

에탄올 중독된 흰쥐의 간조직 중 지질대사에 미치는 셀렌과 메티오닌의 영향

김명주 · 이미경* · 장주연* · 박은미

대구산업정보대학 식품영양과, *영남대학교 식품영양학과

Effect of Selenium and Methionine on Hepatic Lipid Metabolism in Ethanol Treated Rats

Myung-Joo Kim, Mi-Kyung Lee*, Joo-Yeun Jang* and Eun-Mi Park

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 synergic effect of dietary selenium and methionine levels on hepatic lipid metabolism in ethanol treated rats. Sprague-Dawley male rats were fed diets containing three levels of methionine(0, 3 and 9g /kg diet) with or without selenium(0.45mg /kg diet). Ethanol was administered with 25%(v/v) ethanol orally at the same time once a day in ethanol group and isocaloric sucrose was administered to the control group. The rats were sacrificed after 5 and 10 weeks of feeding period. Glutathione content was decreased by ethanol treatment and significantly increased in proportion to level of dietary methionine and was higher in selenium deficiency group than that of selenium administration group. Lipid peroxide content was significantly increased in deficiency of both methionine and selenium(LMet-Se+EtOH) group. Total lipid, triglyceride and cholesterol contents in liver were increased and phospholipid content was decreased in ethanol treated group, and ethanol treatment accelerated those increment and decrement in methionine deficiency(LMet) group and excessive methionine administration(HMet) group.

Key words : selenium, methionine, ethanol, hepatic lipid metabolism.

서 론

에탄올에 의한 지질 과산화 반응은 주로 생체내에서 반응성이 강한 유리기에 의한 연쇄반응으로 일어난다¹⁾. 생체내에 지질 과산화를 억제하는 비효소적 방어체계에는 메티오닌, 글루타티온, 아스코르브산, 토코페롤, 아연 및 셀렌 등의 항산화물질이 있다²⁾. 이 방어기능이 외부요인 즉 스트레스, 에탄올 및 대사산물 또는 특정 영양소의 흡수장애 등에 의해 감소되면 세포의 산화적 손상이 가중된다. 천연 항산화제인 메티오닌은 그 대사물질 중 술프히드릴기가 유리기 제거 및 지질 과산화물을 분해함으로써 지질 과산화 반응으로부터 생체를 보호한다³⁾. 또한 항산화작용과 중금속에 대한 해독작용을 가진 셀렌의⁴⁾ 생체내 결핍시

식이로 메티오닌을 공급하여도 황진달 효율이 저하되어 시스테인 형성이 감소된다. 나아가 글루타티온 합성이 억제되므로 메티오닌의 항산화 효과가 감소되며⁵⁾, 셀렌을 충분히 섭취하여 메티오닌 함량이 낮은 식이를 계속 섭취하면 셀렌 의존효소인 glutathione peroxidase(EC 1.11.1.9)의 활성 감소가 초래된다⁶⁾.

따라서 본 연구는 셀렌의 공급 식이와 제한 식이에 메티오닌의 수준을 달리하여 공급했을 때 에탄올 투여 흰쥐의 간조직 중 지질대사에 미치는 셀렌과 메티오닌의 영향을 관찰한 결과이다.

재료 및 방법

1. 실험동물 사육 및 식이

실험동물은 Sprague-Dawley종의 웅성 흰쥐 96마

Corresponding author : Myung-Joo Kim

리를 10일간 기본식으로 적응시킨 후 평균 체중이 $110 \pm 10\text{g}$ 인 것을 난괴법으로 8군(Table 1)으로 나누어 한 마리씩 분리하여 5주와 10주간 사육하였다. 무기질 오염을 방지하기 위하여 모든 기구는 0.4% EDTA용액으로 세척하였다. 기본식은 AIN-76⁷⁾에 따랐으며, 단백질 급원은 메티오닌이 제한되고 셀렌이 적게 함유된 대두단백(Tekled Co.)을 사용하였고, 알코올은 25%의 에탄올을 체중 1kg당 2.5g씩 1일 1회 구강 투여하였다. 대조군은 에탄올과 동일 열량의 수크로오스 용액을 투여하였다.

2. 시료의 채취 및 분석

각각 5주와 10주간 사육한 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 에테르로 마취시켜 개복하고 적출한 간조직 1.0g당 4배량의 0.25M 수크로오스 완충액을 가해 마쇄하여 균질액을 얻은 다음 간조직 중의 글루타티온 함량은 Ellman⁸⁾의 방법으로, 간조직 중의 과산화지질 함량은 Ohkawa⁹⁾의 방법으로 측정하였다.

간조직 중의 지질함량은 간조직 1.0g을 균질기를 사용하여 0.15M NaCl용액으로 10%조직 마쇄액을 만든 후 Folch 등¹⁰⁾의 방법에 따라 클로로포름:메탄올(C:M=2:1 V/V) 혼합액으로 지질을 추출하

여 각 성분을 정량하였다. 즉, 총지질 함량은 Frings와 Dunn¹¹⁾의 방법으로, 중성지질 함량은 kit(Eiken Co.)를 사용하여 측정하였다. 콜레스테롤 함량은 Zak-Dickman¹²⁾의 방법으로, 인지질 함량은 Eng과 Noble¹³⁾의 방법으로 측정하였다.

3. 통계처리

실험결과는 SAS package를 이용하여 실험군당 평균 \pm 표준편차로 표시하였고 각군간 평균치의 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test¹⁴⁾로 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 간조직 중의 글루타티온 함량

간조직 중의 글루타티온 함량은 Table 2와 같다.

간조직 중의 글루타티온 함량은 5주 사육시 HMet 군을 제외한 에탄올 투여군이 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다. 또한 메티오닌 공급수준이 높아질수록 글루타티온 함량은 유의하게 증가하였고, 셀렌 공급 유무에 따른 차이는 셀렌 결핍시 셀렌 공급군에 비해 유의한 증가를 나타내었다.

글루타티온은 주로 생체내에서 환원상태로 존재하며 산화적 손상에 대한 방어작용으로써 활성 산소의 무독화, glutathione peroxidase(GSH-Px)에 의한 과산화지질의 환원반응 및 glutathione S-transferase(GST)를 통한 약물의 해독 반응으로 세포막을 산화적 손상으로부터 보호하는 인자로 보고되어

Table 2. Effect of dietary selenium and methionine levels on GSH content in ethanol-treated rats
($\mu\text{moles/g}$ of tissue)

Group	GSH ¹⁾	
	5 weeks	10 weeks
NMet-Se	$3.77 \pm 0.20^a)$	$3.44 \pm 0.17^a)$ *
LMet-Se+EtOH	$2.73 \pm 0.23^c)$	$2.64 \pm 0.19^e)$
NMet-Se+EtOH	$3.17 \pm 0.14^b)$	$2.91 \pm 0.15^{cd})$ *
HMet-Se+EtOH	$3.80 \pm 0.20^a)$	$3.19 \pm 0.21^b)$ *
NMet+Se	$3.35 \pm 0.21^b)$	$3.13 \pm 0.19^{bc})$
LMet+Se+EtOH	$2.03 \pm 0.12^d)$	$1.96 \pm 0.21^f)$
NMet+Se+EtOH	$2.60 \pm 0.20^c)$	$2.85 \pm 0.25^{de})$ *
HMet+Se+EtOH	$3.22 \pm 0.19^b)$	$3.03 \pm 0.20^{bcd})$

Values are mean \pm 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 weeks in same experimental group. 1) GSH: glutathione

Table 1. Grouping of experimental animals

Experimental Groups ¹⁾	Methionine level (g/kg diet)	Selenium level (mg/kg diet)	Ethanol administration ²⁾
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	+

1) 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.
2) EtOH : Rats were treated with 25%(v/v) ethanol orally at the same time once a day.

있다¹⁵⁾.

글루타티온이 에탄올 대사에 미치는 영향은 섭취한 에탄올의 양, 급·만성급여, 동물의 종류 및 식이의 항산화제 수준 등에 의하여 좌우된다. 즉 에탄올 투여 시 글루타티온의 함량 감소는 단기간 많은 양의 에탄올(6gm/kg)을 투여할 경우 현저하게 나타난다. 이는 에탄올 대사에 필요한 항산화적 작용에 글루타티온의 소모와 아세트알데히드가 티오졸리딘 복합체를 형성하기 위해 술프히드릴기와 결합하여 글루타티온이 감소되기 때문이다¹⁶⁾.

에탄올 투여에 따른 글루타티온 감소 결과는 흰쥐를 대상으로 에탄올 투여시 글루타티온 함량 감소와 더불어 지질과산화 수준이 증가되었다는 Speisky 등¹⁷⁾의 보고 및 에탄올 투여는 글루타티온 소모를 증가시킨다는 Shaw 등¹⁸⁾의 보고와 유사하다.

메티오닌 공급수준에 따른 글루타티온 함량 변동은 메티오닌 수준이 높을수록 에탄올 투여에 의한 글루타티온 감소가 억제되었다. 이는 메티오닌이 글루타티온내에 유리 술프히드릴기를 공급함으로써 체내에서의 글루타티온 수준을 유지시키기 때문이며, 메티오닌 공급시 에탄올로 인한 글루타티온 감소가 억제되었다는 Shaw 등¹⁸⁾의 보고와 유사한 결과이다.

셀렌 결핍시 글루타티온이 증가된 것은 Tammy와 William¹⁹⁾의 보고와는 상이한 결과이다. 반면 셀렌 결핍시 글루타티온 증가하였으며 이는 세포 보호에 글루타티온이 사용되기 때문일 것이라는 Rotruck²⁰⁾ 등의 보고와 유사하다.

그러므로 본 실험의 결과에서 에탄올 섭취시 대사에 간 조직 중의 글루타티온이 직접 사용되어 함량 감소가 유도되지만, 셀렌 결핍시는 글루타티온을 요구하는 효소의 활성 변화로 독성물질 생성 증가와 에탄올 섭취로 인한 지방질 자동산화 촉진으로 인해 과산화물질이 증가되었기 때문에 체내 해독작용 및 보상 기구에 의해 글루타티온이 증가된 것으로 보인다.

2. 간조직 중의 과산화지질 함량

Table 3은 간조직 중의 과산화지질 함량이다.

간의 과산화지질 함량은 5주 및 10주시 에탄올 투여군이 유의적으로 증가하였으며, 5주군에서 NMet군이 LMet군보다 유의적으로 감소하였고, 10주시는 메티오닌 수준이 높아질수록 감소하였다. 또한 셀렌 공급군은 셀렌 결핍군에 비하여 과산화지질 함량이 감소되었으나 유의적이지는 않았으며, 10주 사육시 5주 사육군에 비하여 유의적으로 증가하였다.

지질 과산화 반응은 급·만성 에탄올 섭취시 간의

말론디알데히드 생성 촉진으로 이중결합이 증가되어 일어나며²¹⁾, 공복상태의 흰쥐에게 알릴알코올을 투여할 경우 적혈구막을 구성하는 arachidonic acid와 docosahexaenoic acid의 유의적인 감소로 말론디알데히드 생성이 증가된다는 Ferrali 등²²⁾의 보고가 있다.

메티오닌 수준에 따른 과산화지질 함량 변화는 술프히드릴기를 함유한 메티오닌이 세포내 시스템과 글루타티온의 구성성분으로 작용하여 과산화물을 감소시키며 독성물질에 대해서 보호작용을 한다는 Whanger 등²³⁾의 보고와 유사하며, 흰쥐에게 글루타티온의 전구체인 메티오닌을 강화한 식이 공급시 지질 과산화가 감소되었으며, 메티오닌과 셀렌의 동시 공급은 사염화탄소 독성과 에탄올 방출에 의해 측정된 지질 과산화물을 감소시킨다는 보고²⁴⁾와도 유사한 결과이다.

셀렌이 결핍된 흰쥐에게 생리적으로 O₂-형성을 촉진하며 지질 과산화를 급속히 진행시키는 Paragut과 Diquate 투여시 대조군에 비하여 과산화지질 함량이 유의적으로 증가되었다는 보고²⁵⁾와도 유사하다.

셀렌과 메티오닌의 결핍시 GSH-Px 활성의 감소로 과산화수소 분해가 억제되어 지질과산화가 촉진되고 유리기나 지질과산화적 손상에 대한 민감도가 증가된다. 그러므로 본 실험에서 증가된 지질과산화는 에탄올 그 자체의 영향뿐만 아니라 유리기 제거효소의 활성변화에 관여하는 메티오닌과 셀렌의 영향때문으로 메티오닌과 셀렌의 적정량 공급은 에탄올 투여에 의한 과산화적 손상을 억제할 수 있을 것으로 보인다.

Table 3. Effect of dietary selenium and methionine levels on LPO content in ethanol-treated rats
(MDA nmoles /g of tissue)

Group	LPO ¹⁾	
	5 weeks	10 weeks
NMet - Se	20.76 ± 3.25 ^{d)}	19.45 ± 2.53 ^{d)}
LMet - Se + EtOH	31.05 ± 2.89 ^{a)}	32.38 ± 3.70 ^{a)}
NMet - Se + EtOH	26.20 ± 3.27 ^{bc)}	28.19 ± 3.50 ^{bc)}
HMet - Se + EtOH	27.78 ± 3.38 ^{ab)}	29.32 ± 3.68 ^{abc)}
NMet + Se	15.05 ± 3.04 ^{e)}	16.96 ± 3.07 ^{d)}
LMet + Se + EtOH	27.93 ± 2.73 ^{ab)}	30.82 ± 3.05 ^{ab)}
NMet + Se + EtOH	23.72 ± 2.85 ^{cd)}	27.20 ± 2.85 ^{bc)}
HMet + Se + EtOH	25.69 ± 3.41 ^{bc)}	25.51 ± 2.60 ^{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 weeks in same experimental group. 1) LPO: lipid peroxide

3. 간조직 중의 지질 함량

Table 4와 5는 간조직 중 지질 함량이다.

간조직 중의 총 지질 함량(Table 4)은 에탄올 투여군이 유의적인 증가를 나타내었으며, 메티오닌 수준에 따른 차이는 5주시 NMet군이 LMet군 및 HMet군보다 감소하였고, 10주시는 메티오닌 공급수준이 높을수록 감소하는 경향을 나타내었다. 셀렌 공급 유무에 의한 총 지질 함량 차이는 셀렌 공급으로 감소하였다.

간의 중성지방 함량(Table 4)은 5주와 10주 모두 에탄올 투여군이 유의적으로 증가하였으며 5주군의 경우 NMet군이 HMet군에 비하여 유의적인 감소를 보였으며, 10주의 경우 LMet군이 NMet군과 HMet군에 비하여 증가하였다. 또한 셀렌 공급시 중성지방 함량은 감소하였고 사육기간이 길수록 유의하게 증가하였다.

간조직의 콜레스테롤 함량(Table 5)은 에탄올 투여시 5주와 10주 모두 유의한 증가를 나타내었으며, 메티오닌 공급수준에 따른 차이는 메티오닌 수준이 높을수록 감소하는 경향이였다. 셀렌 공급 유무에 따른 콜레스테롤 함량 변화는 셀렌 공급으로 LMet군과 NMet군에서 감소되었으나, HMet군에서는 셀렌 공급으로 유의하게 증가하였다.

인지질 함량(Table 6)은 에탄올 투여군이 유의적으로 감소하였고, 5주시는 메티오닌의 공급수준이 높을수록 증가하였다. 에탄올 투여군 중 셀렌 공급에 의한 인지질 함량의 유의한 증가는 5주의 HMet군에서만 나타났으며 5주군에 비해 10주군은 유의한 감소를 보였다.

이상의 결과에서 에탄올 투여는 간의 총 지질, 중성지방 및 콜레스테롤 함량을 증가시켰으나 인지질 함량은 감소시켰으며, 메티오닌 수준 및 셀렌 공급 유무는 에탄올로 인한 간조직 중의 지질 함량 변동에 영

Table 4. Effect of dietary selenium and methionine levels on liver total lipid and triglyceride contents in ethanol-treated rats (mg /g of tissue)

Group	Total lipid		Triglyceride	
	5 weeks	10 weeks	5 weeks	10 weeks
NMet-Se	62.90±4.80 ^{cd}	60.27±5.31 ^d	16.61±1.87 ^{de}	19.41±2.76 ^d
LMet-Se+EtOH	73.21±4.95 ^a	82.61±4.36 ^{a*}	22.63±3.40 ^{ab}	30.49±3.30 ^{a*}
NMet-Se+EtOH	68.55±4.96 ^{abc}	69.64±5.26 ^c	19.75±2.66 ^{bcd}	26.29±2.88 ^{bc*}
HMet-Se+EtOH	63.57±6.21 ^{cd}	63.73±5.71 ^{cd}	23.22±2.13 ^a	28.04±3.94 ^{abc*}
NMet+Se	60.61±5.04 ^d	58.22±4.25 ^d	14.70±3.17 ^e	18.59±2.65 ^{d*}
LMet+Se+EtOH	70.25±4.70 ^{ab}	76.17±5.84 ^b	19.24±3.04 ^{cd}	28.77±2.04 ^{ab*}
NMet+Se+EtOH	64.04±4.63 ^{bcd}	63.89±5.11 ^{cd}	16.84±2.20 ^{de}	25.21±3.13 ^{bc*}
HMet+Se+EtOH	71.77±5.35 ^a	61.73±5.88 ^{d*}	21.73±2.37 ^{abc}	24.85±2.93 ^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 weeks in same experimental group.

Table 5. Effect of dietary selenium and methionine levels on liver cholesterol and phospholipid contents in ethanol-treated rats (mg /g of tissue)

Group	Cholesterol		Phospholipid	
	5 weeks	10 weeks	5 weeks	10 weeks
NMet-Se	3.64±0.21 ^e	3.86±0.21 ^d	19.64±0.84 ^b	16.42±1.25 ^{ad*}
LMet-Se+EtOH	5.50±0.19 ^a	5.26±0.13 ^a	15.75±1.35 ^d	13.78±0.82 ^{de*}
NMet-Se+EtOH	4.63±0.30 ^c	4.54±0.26 ^{bc}	16.04±0.98 ^{cd}	14.29±0.51 ^{cde*}
HMet+Se+EtOH	3.89±0.25 ^d	3.94±0.13 ^d	16.96±1.44 ^{cd}	14.90±1.04 ^{cd*}
NMet+Se	3.33±0.20 ^f	3.47±0.32 ^e	20.94±0.94 ^a	17.40±0.52 ^{a*}
LMet+Se+EtOH	4.92±0.24 ^b	4.81±0.25 ^b	16.74±1.08 ^{cd}	14.46±1.26 ^{bc*}
NMet+Se+EtOH	3.98±0.10 ^d	4.52±0.30 ^{bc*}	17.41±1.18 ^c	15.34±0.75 ^{bc*}
HMet+Se+EtOH	4.85±0.11 ^{bc}	4.45±0.16 ^{c*}	18.29±0.74 ^b	13.57±1.09 ^{e*}

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 weeks in same experimental group.

향을 미치는 것으로 나타났다. 장기간의 에탄올 섭취는 지방질단백질의 성분 변화로 지질대사의 변화를 유발하거나 단백질, 메티오닌, 콜린, 비타민 E 및 셀렌 등의 항지방간 인자들의 결핍을 유발하여 지방간을 초래하며 단백질의 공급으로 지방간의 발생이 억제된다²⁶⁾. 이는 단백질 자체의 지호성 효과와 간세포의 유지 및 재생산을 위한 필수 아미노산의 공급에 의한 것²⁷⁾으로 생각된다.

요 약

셀렌과 메티오닌의 공급수준이 에탄올 중독된 흰쥐의 간조직 중 지질대사에 미치는 상호작용을 관찰하고자, Sprague-Dawley종의 웅성 흰쥐에게 셀렌 무첨가 및 정상 공급식이(0, 0.45mg/kg diet)에 메티오닌을 각각 3 수준(0, 3 및 9g/kg diet)으로 공급하고 에탄올을 투여한 후 5주와 10주간 사육하여 간조직 중의 지질 함량 변화를 관찰하였다. 글루타티온 함량은 에탄올 투여시 감소되었으며, 셀렌이 결핍되고 메티오닌 공급 수준이 높을수록 유의적인 증가를 나타내었다. 과산화지질은 에탄올 투여, 메티오닌과 셀렌의 동시 결핍시 현저하게 증가하였으며, 5주 에탄올 투여군에 비해 10주 에탄올 투여군에서 유의적인 증가를 보였다. 간조직 중의 지질 함량 변화는 에탄올 투여시 총 지질, 중성지질 및 콜레스테롤 함량이 증가되었고 인지질 함량은 감소되었으며 메티오닌의 결핍 및 과량공급은 에탄올 투여에 의한 함량 증가 및 감소를 가중시켰다. 또한 메티오닌과 셀렌의 동시 결핍시 총 지질, 중성지질 및 콜레스테롤 함량 증가가 현저하였고 에탄올 투여 기간에 따른 유의적 차이는 중성지질과 인지질에서 나타났다.

참고문헌

1. 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**, 408~416(1984).
2. 박 평심 : 백서에서 에탄올에 의해 유도되는 간 손상에 대한 양파의 억제 효과. *조선대학교 논문집* p. 1~12 (1993).
3. Mitchell, J. R., Jollow, J., Potter, W. Z., Gillette, J. R. and Brode, B. B. : Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **187**, 211~217 (1973).
4. Johnson, R. A., Baker, S. S., Fallon, J. T., Maynard, E. P., Ruskin, J. N., Wen, Z., Ge, K. and Cohen, H. J. : An occidental case of cardio myopathy and selenium deficiency. *New Engl. J. Med.*, **304**, 1210~1212(1981).
5. 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**, 1069~1078 (1974).
6. Halpin, K. M. and Baker, D. H. : Selenium deficiency and transsulfuration in the chicks. *J. Nutr.*, **114**, 606~612(1984).
7. Report of the American Institute of Nutrition : Ad Hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, **107**, 1340~1348(1977).
8. Ellman, G. L. : Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70~77(1959).
9. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. : Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**, 351~358(1979).
10. Folch, J., Mee, L. and Stanley, G. S. H. : A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497~509(1975).
11. Frings, C. S. and Dunn, R. T. : A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfophosphovalnillin reation. *Am. J. Clin. Path.*, **53**, 89~91(1970).
12. Zak, B. and Dickman, R. C. : Rapid estimation of free and total cholesterol. *Am. J. Clin. Pathol.*, **24**, 1307~1315(1954).
13. Eng, L. F. and Noble, E. P. : The maturation of rat brain myelin. *Lipid.*, **3**, 157~162(1968).
14. Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. : Statistical methods., 6th., p.1, Iowa State University Press, Iowa(1967).
15. Casini, A. F., Pompella, A. and Comporti, M. : Liver glutathione depletion induced by bromobenzene, iodobenzene and diethylmalate poisoning and its relation to lipid peroxidation and necrosis. *Am. J. Pathol.*, **118**, 225~237(1985).
16. 최 영선, 정 경희, 조 성희, 최 경호 : 에탄올과 식이 지방량이 흰쥐의 혈액 성분과 간조직에 미치는 영향. *한국 영양식량학회지.*, **19**, 1~12(1990).
17. Speisky, H., Kera, Y., Penttila, K. E., Israel, Y. and Lindros, K. O. : Depletion of hepatic glutathione by ethanol occurs independently of ethanol metabolism. *Alcol. Clin. Exp. Res.*, **12**, 224~228 (1988).
18. Shaw, S., Jayatileka, 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**, 417~424(1981).
19. Tammy M. B. and William J. B. : The physiologi-

- cal role of zinc as an antioxidant. *Free Radical Biology and Med.* **8**, 281~291(1990).
20. Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G. and Hoekstra, W. G. : Selenium, biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, **179**, 588~590(1973).
 21. Hilton, J. W., Hodson, P. V. and Slinger, S. J. : The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Nutr.*, **110**, 2527~2535(1980).
 22. Ferrali, M., Ciccoli, L. and Comporti, M. : Ally alcohol induced hemolysis and its relation to iron release and lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol.*, **38**, 1819~1825(1989).
 23. Whanger, P. D., Weswig, P. H., Schmitz, J. A. and Oldfield, J. E. : Effect of selenium and vitamin E deficiencies on reproduction, growth, blood components and tissue lesions in sheep fed purified diets. *J. Nutr.*, **107**, 1288~1297(1977).
 24. 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**, 656~665(1977).
 25. Richie, J. P., Yvonne, L., Saudhamini, P., Virginia-Malloy, N. O. and Jay, A. Z. : Methionine restriction increases blood glutathione and longevity in F344 rats. *FASEB Journal*, **8**, 1302~1307(1994).
 26. Dutta, S. K., Miller, P. A., Greenberg, L. B. and Levander, O. A. : Selenium and acute alcoholism. *Am. J. Clin. Nutr.*, **38**, 713~718(1983).
 27. Lucus, C. C. and Ridout, H. H. : The lipotropic activity of protein. *Canadian J. Biochem. & Phys.*, **33**, 25~29(1953).

(1999년 1월 4일 접수)