
 30. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J. and Farr, A. L. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
 31. Scheffler, W. C. : *Statistics for the biological sciences*. 2nd ed., Menlo Park, Addison-Wesley Publishing Company, USA, p.84(1990)
 32. Kato, S., Kawase, T., Alderman, J., Inatomi, N. and Lieber, C. S. : Role of xanthine oxidase in ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Gastroenterol.*, **98**, 203(1990)
 33. Tank, A. W., Weiner, H. and Thurman, J. A. : Ethanol-induced alterations of dopamine metabolism in rat liver. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **273**, 219(1976)

(1998년 3월 12일 접수)