

# 식이 Vitamin E가 급성 카드뮴중독 흰쥐 간조직의 항산화계에 미치는 영향

김 관 유 · 이 순 재\*

안산공업대학 식품영양학과, 대구효성가톨릭대학교 식품영양학과\*

## Effects of Vitamin E on Antioxidative Defense System of Liver in Acute Cadmium-Poisoned Rats

Kim, Kwan-Ryu · Rhee, Soon-Jae\*

Department of Food Engineering, Ansan Technical College, Kyungki-Do 425-792, Korea

Department of Food Science and Nutrition,\* Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyongsan 713-702, Korea

### ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effects of vitamin E on antioxidative defense system of liver in acute cadmium poisoned rats. Sprague-Dawley male rats weighing  $100 \pm 10$ gm were randomly assigned to one control and three cadmium injected groups. Cadmium injected groups were fed vitamin E free diet(0E-Cd group), 40mg vitamin E per kg diet(40E-Cd group) or 400 mg vitamin E per kg diet(400E-Cd group). Vitamin E level of normal group was 40mg per kg diet. Animals were injected intraperitoneally with 2.0mg Cd<sup>2+</sup>/kg bw for 4 days after the rats were fed diets with three different levels of vitamin E for 2 and 4weeks. Activities of superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSHpx) and glutathione S-transferase(GST) were decreased in cadmium injected groups but those were significantly improved by dietary vitamin E supplementations. Vitamin E contents reduced glutathione(GSH) in the liver were decreased in cadmium injected groups, but were not significantly different among three groups with different levels of vitamin E supplementations. Contents of liver thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) of 0E-Cd group were higher than those of 40E-Cd and 400E-Cd groups, but those were markedly alleviated according to vitamin E supplementations. These results indicate that cadmium poisoning in rats causes decreasing antioxidative defense system and increasing peroxidative damage in liver, however can be restored by vitamin E supplements. (*Korean J Nutrition* 33(1) : 33~41, 2000)

KEY WORDS: vitamin E, acute cadmium-poisoned rat, antioxidative system, lipid peroxidation.

### 서 론

카드뮴의 독성은 1950년도 말경에 일본에서 골격의 무기질 감소증과 장애를 가져오는 질병이 유행되어 Kobayashi<sup>1)</sup>가 이따이 이따이라고 처음 발표하였는데 그 원인은 아연탄광에서 흘러나온 카드뮴 염이 오염된 강물을 식수로 사용함으로써 발생되었다고 한다. 카드뮴은 출생 시에는 인체 내에 존재하지 않으나 출생후 생활을 통하여 흡수되며 40~60년의 생애를 통하여 20~30mg이 축적된다. 카드뮴은 오염된 식품을 통하여 경구 적으로 흡수될 뿐 만 아니라 흡연 또는 오염된 대기의 호흡을 통하여서도 체내에 이행된다. 흡수된 카드뮴은 비록 미량일지라도 생물학적 반감기가 길

기 때문에 체내 축적성이 있으며 간장과 신장이 주된 축적 부위로 알려져 있다.<sup>2-4)</sup>

지금까지 카드뮴의 중독현상에 대하여 많은 연구가 수행되어 왔다.<sup>5-11)</sup> Artiguez<sup>5)</sup>등과 Ikeda 등<sup>6)</sup>은 체내 카드뮴의 축적량이 많아지게 되면 체내 임계 농도에서 신장기능 부전과 조직 손상이 오고 함께 또한 카드뮴은 칼슘의 흡수를 방해하여 골 장애를 일으키는 것으로 알려져 있다. 또한 급성 카드뮴 중독으로서는 1969년에 Gleason<sup>8)</sup>의 발표에 의하면 카드뮴으로 도금한 깡통에 든 음식을 먹고 중독을 일으킨 예와 같이 일반인에게도 일어날 가능성이 있고 특히 산업장에서 흔히 볼 수가 있으며 급성중독때에는 간, 위장과 중추신경, 고환등 장기의 기능장애 내지는 조직손상을 초래하는 것으로 밝혀졌다.

중금속의 임상적 중독현상이나 해독에 영향을 미치는 주

채택일 : 1999년 11월 15일

요 요소는 동물체내의 영양상태나 항산화물질에 의해 현저한 차이가 있다는 여러 연구보고가 있다.<sup>12-17)</sup> 이<sup>17)</sup>는 카드뮴에 중독된 쥐에게 식이 단백질수준을 증가시켰을 때 카드뮴이 많이 배설되어 체내축적이 감소되며 또 단백질의 종류에 따라서도 카드뮴의 체내축적에 영향을 미친다고 하였다. Fox와 Jacobs 연구<sup>18)</sup>에서는 카드뮴섭취로 인한 철분결핍 상태가 비타민 C와 철분을 보충한 고단백질 식이 공급으로 완화되었으며 이 등<sup>19)</sup>은 흰쥐에 카드뮴을 투여하였을 때 간조직의 free radical 생성계가 활성화되고 카드뮴이 free radical의 inducer로 작용할 수 있으며 GOT, GPT, AL-pase 활성증가등 간 조직의 과산화적 손상이 초래됨을 보고하였다.

이러한 보고들을 종합해 볼 때 카드뮴은 free radical을 생성하여 생체막 지질을 과산화시킬 수 있으며 조직의 항산화계가 약화될 수 있다. 한편 식이 비타민 E가 납투여 흰쥐에서 식이 중에 비타민 E를 충분히 공급했을때 항산화계가 강화되고 간조직의 과산화적손상이 완화되는 보고가 있다. 따라서 카드뮴의 급성 중독 경우에도 비타민 E의 충분한 공급으로 항산화계의 강화와 조직 손상의 완화를 기대할 수 있겠다. 그러나 급성 카드뮴중독에서 흰쥐 간조직을 대상으로 항산화계 활성변화와 이에 미치는 비타민 E의 효과와 관련된 연구는 거의 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 식이 비타민 E 함량을 달리한 식이로 일정기간 사육한 후 흰쥐를 급성으로 카드뮴을 중독시킨후 간조직의 항산화계의 변화를 관찰하므로써 비타민 E의 효과를 규명코저 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물의 사육

실험동물은 체중 100gm 내외의 Sprague-Dawley종 수컷을 구입하여 실험에 사용하였다. 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료(제일사료주식회사)로 일주일간 예비 사육한 후, 난괴법에 의해 Table 1과 같이 대조군과 카드뮴

Table 1. Classification of experimental groups

Groups	Cd <sup>1)</sup> (2.0mg Cd <sup>2+</sup> /kg bw)	Vitamin E <sup>2)</sup> (mg/kg diet)
Normal	-	40
0E-Cd	+	0
40E-Cd	+	40
400E-Cd	+	400

1) Cadmium dichloride (CdCl<sub>2</sub> · 2½ H<sub>2</sub>O)

Rats were injected intraperitoneally with 2.0 mg Cd<sup>2+</sup>/kg bw once a day for 4 days and sacrificed after 24hrs from the last injection of cadmium

2) Vitamin E: dl-α-tocopherylacetate

투여군으로 나눈 후, 카드뮴 투여군을 다시 식이 내의 비타민 E의 급여수준에 따라 비타민 E를 급여하지 않은 군(0E-Cd), 정상수준(40mg/kg diet)으로 급여한 군(40E-Cd), 비타민 E를 다량 급여한 군(400E-Cd)등 각 10마리씩 4군으로 나누어 각각 2주 및 4주간 사육하였다. 비타민 E는 사료에 첨가하여 급여하였고 카드뮴은 식이 급여 2주 및 4주후에 LD<sub>50</sub>의 약 1/2 수준이 되도록 체중kg당 2.0mg (LD)<sub>50</sub> = 5.5mg/kg bw)을 하루에 한 번씩 일정시간에 4일간 투여하였고 마지막 투여 후 24시간 뒤에 쥐를 희생시켰다.

기본 사료 조성은 Table 2와 같다. 고 식이는 매일 일정시간에 공급하여 자유로이 섭취케 했으며 남은 것은 버렸다. 실험기간 동안 체중을 매일 측정하고 체중 증가율 및 식이효율을 계산하였다. 사육실의 온도는 22 ± 10 °C였고, 습도는 50 ± 10% 였다.

### 2. 혈액 및 장기채취

실험 종료 후 실험 동물을 가벼운 ether 마취 하에서 복부 대동맥으로부터 혈액을 채혈하여 실온에서 30분간 방치한 후 1500 × g에서 각각 15분간 원심 분리하여 혈청을 얻었다. 간장은 생리식염수로 씻어내고 무게를 측정후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80°C에 보관하였다.

### 3. 간조직중의 항산화 방어계 측정

#### 1) Superoxide Dismutase(SOD)

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에

Table 2. Composition of experimental diet

Ingredients	Amount (g/kg diet)
Corn starch <sup>1)</sup>	668
Casein <sup>2)</sup>	180
DL-methionine <sup>3)</sup>	2
Corn oil <sup>4)</sup>	50
Salt mixture <sup>5)</sup>	40
Vitamin mixture <sup>6)</sup> (V-E free)	10
Cellulose <sup>7)</sup>	50
kcal/kg	3850

1) Pung Jin Chem. Co.

2) Lactic Casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board, Wington, N. Z.

3) Sigma Chem. Co.

4) Dong Bang Oil Co.

5) Salt mixture: according to Haper's

g per 100g of salt mixture: CaCO<sub>3</sub> 30.0g, CaHPO<sub>4</sub> 7.5g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 32.2g, NaCl 16.7g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 10.2g, ferric citrate 2.75g, MnSO<sub>4</sub> 0.51g, KI 70mg, CuCl<sub>2</sub> · 5H<sub>2</sub>O 35mg, ZnCl<sub>2</sub> 25mg, CoCl<sub>2</sub> · 5H<sub>2</sub>O 5mg (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O 5mg

6) Vitamin E free mixture: according to NRC

7) Sigma Chem. Co.

CMC(Sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber)

의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund<sup>20)</sup>의 방법에 따라 측정하였다. 즉 tris-HCl buffer(50mM Tris/10mM EDTA, pH 8.5) 1.5ml에 효소용액 0.1ml를 넣고 7.2 mM pyrogallol 0.1ml를 가하여 25℃에서 정확히 10분간 반응시킨 후 1N-HCl 0.05ml를 가해 반응을 정지시켜 산화된 pyrogallol의 흡광도를 420nm에서 측정하였다. 그리고 효소 활성의 1단위는 반응액 중의 pyrogallol의 산화를 50% 억제하는 효소의 양으로 정하였다.

### 2) Glutathione peroxidase(GSHpx)

GSHpx 활성은 Lawrence 와 Burk의 방법<sup>21)</sup>에 따라 측정하였다. 즉 1mM의 EDTA를 함유하는 pH 7.0의 0.1M potassium phosphate buffer 1.72ml에 효소용액 0.05ml와 0.2mM NADPH 0.3ml, glutathione reductase 100 unit, 1mM sodium azide 0.3ml 및 1mM 환원형 glutathione(GSH) 용액 0.3ml를 넣고 0.25mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액 0.3ml를 가함으로서 25℃에서 반응을 시작시켜 340 nm에서 1분간 측정하였다. 그리고 효소활성의 1단위를 1분간 1μmol의 산화형 NADPH를 생성하는 효소의 양으로 나타내었다.

### 3) Glutathione s-transferase(GST)

GST 활성 측정은 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)과 환원형 glutathione을 기질로 하여 25℃에서 20분간 반응하는 동안 생성된 GSH-DNCB conjugate의 분자 흡광도계수( $E^{mM}/_{340nm} = 9.6mM^{-1} cm^{-1}$ )를 이용하여 효소활성을 산출하는 Habig등<sup>22)</sup>의 법에 의하여 측정하였다. 즉 pH 6.5의 0.1M potassium phosphate buffer 2.0ml에 효소액 0.1ml와 0.04M 환원형 glutathione 0.075ml를 넣고 25℃에서 5분간 preincubation 시킨 후, 0.12M DNCB 0.025ml 넣고 25℃에서 2분간 incubation하여 20% trichloroacetic acid 0.5ml를 가함으로써 반응을 정지시킨 후, 1,500×g에서 10분간 원심 분리한 상층액의 흡광도는 340nm에서 측정하였다. 이 효소 활성의 단위는 1분간 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 conjugated DNCB를 nmole로 나타내었다.

### 4) 간조직중의 비타민 E 함량 측정

간조직 마쇄액 1.0ml를 Kayden<sup>23)</sup>의 방법에 따라 2% pyrogallol 5ml를 서서히 가열하면서 섞은 후 70℃의 항온 수조에서 2분간 가온한 후 포화 KOH 용액 0.3ml를 가하여 완전히 섞은 후 다시 70℃의 수조에서 30분간 가온하였다. 이것을 얼음 속에서 냉각시켜 증류수 4ml와 hex-

ane 10ml를 가한 후 2분간 세계 흔들어 1,500×g에서 10분간 원심 분리한 상층액(hexane layer) 7ml를 갈색 시험관에 취하여 30℃에서 질소가스로 건조시켰다. 이것을 시료로 하여 ferric chloride dipyritydyl<sup>24)</sup>에 의해 직사광선을 피한 상태에서 0.5% ferric chloride 0.8ml와 0.5% dipyritydyl 0.8ml를 가하여 세계 흔들어 잘 섞은 후 무수 ethanol 2ml를 가하고 ferric chloride 시약을 넣은 후 10분 후 520nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 5) 간조직중의 Glutathione 함량 측정

Glutathione의 함량은 Bernt와 Bergmeyer<sup>25)</sup>의 방법에 따라서 측정하였다. 즉 간조직에 1M perchloric acid 3ml를 가하여 산추출물을 얻고 이 산추출액으로부터 4M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 중화하여 산화형 glutathione(GSSG)은 glutathione reductase 반응을 이용하였으며, 이 반응에서 소모된 NADPH량을 340nm에서 측정하여 정량 하였으며, 환원형 glutathione(GSH)은 glyoxalase 반응을 이용하여 생성된 S-lactosyl-GSH를 240nm에서 측정하여 정량 하였다.

### 6) 간조직의 과산화지질(TBARS) 함량 측정

과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하는 물질(TBARS)을 측정하는 Satoh법<sup>26)</sup>을 이용하였다. 간조직의 마쇄액을 8,000×g에서 처리하여 얻은 상층액 0.5 ml에 10% TCA용액 2.5ml를 가하여 잘 섞은 후, 실온에서 10분간 방치한 다음 1,500×g에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 버리고 침전물을 0.05M 황산으로 1회 세척한 후 그 침전물에 0.05M 황산 2.5ml와 0.6% TBA 3.0ml를 가하여 잘 섞은 후, 95℃의 항온 수조에서 30분간 가열한 다음 즉시 냉각시켰다. 여기에 n-butanol: pyridine 혼합액(15 : 1, v/v) 3.0ml를 가하여 잘 섞은 후, 1,500×g에서 10분간 원심 분리하다 그 상층액을 취해 530nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로는 1,1,3,3.-tetramethoxypropane을 사용하였다.

### 4. 통계처리

실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 평균차이가 있는가를 검증하기 위하여 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며, 분산분석의 결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's-HSD test에 의해 분석하였다. 각 parameter 간의 상관관계는 SAS package program을 이용하여 상관계수를 구하여 분석하였다.

**Table 3.** Effects of vitamin E on changes in liver and kidney weights of cadmium administered rats

Groups	Liver (g/100g bw)	Kidney
Normal	3.05 ± 0.19 <sup>NS</sup>	0.63 ± 0.04 <sup>NS</sup>
0E-Cd	3.36 ± 0.11	0.66 ± 0.03
40E-Cd	3.42 ± 0.14	0.66 ± 0.03
400E-Cd	3.49 ± 0.18	0.67 ± 0.02

All values are mean ± SE (n = 10)  
Values within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test.

**Table 4.** Effects of vitamin E on liver superoxide dismutase activities

Groups	2weeks (unit/mg protein)	4weeks
Normal	3.727 ± 0.07 <sup>a</sup>	3.790 ± 0.09 <sup>a</sup>
0E-Cd	3.333 ± 0.07 <sup>b</sup>	3.240 ± 0.10 <sup>b</sup>
40E-Cd	3.776 ± 0.09 <sup>a</sup>	3.440 ± 0.08 <sup>b</sup>
400E-Cd	4.213 ± 0.11 <sup>c</sup>	4.077 ± 0.06 <sup>c</sup>

All values are mean ± SE (n = 10)  
Values within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05

**Table 5.** Effects of vitamin E on liver glutathione peroxidase activities of cadmium administered rats

Groups	2 weeks (nmol NADPH/mg protein/min.)	4 weeks
Normal	155.25 ± 10.09 <sup>a</sup>	161.34 ± 13.81 <sup>a</sup>
0E-Cd	78.13 ± 6.32 <sup>b</sup>	75.13 ± 8.36 <sup>b</sup>
40E-Cd	86.49 ± 7.34 <sup>b</sup>	99.76 ± 9.35 <sup>c</sup>
400E-Cd	108.36 ± 5.44 <sup>c</sup>	131.46 ± 10.41 <sup>a</sup>

All values are mean ± SE (n = 10)  
Values within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05

**Table 6.** Effects of vitamin E on liver glutathione S-transferase activities of cadmium administered rats

Groups	2 weeks (nmol DNCB/mg protein/min)	4 weeks
Normal	190.32 ± 8.01 <sup>a</sup>	176.74 ± 3.89 <sup>a</sup>
0E-Cd	142.20 ± 6.25 <sup>b</sup>	119.66 ± 9.04 <sup>b</sup>
40E-Cd	150.07 ± 7.55 <sup>b</sup>	142.72 ± 7.83 <sup>c</sup>
400E-Cd	172.88 ± 4.12 <sup>c</sup>	161.81 ± 4.99 <sup>d</sup>

All values are mean ± SE (n = 10)  
Values within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05

## 결과 및 고찰

### 1. 간의 무게

실험 4주간에서의 간의 무게는 대조군에 비하여 0E-Cd군은 10%, 40E-Cd군은 12%, 400E-Cd군은 14%씩 증가되었으나 유의적 차이가 없었으며 신장의 무게도 유의성이 없었다(Table 3).

### 2. Superoxide Dismutase(SOD) 활성

생체내의 항산화적 방어기구 중에서 효소적 방어계의 하나로서 superoxide radical을 환원시켜 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환시키므로써 산소독으로부터 생체를 보호하는 SOD 활성을 관찰한 결과는 Table 4와 같다. 대조군에 비해 2주에서는 vitamin E 비투여군인 0E-Cd군에서는 유의적으로 감소되었고(p < 0.05) 비타민 E 다량 투여군인 400E-Cd군은 13% 유의적으로 증가되었다. 4주에서는 대조군에 비해 0E-Cd군과 40E-Cd군에서는 각각 15%, 9%씩 유의적으로 감소되었고 400E-Cd군은 0E-Cd에 비해 유의적으로 증가되었다(p < 0.05).

### 3. Glutathione Peroxidase(GSHpx) 활성

항산화 효소로서 체내에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 환원형 glutathione (GSH)로부터 산화형 glutathione(GSSG), alcohol 및

물을 생성하는 반응을 촉매함으로써 조직의 과산화적 손상을 방지하고 산소독을 해독하는 GSHpx 활성을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 대조군에 비해 0E-Cd, 40E-Cd군에서는 2주, 4주 모두 유의적으로 감소되었으며 400E-Cd군은 2주에서는 다소 감소되었으나(p < 0.01) 4주에서는 대조군과 같은 수준으로 카드뮴 중독시에는 비타민 E 부족시에 그 활성이 더 현저하게 감소되었다.

### 4. Glutathione S-Transferase(GST) 활성

변이원성 물질, 발암성 물질, 독성물질 등의 대사 산물, 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질에 환원형 glutathione을 포함시켜 glutathione thioester 형성반응을 촉매하는 GST 활성을 측정된 결과는 Table 6과 같다.

실험 2주, 4주 모두 0E-Cd, 40E-Cd군에서는 대조군보다 유의적으로 감소되었으며 비타민 E를 다량 공급한 400E-Cd군은 감소폭이 낮았다(p < 0.05). 이와 같이 비타민 E는 SOD, GSHpx 및 GST와 같은 항산화계 효소가 카드뮴 중독으로 인해 그 활성이 저해되었으나 비타민 E의 공급으로 현저하게 증가됨을 알 수 있었다.

### 5. 간조직중의 비타민 E 함량

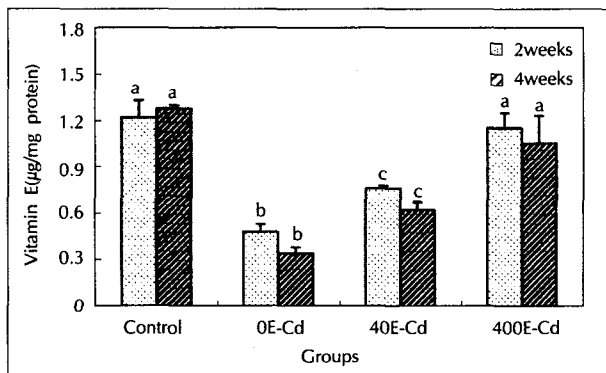
생체내에서 산화적 손상으로부터 생체를 보호하는 방어기구 중 비효소적 방어계로 알려진 생리적 항산화물질인 비타민 E 함량을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 간조직 중의

비타민 E 함량은 대조군에 비해 2주에서는 0E-Cd군은 60%, 40E-Cd군은 38%, 400E-Cd군은 6%씩 감소되었으며 4주에서는 0E-Cd군은 73%, 40E-Cd군은 52%, 400E-Cd군은 18%씩 각각 감소되었다. 따라서 식이 비타민 E 공급수준에 따라 간조직에서의 비타민 E 함량이 의존됨을 알 수 있었다.

**6. 간조직중의 Glutathione 함량**

비효소적 방어기구 중의 하나인 간 조직 환원형 glutathione(GSH) 함량은 Fig. 2와 같다. 대조군은 4.66 $\mu$ mol/g인데 비해 카드뮴 투여군인 0E-Cd군은 3.33, 40E-Cd군은 3.49 $\mu$ mol/g, 400E-Cd군은 3.13 $\mu$ mol/g으로서 각각 29%, 25% 및 33%씩 각각 유의적으로 감소되었으며 산화형 glutathione(GSSG) 함량은 대조군은 0.39 $\mu$ mol/g인데 0E-Cd군 0.41 $\mu$ mol/g, 40E-Cd군은 0.40 $\mu$ mol/g, 400E-Cd군은 0.40 $\mu$ mol/g으로서 약간 증가됨으로 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 또한 GSH/GSSG 비율도 대조군에 비해 카드뮴 투여군 모두 약간 감소되었으나 유의적 차이는 없었다.

간조직중의 비타민 E 및 glutathione과 같은 생리적 항산화제도 항산화 효소계와 비슷하게 카드뮴 중독으로 현저히 감소되었으나 비타민 E의 다량 투여로 증가되었다. 이



**Fig. 1.** Effects of vitamin E on liver vitamin E contents of cadmium administered rats. Mean  $\pm$  SE. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

**Table 7.** Effects of vitamin E on liver TBARS contents of cadmium administered rats

Groups	2 weeks	4 weeks
	(MDA nmol/mg protein)	
Normal	0.83 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.81 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
0E-Cd	4.29 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup>	3.08 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>
40E-Cd	1.97 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	1.74 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>
400E-Cd	1.68 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup>	1.28 $\pm$ 0.09 <sup>d</sup>

All values are mean  $\pm$  SE (n = 10)  
Values within a column with different superscripts are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test

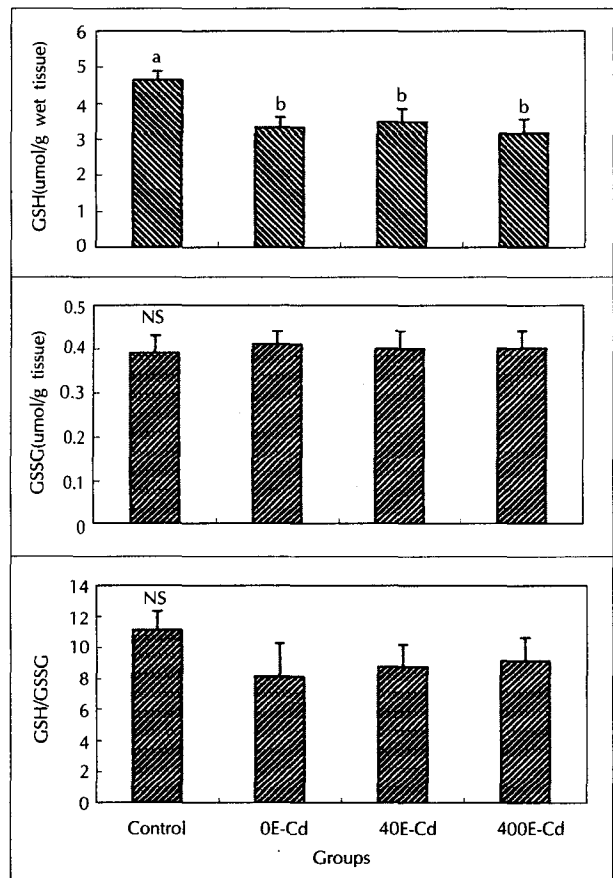
와 같이 비타민 E는 카드뮴 중독 흰쥐 간조직에서의 항산화계를 강화 시키는 기능이 현저하였다.

**7. 간조직의 지질과산화물(TBARS) 함량 변화**

생체조직의 과산화적 손상의 지표로 알려져 있는 지질과산화물을 측정 한 결과는 Table 7에 나타난 바와 같이 대조군에 비해 2주에서는 0E-Cd군은 417%, 40E-Cd군은 137%, 400E-Cd군은 102%씩 증가되었고 비타민 E가 부족한 0E-Cd군은 대조군에 비해 417% 증가되었다. 4주에서는 대조군에 비해 40E-Cd군은 115%, 400E-Cd군은 58% 증가되었으며 0E-Cd군에서는 280%나 증가되었다. 그러나 비타민 E 다량 투여군은 비타민 E 비투여군에 비하여 간조직의 TBARS 함량이 현저히 낮아지는 것으로 ( $p < 0.05$ ) 보아 간조직 손상이 많이 완화되었다.

**8. 주요 parameter들 간의 상관관계**

본 실험의 주요 parameter들간의 상호관련성을 Fig. 3 및 Fig. 4에 나타내었다. 간장조직중의 지질과산화물(TBARS)와 SOD활성( $r = -0.3348, p < 0.05$ ), GST활



**Fig. 2.** Effects of vitamin E on liver glutathione contents cadmium administered rats. Mean  $\pm$  SE. Bars with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

성( $r = -0.4645, p < 0.05$ ) GSHpx활성( $r = -0.6557, p < 0.05$ ), 비타민 E함량( $r = -0.7016, p < 0.05$ )과의 관계는 부의 상관관계를 나타내었다.

또한 간조직중의 비타민 E함량과 GST활성( $r = 0.5605, p < 0.05$ ) GSHpx 활성( $r = 0.5605, p < 0.05$ ), SOD활성( $r = 0.4924, p < 0.05$ )과는 정의 상관관계를 보였고 GSH와는 상관관계가 없었다.

본 연구는식이 Vitamin E가 급성 카드뮴중독 흰쥐 간조직의 항산화계에 미치는 영향을 규명하는데 목적을 두었다.1

Free radical의 제거제로써 생체내에 존재하는 항산화계 효소로는 superoxide diasmutase(SOD), glutathione peroxidase(GSHpx), glutathione S-transferase(GST)

등이 있다. 또한 비효소계로서 free radical을 제거할 수 있는 체내 생리적 항산화물질로는 비타민 A, 비타민 C, glutathione, selenium 및 비타민 E 등이 있다. 노화과정중 또는 퇴행성 질환의 발현중에는 유리 과산화물 라디칼이 축적되는데 이들 유리 과산화물 라디칼은 아주 반응성이 높으며 불안정한 물질로서 세포 구조를 손상시키며 파괴시키는데 인체는 천연 항산화제인 비타민 E와 C의 작용에 의해 과산화물의 유해한 작용으로부터 보호를 받는다.

SOD는 superoxide radical을 환원시켜  $H_2O_2$ 로 전환시키며 이때 생성된  $H_2O_2$ 는 GSHpx, catalase등의 작용에 의해  $H_2O$ 로 무독화 됨으로서 산소독으로부터 생체를 보호하게 된다. 본 연구에서 SOD활성은 대조군에 비해 비타민

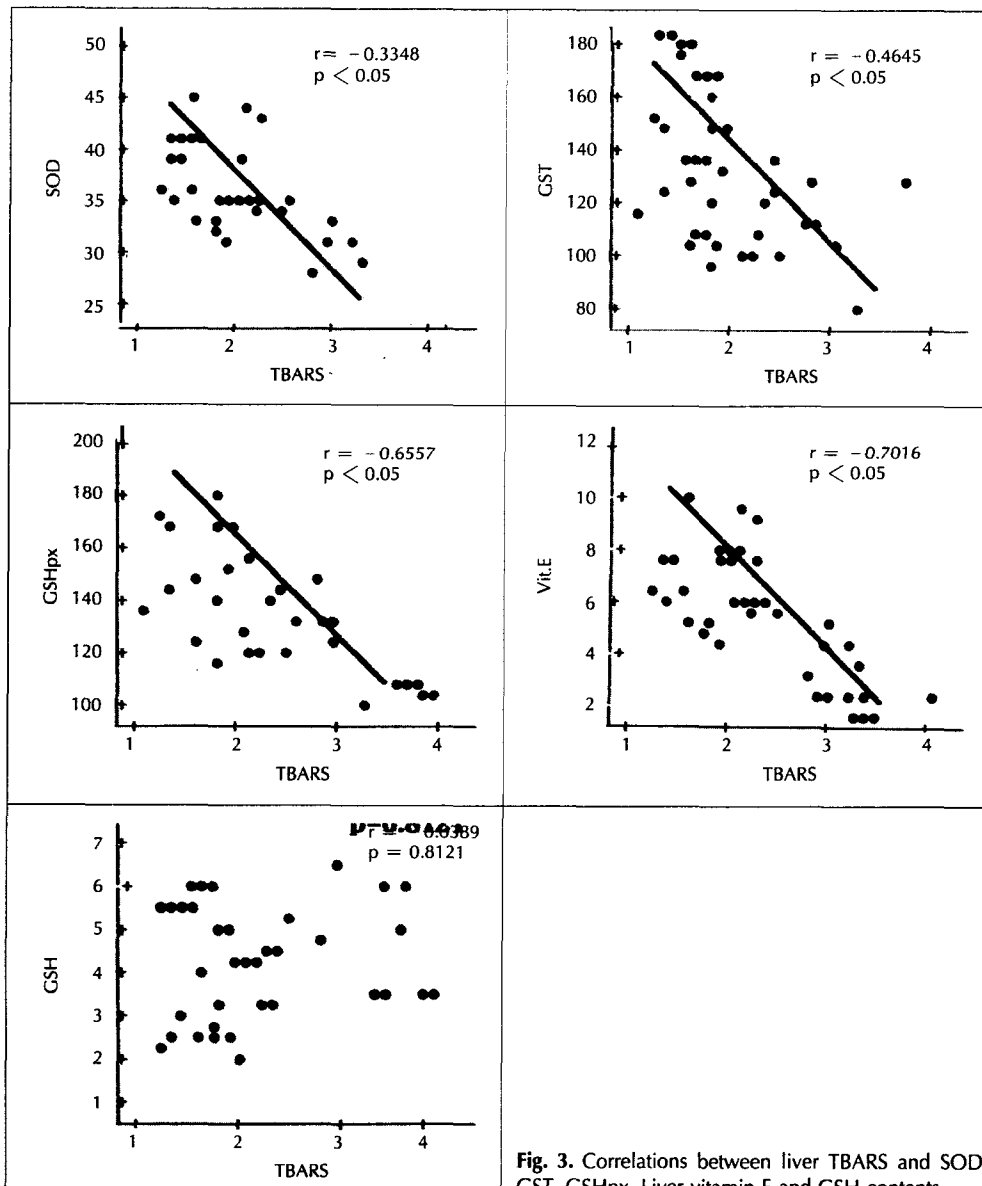


Fig. 3. Correlations between liver TBARS and SOD, GST, GSHpx, Liver vitamin E and GSH contents.

E 비투여군인 0E-Cd군은 2주, 4주 모두 유의적으로 감소되었으나 400E-Cd군에서는 2주, 4주 모두 유의적으로 증가되었다. GST는 변이원성 물질, 발암성물질, 독성물질등의 대사산물, 내인성 독소 등에 환원형 glutathione을 운반하여 glutathione thioester(R-S-G) 형성 반응을 촉매하므로서 무독화시키는 작용을 한다. 본 실험에서 간조직에서의 GST 활성은 카드뮴 투여군에서는 2주, 4주 모두 대조군보다 유의적으로 감소되었으며 0E-Cd군에서 더 많은 감소를 보였다.

또한 GSHpx 활성은 대조군에 비해 실험군이 모두 유의적으로 감소되었으나 400E-Cd군에서는 유의적인 차이가 없었다. 이는 카드뮴 중독에서 GSHpx 활성이 감소되었으나 Se 투여로 상당 수준 회복되었다는 Yin 등<sup>27)</sup>의 보고나 또 이 등<sup>28)</sup>의 연구에서 흰쥐에서 납 중독시 GSHpx, GST 활성이 감소되었으나 사료내 비타민 E를 충분히 첨가한 경우 GSHpx, GST 활성이 증가되었다는 보고와 일치하였다. 이러한 결과는 이들 항산화방어계 효소가 카드뮴과 같은 중금속 중독시 조직의 산화적 손상으로 인하여 활성이 저하되었으나 항산화기능이 우수한 비타민 E를 충분히 공급시켰을 때는 비타민 E가 세포막의 소기관들을 산화로부터 보호함으로써 그 활성을 증가시킨 것으로 생각된다.

또한 비효소방어계로서 생리적 활성물질로 알려진 비타민 E와 glutathione을 간조직에서 관찰하였다. 간조직중의 비타민 E 함량은 대조군에 비해 0E-Cd군 및 40E-Cd군은 실험 2주, 4주 모두 유의적으로 감소되었으며 0E-Cd군에서 더 많은 감소를 보였으나 400E-Cd군은 유의적인 차이가 없었다. 이러한 결과로 볼 때 비타민 E 공급 수준에 따라 간조직에서의 비타민 E 함유량이 의존되고 생리적 항산화 기능에 영향을 미치는 것으로 생각된다. 또한 간조직에서의 환원형 glutathione(GSH) 함량은 대조군에 비해 카드뮴 중독군에서 실험군이 유의적으로 감소되었으나 산화형 glutathione(GSSG) 함량은 유의적인 차이를 보이지 않았다. GSH/GSSG 비를 측정된 결과는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타나 식이 비타민 E 공급수준에 크게 의존되는 않는 것으로 관찰 되었다.

따라서 카드뮴에 중독된 쥐에서는 free radical 제거제인 SOD, GSHpx, GST 등 항산화계 효소 활성은 감소되었으나 비타민 E 투여로 그 활성은 강화되는 것을 관찰 할 수 있었다. 또 조직의 과산화적 손상의 지표로 알려져 있는 지질과산화(TBARS)를 간조직에서 측정된 결과 0E-Cd군은 2주에서 417%, 4주에서 280%, 40E-Cd군에서는 2주 137%, 4주 115%가 증가되었으며 400E-Cd군에서는 2주

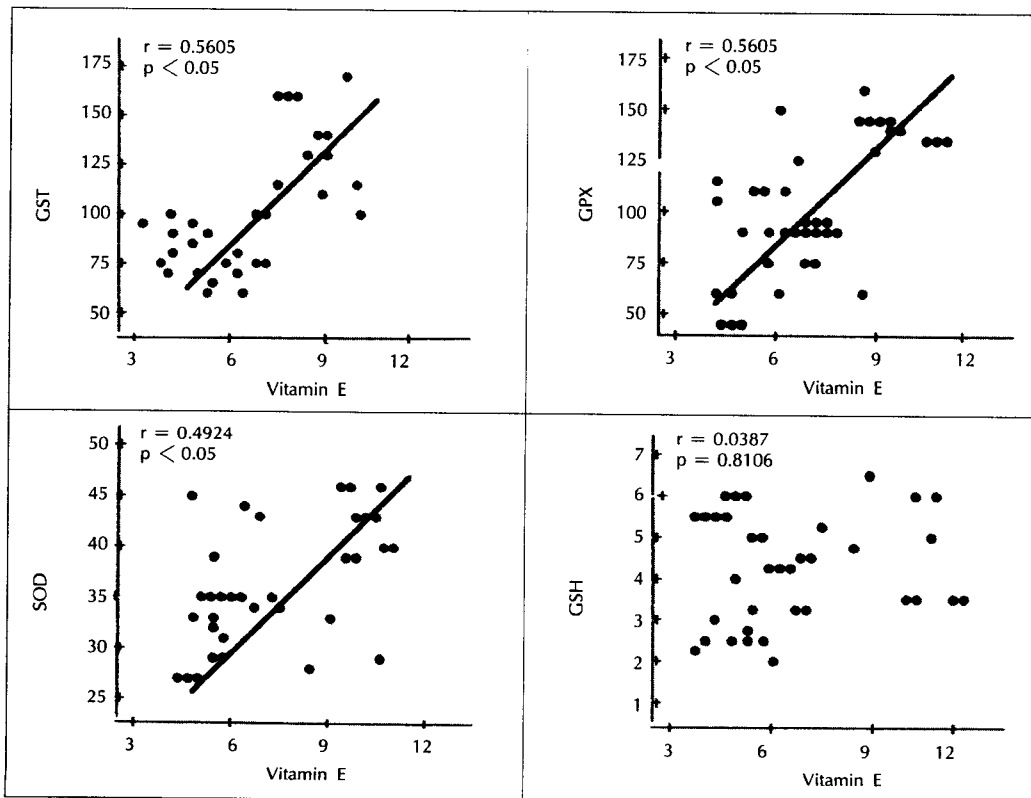


Fig. 4. Correlations between liver vitamin E contents and GST activities GSHpx activities, SOD and GSH contents.

102%, 4주 58%로 비타민 E의 다량 투여로 간조직의 지질 과산화물 축적이 현저하게 감소됨을 나타내었다. 또 이 등<sup>28)</sup>의 연구에서 납 중독된 흰쥐의 사료 비타민 E 공급수준이 증가함에 따라 항산화효소 활성이 증가되고 과산화지질가가 감소되었다는 보고와도 일치 하였다.

이러한 결과는 비타민 E가 세포막 다불포화 지방산의 지질과산화 과정에서 자동 연쇄반응으로 생성되는 free radical 형성을 저하시켜 세포소기관들을 지질과산화로부터 보호하여 항산화계 효소활성의 적정상태를 유지시켜 주는데 기여한 것으로 생각된다. 또 이러한 현상들은 비타민 E 식이로 2주째 이미 결핍 현상이 현저하였으며 2주 및 4주간의 사육 기간에 따른 차이는 크게 나타나지 않았다.

이러한 결과로 미루어 볼때 급성으로 카드뮴에 중독된 흰쥐는 간조직에서의 산화적 손상이 유발되었으나 비타민 E의 충분한 공급으로 항산화 방어계의 활성이 증가됨으로써 조직의 손상이 현저하게 완화됨을 알 수 있었다.

## 결 론

본 연구는 식이 Vitamin E가 급성 카드뮴중독 흰쥐 간조직의 항산화계에 미치는 영향을 관찰하고자 수행하였다. 실험동물은 100g 내외의 Sprague-Dawley종 흰쥐를 대상으로 하여 식이내 비타민 E의 공급 수준에 따라 0E-Cd군(비타민 E 비공급군), 40E-Cd군(비타민 E 40mg/kg of diet), 400E-Cd군(비타민 E 400mg/kg of diet)으로 나누었다. 실험군을 각각 실험식으로 2주간과 4주간 자유섭식으로 사육한 후 하루 한 번씩 4일간 카드뮴(2.0mg Cd<sup>2+</sup>/kg bw)을 주사하고 24시간이 지난 후 동물을 희생시켜 간조직의 항산화계의 작용을 관찰하였다.

유리기 제거제로 알려진 간조직의 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSHpx), glutathione S-transferase(GST)의 항산화계 활성은 감소하였으나 비타민 E의 다량 공급으로 현저하게 강화되었다.

또 간조직중의 vitamin E와 카드뮴 중독시 감소되었으나 식이 비타민 E의 공급수준에 따라 의존적으로 회복되었다. 환원형 glutathione(GSH)은 카드뮴투여에 의해 감소되었으나 비타민 E에 의해 증가되었다. 그러나, 산화형 glutathione(GSSG) 및 GSH/GSSG 비율은 유의적 변화가 없었다. 지질과산화물(TBARS)은 카드뮴 투여군에서 증가하여 조직의 과산화적 손상이 관찰되었으며 특히 비타민 비공급군(0E-Cd군)에서 가장 현저하였다. 그러나 이러한 현상은 비타민 E의 다량 공급으로 현저하게 완화되었다. 결론적으로 급성 카드뮴 중독 흰쥐에서 간조직의 항산

화계 활성이 감소되고 조직의 산화적 손상이 초래되었으나 비타민 E의 다량 공급으로 이러한 현상이 완화되었다.

## ■ 감사의 글

This work was supported by grant No 981-0610-052-1 from the Basic Research Program of the KOSEF.

## Literature cited

- 1) Kobayashi J. Relation between the Itai-itai disease and the pollution of river water by cadmium from a mine. In: Fifth International Water Pollution Research Conference, 1970
- 2) Perry HM, Tipton IH, Schroeder HA and Cook MJ. Variability in the metal content of human organs. *J Lab & Clin Med* 60: 245-253, 1962
- 3) Shaikh ZA and Lucis OJ. Cadmium and zinc binding in mammalian liver and kidneys. *Ach Environ Health* 24: 419-425, 1972
- 4) Kazantzis G. Renal tubular dysfunction and abnormalities of calcium metabolism in cadmium workers. *Environmental Health Perspectives* 28: 155-159, 1979
- 5) Artiguez LM, camean A, Gonzalez G, Repetto M. Cadmium concentrations in human renal cortex tissue(Necropsies), *Bull. Environ Contam Toxicol* 54: 841-847, 1995
- 6) Ikeda MC, Moon CS, Xhang ZW, Iguchi HI, Watanabe T, Iwami O, Imaj Y and Shimbo S. Urinary  $\alpha_1$ -microglobulin,  $\beta_2$ -microglobulin, and retinol-binding protein levels in general populations in Japan with references to cadmium in urine, blood, and 24-hour food duplicates. *Environmental Research* 70: 35-46, 1995
- 7) Krejs GJ, Nicar MJ, Zerwekh JE, Norman DA, Kane MG and Pak CYC. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on calcium and magnesium absorption in the healthy human jejunum and ileum. *The American Journal of Medicine* 75: 973-976, 1983
- 8) Gleason MN, Gosselin RS, Modge HC and Smith RP. Clinical toxicology of commercial products, Acute poisoning(Home and Farm), pp.29, 1969
- 9) Schroeder HA, Kroll SS, Little JW, Livingston PO and Margery AG, Myers Hanover. Hypertension in rats from injection of cadmium. *Arch Environ Health* 13, 1996
- 10) Carroll RE. The relationship of cadmium in the air to cardiovascular disease death rats. *J Am Med Ass* 198, 1966
- 11) Passow H, Rothstein A and Clarkson TW. The general pharmacology of the heavy metals. *Pharmacol Rev* 13: 185, 1961
- 12) Lee HY, Kim MK. Effects of dietary cadmium and protein levels on the body protein metabolism and cadmium toxicity in growing rats. *Korean J Nutr* 21(6): 410-420, 1988
- 13) Cho SY, Hyh SY, Lee SH. Effect of calcium and vitamin D on the cadmium in toxication of rats. *J Korean Soc Food Nutr* 13(1): 27-32, 1984
- 14) Yang JS, Hahn SH and Lee SR. A suppressive effect of alginate on the intestinal absorption of cadmium in vitro. *Korean J Nutr* 11(3): 9-12, 1978
- 15) Kim HJ, Cho SY and Park JM. Effect of dietary vitamin E and protein on cadmium toxicity in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 19(1): 27-34, 1990
- 16) Fassett DW. Cadmium, in metallic contaminants and human health, ed. Lee, D.H.K., pp. 97-124, Environmental Sciences: An Interdisciplinary Monograph Series, Academic Press, New York & London, 1972
- 17) Hee LM. Accumulation and organ distribution of protein bound cad-



- mium in rats compared with CdCl<sub>2</sub>. *Korean J Nutr* 27(8): 828-836, 1994
- 18) Fox MRS, Jacobs RM. Changes in plasma protein associated with the anemia produced by dietary Cd in Japanese quail. *J Nutr* 119, 1969
  - 19) Rhee SJ, Kim SO, Choe WK and Cho SH. Effect of cadmium dose injection of peroxidation damage in rat liver. *J Korean Soc Food Nutr* 21(6): 601-607, 1992
  - 20) Marklund S and Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474, 1974
  - 21) Lawrence RA and Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71: 952-958, 1976
  - 22) Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB. Glutathione S-transferase the first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139, 1974
  - 23) Kayden HJ, Chow CK and Johnson LK. Spectrophotometric method for determination of α-tocopherol in red cell. *J Lipid Res* 14: 553-540, 1973
  - 24) Hawk PG, Oser BL and Summerson WH. Ferric chloride dipyriddy method(Ennenrie-Engel reaction). practical Physio Chem. 13th ed. J LA Churchill LTD, pp.1292-1273, 1956
  - 25) Bernt E and Bergmeyer HU. Methods of enzymatic analysis: Glutathione. 2nd English Ed. *Academic Press* 444: 1641, 1974
  - 26) Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new color metric method. *Clinica Chemica Acta* 90: 37-43, 1978
  - 27) Yin S, Sato I, Hosokawa Y, Niizeki S, Tojo H and Yamaguchi K. Effects of dietary Zinc and cadmium on Tissue selenium concentration and glutathione peroxidase activity in rats fed dl-selenomethionine or sodium selenite. *J Nutr Sci Vitaminol* 37: 29-37, 1991
  - 28) Rhee SJ, Park GY, Kim KY. Effects of dietary vitamin E and selenium on hematopoiesis and antioxidative detoxification mechanism in lead poisoned rats. *J Korean Soc Food Nutr* 22(6): 651-657, 1993