

Ethanol중독 흰쥐에서 총담관결찰이 간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Peroxidase 및 Glutathione Reductase 활성에 미치는 영향*

개명대학 의과대학 생화학교실

곽춘식 · 박은미 · 문교철 · 김여희

=Abstract=

Effect of Common Bile Duct Ligation on The Liver Glutathione S-Transferase, Glutathione Peroxidase and Glutathione Reductase Activities in Ethanol Intoxicated Rats

Chun Sik Kwak, PhD; Eun Mee Park, MD; Kyo Cheol Mun, MD; You Hee Kim, MD

Department of Biochemistry, Keimyung University
School of Medicine, Taegu, Korea

This study was made to see the effect of common bile duct ligation on liver glutathione S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GSH-Px) and glutathione reductase (GR) activities in rats suffering from acute and chronic intoxication of ethanol.

For chronic intoxication of ethanol, the rats were fed 5% (v/v) ethanol instead of water for 60 days. Common bile duct of the same group of rats were ligated with ethanol constantly being fed. The rats were then killed on the 1st, 2nd, 3rd, 7th and 14th days of the procedure to measure the cytosolic, mitochondrial and microsomal GST, and cytosolic GSH-Px activities of the liver. The liver GR activities were also measured.

For acute intoxication of ethanol, 4g of ethanol were administered orally per kg of body weight as a single dose. The rats were killed at the 1.5th and 24th hours of the procedure for study. On the 14th day following common bile duct ligation, the rats were acutely intoxicated with ethanol to be killed at the 1.5th and 24th hours for measuring the activities of the above enzyme.

The rats liver cytosolic and microsomal GST activities showed slight increase in chronically ethanol intoxicated group but the mitochondrial GST activities did not increase in this group. The rats liver cytosolic, mitochondrial and microsomal GST activities showed no significant changes in acutely ethanol intoxicated groups. In terms of rats liver GR and liver cytosolic GSH-Px activities, no significant changes were shown in either chronically ethanol intoxicated groups or acutely ethanol intoxicated groups.

The groups that received common bile duct (CBD) ligation after being chronically intoxicated with ethanol showed considerable decrease in the liver cytosolic GST activities. However, the activities showed a less degree than groups of CBD ligation.

The liver mitochondrial GST activities of the CBD ligation groups showed slight decrease at the 14th day of the ligation. But the activities of the groups with the ligation after chronic ethanol intoxication showed

* 이 연구는 1988년도 개명대학원 의사 교수 연구기금으로 이루어 졌음.

significant decrease at the 2nd, 3rd, 7th and 14th days following the operation.

The liver microsomal GST activities of the CBD ligation groups showed remarkable increase at the 7th and 14th days of the ligation. But the activities showed no significant increase in the groups with the ligation following the chronic ethanol intoxication.

The groups that received CBD ligation after being chronically intoxicated with ethanol showed considerable increase at the 2nd, 3rd, 7th and 14th days following the operation in the liver GR activites. On the other hand, the liver cytosolic GSH-Px activities showed significant increase at the 14th days after the ligation. However, the activities showed a far less degree on the same time points than the groups only with the CBD ligation.

At the 1.5th and 24th hours following the acute intoxication with ethanol which was done after 14 days of the CBD ligation, the rats showed less remarkable decrease in the liver cytosolic GST and GSH-Px activities than the group only with the 14th day following CBD ligation. The liver microsomal GST and liver GR activites, however, showed considerable increase at the 1.5th and the 24th hours following the acute intoxication with ethanol which was done after 14 days of the CBD ligation. But the activities showed a less degree than group with the 14th day following CBD ligation.

At the 1.5th and 24th following the acute intoxication with ethanol which was done after 14 days of the CBD ligation, the liver mitochondrial GST activity decreased significantly, and the same was seen in the group with the 14th day following CBD ligation.

서 론

체내에서 생성되거나 섭취된 친전자성 물질^{1~3)}과 free radical^{4,5)}들은 체내에서 독작용을 유발하는 것²⁶⁸⁾으로 알려져 있다. 그러나 생체는 이러한 독성물질을 무독화하는 해독기구^{1,9~20)}를 가짐으로서 이들 물질의 독작용으로부터 보호 받고 있다.

Glutathione S-transferase (Rx: glutathione R-transferase, EC 2. 5. 1. 18, GST)는 친전자성물질을 무독화시키는 과정을 촉매하는 효소¹¹⁾의 하나로서 변이원성물질, 발암성물질, 독성 및 암리학적 활성물질과 이들의 대사산물 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질 (Rx)^{21~24)}등에 환원형 glutathione (GSH)을 포함시켜 glutathione의 thioester(R-S-G)를 형성하는 반응을 촉매하는 효소²⁵⁾이다. 이 효소는 간에 다량 분포^{26~28)}되어 있으며 간세포 내에서는 세포질, 세포핵, mitochondria 및 endoplasmic reticulum에 분포^{29~33)}되어 있다. 그리고 특히 이 효소는 급성 및 전격성 간염³⁴⁾, 간경변증³⁴⁾ 및 간암 환자³⁵⁾에서 혈중에 그 활성이 증가되고, 환쥐의 사염화탄소 중독간^{36,37)}이나 인체 간암조직²⁸⁾에서 그 활성이 감소되며 환쥐의 담즙을 체간에서도 그 활성이 변동된다³⁹⁾고 한다.

Glutathione peroxidase(glutathione: hydrogen pe-

roxidase, EC 1.11.1.9, GSH-Px)는 생체 내에서 과산화수소와 GSH로 부터 산화형 glutathione(GSSG)과 물 그리고 기타 과산화물(ROOH)과 GSH로 부터 GSSG, alcohol(ROH) 및 물을 생성하는 반응을 촉매하는 효소^{40~42)}로서 조직의 산화적 손상을 방지하고, 산소독을 해독하는 역할을 담당하는 효소^{41,43~46)}이다. 이 효소도 동물의 간에서 세포질에 다량 분포^{47,48)}되어 있으며, 인체 및 환쥐의 간암조직^{49~51)}과 환쥐의 담즙을 체간⁴⁹⁾에서 그 활성이 감소되어 있는 것으로 보고되어 있다.

Glutathione reductase(NAD(P) H: oxidized glutathione oxidoreductase, EC 1.6.4.2, GR)는 생체내에서 가역적으로 환원형 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADPH)와 GSSG로부터 산화형 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADP⁺)와 GSH를 생성하는 반응을 촉매하는 효소⁵²⁾로서 이 반응을 통하여 GST와 GSH-Px의 기질인 GSH를 공급하고 있다. 이 효소도 역시 간세포질에 주로 분포^{53~56)}되어 있으며, 간암^{56,57)}, 급만서 간염⁵⁷⁾, 폐쇄성 황달^{57,58)}에서 혈중에 그 활성이 증가되고 환쥐의 담즙을 체간에서도 그 활성이 증가되는 것으로 알려져 있다. 이상과 같이 3종의 glutathione 연관 효소는 간에서 많은 양이 합성될 뿐만 아니라 간담도질환시간과 혈중에서 그 활성이 변동된다.

주정(ethanol)을 장기간 섭취하면 지방간, 간염,

간경변증 등의 병변이 야기될 수 있으며 간세포는 심한 형태학적 변화를 받는다고 한다고 한다. 이러한 변화는 주로 mitochondria와 endoplasmic reticulum에서 관찰되며 mitochondria에서 나타나는 형태학적 변화는 종장, 변형 및 cristae의 배열문란이 있고 endoplasmic reticulum에서 나타나는 변화로서는 smooth endoplasmic reticulum의 증식이 있다. 이 외에도 Mallory 소체의 증식과 간세포 괴사를 수반하는 형태학적 변화^{64,65}도 관찰된다. 그리고 이와 같이 음주로 인한 간손상이 있을 때 간에서 일어나는 대사성 변화로서는 lactate의 생산 증가, pyruvate의 생성 감소, 지방산의 합성 촉진, 구연산화로의 활성 저하 및 지방산의 합성 감소 등^{64,65}이 잘 알려져 있다.

일반적으로 간담도질환시 음주는 해롭다고 하는데 이 사실은 음주로 인한 간질화의 유발과 간세포의 형태학적 및 생화학적 변화등으로 이루어 볼 때 당연하다고 생각된다. 그러나 아직도 그 학문적 뒷받침은 분명치 않다. 따라서 이에 대한 생화학적 연구는 계속되어야 할 것이다.

이 연구는 간담도질환시 음주의 해로움에 대한 생화학적 배경의 일단을 밝히고자 시도한 것으로서 만성 및 급성주정 중독을 시킨 흰쥐에게 담즙울체를 야기시키거나 담즙울체가 진행되는 흰쥐에게 급성 주정 중독을 시킨 후 간세포분화에서 GST, GSH-Px 및 GR의 활성도를 측정하여 그 성적을 보고코자한다.

재료 및 방법

동물 및 처치: 동물은 4주 이상 간유 조건으로 사육한 체중 280~320g이 되는 Sprague-Dawley종의 숫흰쥐를 사용하였으며 1군은 5마리로 하여 다음과 같이 총 26군으로 나누었다.

- 1) 정상군 (1군)
- 2) 가수술군: 가수술 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 죽인 군(총 5군)
- 3) 총담관결찰군: 총담관을 결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 죽인 군(총 5군)
- 4) 만성 주정 중독군: Eagon 등⁶⁶의 방법에 따라 5% (v/v) ethanol을 60일간 투여한 군(1군)
- 5) 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군: 5% (v/v) ethanol을 60일간 투여한 후 계속 ethanol을 투여하면서 가수술 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 죽인 군(총 5군)

6) 만성 주정 중독 후 총담관결찰을 한 군: 5% (v/v) ethanol을 투여하면서 총담관결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 죽인 군(총 5군)

7) 급성 주정 중독군: Lie 등⁶⁷의 방법에 따라 체중 kg당 4g의 ethanol을 투여하고 각각 1.5시간 및 24시간에 죽인 군(총 2군)

8) 총담관결찰 후 급성 주정 중독을 시킨 군: 총담관결찰 14일 후 체중 kg 당 4g의 ethanol을 투여하고 각각 1.5시간 및 24시간에 죽인 군(총 2군)

각 실험군은 개별 분리수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 진양사료주식회사의 실험동물사료를 먹게 하였다.

만성 주정 중독군, 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 및 만성 주정 중독 후 총담관결찰을 한 군에서는 물 대신 5% (v/v) ethanol용액을 자유로이 먹게 하였다⁶⁶. 그리고 급성 주정 중독은 흰쥐 체중 kg 당 4g의 ethanol이 투여되도록 25% (w/v) ethanol 용액을 조제하여 단회 경구 투여하였다⁶⁷. 총담관결찰 및 간적출술은 효소활성의 일종변동을 고려하여 일정 시간에 시행하였으며 수술 전 12시간 급식시킨 후 ether 마취 하에서 부관상태를 유지하면서 실시하였다. 총담관결찰은 총담관의 간 균위부와 원위부를 1cm 간격으로 각각 이중 결찰한 후 양 결찰부위의 중간지점에서 절단하였다. 그리고 가수술은 단순 개복술만 시행하였다.

시약: Reduced glutathione, oxidized glutathione, 2, 4-dinitrochlorobenzene(DNCB), ethylene diamine tetraacetic acid disodium salt dihydrate(EDTA), reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate tetrasodium salt type III (NADPH), glutathione reductase type III (from baker's yeast), glutathione peroxidase (from bovine erythrocytes), glutathione S-transferase (from rat liver), 단백 표준액(10g/100ml, bovine albumin) 등은 Sigma사의 제품을 사용하였으며 그 외 일반시약들은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

간적출 및 세포분획: 모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 급식시킨 후 ether 마취 하에서 복부대동맥으로부터 채혈하여 실험사시킨 후 간분액으로 cannulation하여 4°C의 0.25M sucrose액으로 퀸류하여 간에 남아 있는 혈액을 뺏어 넣 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 빙포로 깊숙히 압박하여 간에 남아 있는

sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다. 그리고 나서 이 간을 즉시 2~4°C로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합한 후 그 중 약 5g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣어 teflon glass homogenizer(Thomas사 제품, chamber clearance 0.005~0.007 inch)로 2~4°C를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스레 5회 왕복 마쇄하여 10w/v%의 간균질액을 만들었다. 그리고는 이 간균질액 일정량을 취하여 sucrose density gradient 원심분리법^{6,7)}으로 cytosol, microsome 및 mitochondria분획을 분리하였다. 즉 이 마쇄균질액을 571xg(average relative centrifugal force, 이하 생략함)에서 10분간 원심분리하여 조직의 미마쇄부분, nuclei 및 plasma membrane부분을 제거한 다음 그 상청액을 7,796 x g에서 20분간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었으며 이 과정에서 얻은 상청액을 다시 104,400 x g에서 1시간 원심분리하여 pellet과 상청액을 다시 얻었다. 이때 얻은 상청액을 cytosol분획으로 사용하였다. 그리고 이 과정에서 얻은 pellet은 0.25M sucrose액에 재현탁시키고 이 액을 10~35w/v% sucrose linear density gradient용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 88,500 x g에서 15분간 원심분리하여 얻은 원심분리관 중앙부위와 상부에 형성된 pellet을 모아서 88,500 x g에서 1시간 원심분리하여 pellet을 얻고 이 pellet을 다시 0.25M sucrose액에 재현탁시켜 88,500 x g에서 1시간 재원심분리하여 pellet을 얻었다. 이 pellet을 microsome분획으로 사용하였다. 한편 위의 7,796 x g에서 20분간 원심분리하는 과정에서 얻은 pellet을 0.25M sucrose액에 현탁시키고 이 액을 20~45w/v% sucrose linear density gradient용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 45,00 x g에서 20분간 원심분리하여 얻은 pellet을 0.25M sucrose액에 재현탁시켜 7,796 x g에서 20분간 원심분리하여 pellet을 얻었으며 이 pellet을 mitochondria분획으로 사용하였다.

위의 세포분획에서 모든 조작은 2~4°C에서 시행하였으며 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65 B ultracentrifuge였다. 그리고 sucrose density gradient용액의 제조는 gradient former(ISCO model 570)를 사용하여 세조하였다.

효소액의 조제: 분리한 microsome과 mitochondria는 단백량으로 3mg/ml가 되도록 0.25M sucrose

액으로 혼탁시켰으며 이 혼탁액을 ultrasonic disembrator(Fisher model 300)로 20±0.4 kcycle/sec의 조건으로 2분씩 5회 초음파마쇄를 하여 이 액을 GST효소액으로 사용하였으며 cytosol분획은 아무 처리를 하지 않은 상태로 GST, GR 및 GSH-Px의 효소액으로 사용하였다.

효소활성도 측정: Cytosol, microsome 및 mitochondria의 GST 활성도의 측정은 DNBConjugate를 기질로 하여 25°C에서 2분간 반응하는 동안에 생성된 GSH-DNBConjugate의 분자흡광계수($E_{340nm}^{mM} = 9.6$ mM⁻¹cm⁻¹)를 이용하여 효소활성을 산출하는 Habbig등의 법¹⁰⁾에 의하였다. 이 효소활성의 단위는 1분간에 1mg의 단백이 반응하여 생성한 conjugated DNB를 nmol로 나타내었다.

세포질 GR의 활성도 측정은 GSSG와 NADPH를 기질로 하여 37°C에서 2분간 반응시키는 동안에 NADPH가 NADP⁺로 산화되는 정도를 340nm 파장에서 흡광도를 측정하여 효소활성도를 산출하는 Goldberg와 Spooner 방법¹¹⁾에 의하였다. 이 효소활성의 단위는 1분간에 1mg의 단백이 반응하여 산화된 NADPH를 pmol로 나타내었다.

세포질 GSH-Px의 활성도 측정은 GSH, H₂O₂ 및 NADPH를 기질로 사용, GR를 촉매로 해서 GSH-Px효소 시료와 함께 25°C에서 반응하는 동안에 GSH는 H₂O₂에 의해 GSSG로 산화되고 이것이 다시 GR과 NADPH에 의해 GSH로 환원될 때 NADPH는 산화되는데 이때 NADPH가 NADP⁺로 산화되는 정도를 340nm에서 time scan을 하여 NADPH의 분자흡광계수($E_{340nm}^{mM} = 6.22$ mM⁻¹cm⁻¹)를 이용하여 효소의 활성을 산출하는 Paglia와 Valentine의 법¹²⁾에 의하였다. 이 효소활성의 단위는 1분간에 1mg의 단백이 반응하여 산화된 NADPH를 n mol로 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소활성도 측정법들의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 정제 효소들을 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 이 실험에서 각 효소활성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer(Varien, Cary 210)였다.

단백 정량: 효소액 중의 단백 정량은 0.25N perchloric acid와 methanol:ether 혼합액(3:1)으로 단백을 정제하는 Greenberg와 Rothstein법¹³⁾으로 효소액

증의 단백을 정제한 다음 biuret법¹¹으로 정량하였다. 언어진 각종 성질들의 평균치 중 상호비교가 필요한 경우는 Student의 t-검정법¹²에 의하여 검정하였다.

성 적

만성 주정 중독 환쥐에서 총담관결찰이 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 GST 활성도에 미치는 영향 : 만성 주정 중독을 시킨 환쥐에게 계속 5% (v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 걸쳤을 때의 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 GST 활성도의 변화는 각각 표 1, 2 및 3과 같다. 간 cytosol의 GST 활성도는 만성 주정 중독군은 즉 5% (v/v) ethanol을 60일간 먹였을 때는 정상군에 비해

약간 증가되었으나 통계학적 의의는 없었다. 그러나 만성 주정 중독 후 계속 5% (v/v) ethanol을 먹이면서 가수술을 했을 때는 가수술만 한 군에 비해 가수술 후 2일째부터 이후 14일까지 계속 의의있는 활성 증가를 나타내었다. 그리고 총담관결찰군의 간 cytosol의 GST는 가수술군에 비해 총담관결찰 후 3일부터 14일까지 의의있는 활성 감소를 나타내었다. 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서 간 cytosol의 GST는 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비해 실험의 전기간을 통해서 의의있는 활성 감소를 나타내었다. 그러나 그 감소의 정도는 총담관결찰만 한 군보다는 현저하지 않았다(표 1).

간의 mitochondria 분획의 GST 활성도는 만성 주정 중독군이나 만성 주정 중독 후 가수술한 군 모두 별다른 변동을 나타내지 않았다. 총담관결찰군에서는

Table 1. Effect of common bile duct ligation on liver cytosolic glutathione S-transferase (GST) activities in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s) following operation	GST activities (n mol conjugated dinitrochlorobenzene mg protein ⁻¹ min ⁻¹)			
	(Normal: 169.5±26.4, Ethanol: 202.4±27.5)			
	Sham	CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+CBDL
1	170.2±26.8	162.5±28.2	207.6±32.4	152.4±28.4 ^a
2	169.3±27.4	146.5±30.1	237.0±36.7 ^b	156.4±30.6 ^c
3	171.1±27.8	77.2±19.8 ^c	241.2±33.8 ^b	184.2±38.2 ^c
7	170.5±26.4	72.6±16.6 ^c	261.9±40.1 ^b	198.0±36.5 ^{di}
14	169.8±27.2	59.6±17.4 ^c	292.3±38.6 ^b	146.4±27.9 ^{fi}

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

a;p<0.05 vs. Sham, b;p<0.01 vs. Sham, c;p<0.001 vs. Sham, d;p<0.05 vs. Ethanol+Sham, e;p<0.01 vs. Ethanol+Sham, f;p<0.001 vs. Ethanol+Sham, i;p<0.001 vs. CBDL.

Table 2. Effect of common bile duct ligation on liver mitochondrial glutathione S-transferase (GST) activities in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s) following operation	GST activities (n mol conjugated dinitrochlorobenzene mg protein ⁻¹ min ⁻¹)			
	(Normal: 12.8±3.8, Ethanol: 13.6±4.1)			
	Sham	CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+CBDL
1	13.6±4.5	13.9±5.8	13.3±3.8	12.8±3.6
2	13.4±4.6	13.6±6.1	13.8±3.6	9.1±2.9 ^d
3	13.9±4.1	13.7±4.2	13.6±3.7	9.0±2.6 ^d
7	13.2±3.9	12.4±4.8	13.9±3.1	9.6±2.7 ^d
14	12.9±4.0	8.1±2.9	15.2±4.8	9.2±3.1 ^d

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

d;p<0.05 vs. Ethanol+Sham

총담관결찰 후 14일에 가수술군에 비해 그 활성이 약간 감소되었으나 통계학적인 의의는 없었다. 그러나 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서 그 활성도는 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비해 총담관결찰 후 2일부터 14일까지 의의있는 활성 감소를 나타내었다(표 2).

간의 microsome분획의 GST 활성도는 만성 주정 중독군이나 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군이 모두 실험의 전기간을 통해 약간 증가되었으나 통계학적 의의는 없었다. 총담관결찰군에서는 총담관결찰 후 7일 및 14일에 그 활성이 의의있는 증가를 나타내었다. 그러나 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한

군에서는 가수술군이나 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비해서 실험의 전기간을 통해 의의있는 활성 증가를 나타내지 않았다(표 3).

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 GST 활성도에 미치는 영향 : 흰쥐에게 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때의 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 GST 활성도의 변동은 표 4와 같다. 급성 주정 중독만을 시킨 군들에서 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome분획의 GST 활성도는 별다른 변동을 나타내지 않았다. 그러나 총

Table 3. Effect of common bile duct ligation on liver microsomal glutathione S-transferase (GST) activities in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s) following operation	GST activities (n mol conjugated dinitrochlorobenzene mg protein ⁻¹ min ⁻¹)			
	Sham	(Normal; 17.2±4.5, Ethanol; 21.8±4.4)		
		CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+CBDL
1	17.6±4.1	18.3±5.7	22.6±4.8	20.2±3.6
2	17.4±4.4	19.0±6.0	22.3±4.6	22.3±4.4
3	17.0±4.7	20.4±5.4	21.2±5.4	21.4±4.7
7	16.9±5.0	31.8±5.3 ^b	21.1±5.3	23.4±5.2
14	17.1±4.7	32.6±6.9 ^b	22.5±4.2	24.2±4.2

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

b;p<0.01 vs. Sham

Table 4. Effect of common bile duct ligation on liver cytosolic, mitochondrial and microsomal glutathione S-transferase (GST) activities in acute ethanol intoxicated rats

GST activities (n mol conjugated dinitrochlorobenzene mg protein ⁻¹ min ⁻¹)					
Normal	CBDL 14days	Ethanol 1.5hrs	Ethanol 1.5hrs + CBDL	Ethanol 24hrs	Ethanol 24hrs + CBDL
169.5±26.4	59.6±17.8 ^j	176.3±28.5	(Cytosol) 88.5±20.2 ^{j,p,u}	168.5±21.7	74.6±22.6 ^{j,s}
12.8± 3.8	8.1± 2.9	13.9± 3.6	(Mitochondria) 8.5± 3.1 ^u	14.2± 3.5	7.7± 4.3 ^{j,q}
17.2± 4.5	32.6± 6.9 ^k	17.7± 4.8	(Microsomes) 26.9± 7.1 ^u	18.9± 4.3	25.6± 5.8 ^j

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

j:p<0.05 vs. Normal, k:p<0.01 vs. Normal, l:p<0.001 vs. Normal, n:p<0.05 vs. Ethanol 1.5hrs. p:p<0.01 vs. Ethanol 1.5hrs, q:p<0.05 vs. Ethanol 24hrs, s:p<0.001 vs. Ethanol 24hrs. u:p<0.05 vs. CBDL 14days

담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시키고 1.5시간 및 24시간 후에 희생시킨 군에서 간의 cytosol분획의 GST 활성도는 정상군이나 급성 주정 중독 후 1.5시간 및 24시간에 희생시킨 군들에 비해 현저한 활성 감소를 타나내었다. 그러나 그 활성 감소의 정도는 총 담관만 결찰한 후 14일에 희생시킨 군보다 현저하지 않았다.

총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시키고 1.5시간에 희생시킨 군에서 간 mitochondria분획의 GST 활성도는 정상군이나 급성 주정 중독 후 1.5시간에 희생시킨 군에 비해 약간 감소되었으나 통계학적 의의는 없었다.

그리고 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시키고 24시간에 희생시킨 군에서 간의 mitochondria 분획의 GST활성도는 정상군이나 급성 주정 중독 후 24시간에 희생시킨 군에 비해 현저한 활성 감소를 나타내었다. 그러나 그 성격을 총담관결찰만 한 후 14일에 희생시킨 군과 비교할 때 차이가 없었다. 반면에 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시키고 1.5시간 및 24시간에 희생시킨 군에서 간 microsome분획의 GST 활성도는 정상군이나 급성 주정 중독 후 1.5시간 및 24시간에 희생시킨 군에 비해 훨씬 증가되었다. 그러나 그 활성 증가의 정도는 총담관 결찰만 한 후 14일에 희생시킨 군보다는 현저하지 않았다.

만성 주정 중독 홍쥐에서 총담관결찰이 간의 GR 활성도에 미치는 영향: 만성 주정 중독을 시킨 홍쥐에서 계속 5% (v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때 간의 GR 활성도의 변동은 표 5와 같다.

Table 5. Effect of common bile duct ligation on liver glutathione reductase (GR) activities in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s) following operation	GR activities (n mol NADPH oxidized mg protein ⁻¹ min ⁻¹)			
	Sham	(Normal; 885±146, Ethanol; 826±148)		
		CBDL	Ethanol + Sham	Ethanol + CBDL
1	896±162	1.032±152	828±151	864±163
2	890±153	1.262±178 ^b	826±146	1.055±177
3	887±158	1.346±189 ^b	819±142	1.072±154 ^{ab}
7	884±149	1.408±183 ^b	821±140	1.097±169 ^{ca}
14	886±147	1.562±191 ^c	830±147	966±150 ^c

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

b:p<0.01 vs. Sham, c:p<0.001 vs. Sham, d:p<0.05 vs. Ethanol+Sham, g:p<0.05 vs. CBDL, i:p<0.001 vs. CBDL

만성 주정 중독군이나 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에서는 간의 GR 활성에는 별다른 변동이 없었다. 총담관결찰군에서 간의 GR 활성도는 가수술군에 비해 총담관결찰 후 2일부터 14일까지 의의있는 활성 증가를 나타내었다. 그리고 만성 주정 중독 후 총담 관결찰을 한 군에서도 간의 GR 활성도는 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비해 역시 총담관결찰 후 2일부터 14일까지 활성증가를 나타내었다. 그러나 그 증가의 정도는 총담관결찰만 한 군보다는 현저하지 않았다.

총담관을 결찰한 홍쥐에서 급성 주정 중독이 간 cytosol의 GR 활성도에 미치는 영향: 홍쥐에게 총 담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때 간 cytosol의 GR 활성도의 변동은 표 6과 같다. 급성 주정 중독만 시킨 군들에서 간 cytosol의 GR 활성도는 별다른 변동이 없었다. 그러나 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시키고 1.5시간 및 24시간 후에 희생시킨 군에서 간 cytosol의 GR 활성도는 정상군이나 급성 주정 중독 후 1.5시간 및 24시간에서 희 생시킨 군에 비해 현저한 증가를 나타내었다. 그러나 그 활성증가의 정도는 총담관결찰 후 14일에 희생 시킨 군보다는 현저하지 않았다.

만성 주정 중독 홍쥐에서 총담관결찰이 간 cytosol의 GSH-Px 활성도에 미치는 영향: 만성 주정 중독을 시킨 홍쥐에게 계속 5% (v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때의 간 cytosol의 GSH-Px 활성도의 변동은 표 7과 같다. 간 cytosol의 GSH-Px 활성도는 만성 주정 중독군이나 만성 주정

Table 6. Effect of common bile duct ligation on liver glutathione reductase (GR) activities in acute ethanol intoxicated rats

GR activities (n mol NADPH oxidized mg protein ⁻¹ min ⁻¹)					
Normal	CBDL 14days	Ethanol 1.5hrs	Ethanol 1.5hrs + CBDL	Ethanol 24hrs	Ethanol 24hrs + CBDL
885±146	1,562±191 ^b	788±152	1,197±172 ^{a,b}	843±158	1,206±166 ^{a,c}

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

j:p<0.05 vs. Normal, l:p<0.001 vs. Normal, o:p<0.001 vs. Ethanol 1.5hrs, r:p<0.01 vs. Ethanol 24hrs, u:p<0.05 vs. CBDL 14days

Table 7. Effect of common bile duct ligation on liver cytosolic glutathione peroxidase (GSH-Px) in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s) following operation	GSH-Px activities (n mol NADPH oxidized mg protein ⁻¹ min ⁻¹)			
	Sham	(Normal; 14.2±2.5, Ethanol; 15.1±2.6) CBDL	Ethanol + Sham	Ethanol + CBDL
1	15.2±2.5	14.8±2.7	15.0±2.5	16.2±3.1
2	15.0±2.9	15.3±2.5	16.3±2.9	15.7±2.7
3	14.9±2.4	13.8±2.9	15.9±2.8	14.8±2.4
7	14.6±2.7	11.3±2.1	15.7±2.4	12.1±2.6
14	14.5±2.3	8.4±3.2 ^b	16.1±3.0	9.6±2.9 ^c

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

b:p<0.01 vs. Sham, e:p<0.01 vs. Ethanol+Sham

Table 8. Effect of common bile duct ligation on liver cytosolic glutathione peroxidase (GSH-Px) in acute ethanol intoxicated rats

GSH-Px activities (n mol NADPH oxidized mg protein ⁻¹ min ⁻¹)					
Normal	CBDL 14days	Ethanol 1.5hrs	Ethanol 1.5hrs + CBDL	Ethanol 24hrs	Ethanol 24hrs + CBDL
14.2±2.5	8.4±3.2 ^b	14.8±2.8	10.3±2.7 ^a	15.3±3.4	10.6±2.9 ^a

All values are expressed as mean±SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig. 1.

j:p<0.05 vs. Normal, n:p<0.05 vs. Ethanol 1.5hrs, q:p<0.05 vs. Ethanol 24hrs

중독 후 가수술을 한 군 모두가 별다른 변동을 나타내지 않았다. 총담관결찰군에서 간 cytosol의 GSH-Px 활성도는 가수술군에 비해 총담관결찰 후 14일에 의의있는 활성 감소를 나타내었다. 마찬가지로 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서도 그 활성도는 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군에 비해 총담관결찰 후 14일에 의의있는 활성 감소를 나타내었다. 그리고 그 활성의 감소 정도는 총담관결찰만 한 군보다 현

저하지 않았다.

총담관을 결찰한 환자에서 급성 주정 중독이 간 cytosol의 GSH-Px 활성도에 미치는 영향: 환자에게 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때의 간 cytosol의 GSH-Px 활성도의 변동은 표 8와 같다. 급성 주정 중독만을 시킨 군들에서 간세포질의 GSH-Px 활성도는 별다른 변동을 나타내지 않았다. 그러나

총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시키고 1.5시간 및 24시간 후에 희생시킨 군에서 간 cytosol의 GSH-Px의 활성도는 정상군이나 급성 주정 중독 후 1.5시간 및 24시간에 희생시킨 군에 비해 의의있는 감소를 나타내었다. 그러나 그 활성 감소의 정도는 총담관 결찰만 한 후 14일에 희생시킨 군보다 현저하지 않았다.

고 찰

간조직에 담즙울체가 야기되는 경우는 원발성 담즙성 간경변증, 담관염, 담즙울체형 간염, 선천성 담도폐쇄, 종양이나 담석에 의한 담도폐쇄 등⁷³⁾을 들 수 있다. 이와 같은 간담도질환으로 간에 담즙울체가 야기되면 간조직은 괴사, 담도 증식, 섬유화 및 경화성 변화 등 형태학적 변화^{74,75)}가 초래될 뿐만 아니라 심한 간세포의 기능장애^{73,76)}도 나타난다.

흰쥐의 총담관을 결찰하면 간에 담즙울체가 야기되며 시간이 경과함에 따라 담즙울체간은 괴사, 담도증식, 섬유화 및 경화성 변화^{74,75)}가 나타나며 동시에 간기능도 장애가 초래^{77~86)}되는 것으로 알려져 있다. 따라서 간담도질환의 생화학적 연구를 위한 실험적 model을 만들기 위한 한가지 방법이 바로 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담즙울체간을 만드는 것이다^{78~86)}.

담즙울체로 간의 배설기능이 저하되면 간세포의 세포막과 세포소기관막에 존재하는 alkaline phosphatase^{77~79, 84)}, 5'-nucleotidase^{82,84)}, γ -glutamyl transpeptidase^{82,84)} 및 leucine aminopeptidase^{80,85)}들은 그 활성이 증가되며 세포질에 존재하는 alanine aminotransferase⁸³⁾, aspartate aminotransferase⁸²⁾ 및 lactate dehydrogenase⁸³⁾ 등은 그 활성이 감소한다고 한다. 이와 같이 담즙울체간에서 그 활성이 증가되는 효소들은 담즙울체시 주로 그 활성이 증가^{78~85)}되며, 담즙울체간에서 그 활성이 감소되는 효소들은 주로 세포막의 투과성 항진으로 간 외로 누출되어 나타난 결과^{82,83)}라고 한다. 또한 담즙울체가 야기되면 xenobiotic biotransformation과정을 촉매하는 효소인 monoamine oxidase⁸¹⁾, GST 및 GSH-Px⁸⁹⁾ 등의 활성도가 증가된다는 보고들도 있다.

주정은 술의 주성분이며, 술은 인류 역사와 더불어 옛날부터 기호음료로 널리 복용되어 왔다. 그래에 와서 술의 소비량이 늘어남에 따라서 주정으로 인해 야기되는 여러 질병들이 관심의 대상으로 부상했으며 그 중에서 특히 간에 미치는 영향이 관심을 모으고

있다.

체내에 흡수된 주정은 간에서 대부분 대사되며 이 대사과정은 ethanol이 acetaldehyde로 산화되고 다시 acetate로 산화되어 이용^{87,88)}되는 것이다. 특히 이러한 대사과정에서 생성된 acetaldehyde는 간세포의 세포막 손상과 세포 자체의 괴사를 초래하는 것⁸⁰⁾으로 알려져 있다.

GST 및 GSH-Px는 xenobiotic biotransformation 과정을 촉매하는 효소로서 간조직에서 많은 양이 합성되며 간담도 질환이 있을 때, 특히 간조직에 담즙울체가 야기되었을 때 혈중과 간조직에서 그 활성이 변동되는 것^{34,39)}으로 알려져 있다. 그리고 이들 효소는 간에서 그 합성이 왕성할 뿐 아니라 간담도 질환이 있을 때 그 활성이 변동되는 만큼, 주정 중독으로 간손상이 초래되면 간에서 그 활성이 변동될 수 있을 것이다. 또한 담즙울체가 야기될 때 주정 중독이 수반되면 간손상은 증폭되면서 간조직에서의 활성변동은 더욱 커질 것으로 생각된다.

김등⁸⁹⁾은 흰쥐에게 급성 및 만성 주정 중독을 시키고 간에 담즙울체를 야기시켰을 때 간조직의 alanine aminotransferase가 혈중으로 다량 누출되었다고 하였으며, 이 성적은 담즙울체로 인한 간손상이 주정 중독으로 증폭되어 나타난 결과라고 하였다. 그러므로 이 보고는 위의 사실을 한층 뒷받침해주는 자료라 할 수 있다.

이 실험에서 흰쥐에게 만성 주정 중독을 시켰을 때 간세포의 cytosol과 microsome분획에서 GST 활성도가 약간 증가되었다. 그러나 mitochondria분획의 GST 활성도는 변동을 나타내지 않았다. 또한 만성 주정 중독군에 간세포의 cytosol 분획의 GR과 GSH-Px, 그리고 급성 주정 중독군에서 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 GST, cytosol 분획의 GR 및 GSH-Px 활성도는 변동이 없었다.

이들 성적을 볼 때 만성 주정 중독시에는 cytosol과 endoplasmic reticulum의 GST만 주로 그 합성이 유도되거나 촉매효율이 증가되는 것이라 생각된다. 이 실험에서 흰쥐에게 만성 주정 중독을 시킨 후 총담관을 결찰하여 간에 담즙울체를 야기시켰을 때 간세포 cytosol의 GST 활성도는 감소되었다. 그러나 그 감소의 정도는 총담관결찰만 한 군에 비해서 현저하지 않았다. 그리고 이 군에서 mitochondria분획에서의 GST 활성도는 총담관결찰만 한 군에 비해 초기에 감소를 나타내었다. 한편 microsome 분획의 GST 활성도는 총담관결찰군이 총담관결찰 후 7일

및 14일에 현저한 증가를 나타내는 것에 비해 만성 주정 중독 후 총담관결찰만 했을 때는 별다른 변동은 나타내지 않았다.

이들 성적으로 보아 간의 endoplasmic reticulum의 GST는 만성 주정 중독 후 간에 담즙울체가 야기되었을 때는 만성 주정 중독만 시키거나 총담관결찰만 시켰을 때와는 달리 그 합성 또는 촉매효율이 감소되며 아울러 세포질의 유출이 증가되는 효소가 아닌가 생각된다. 그리고 간의 mitochondria분획의 GST도 만성 주정 중독 후 담즙울체가 야기되면 훨씬 많은 양이 세포질로 유출되는 것으로 생각된다. 이 실험에서 흰쥐에게 만성 주정 중독을 시킨 후 총담관을 결찰하였을 때 간세포 cytosol분획의 GR 활성도는 총담관결찰 후 2일부터 14일까지 증가를 나타내었다. 그러나 그 증가의 정도는 총담관결찰군보다 현저하지 않았다. 한편 만성 주정 중독 후 총담관결찰을 한 군에서 간세포 cytosol 분획의 GSH-Px 활성도는 총담관결찰 후 14일에 의의있는 감소를 나타내었다. 그러나 그 감소의 정도는 총담관결찰군보다 현저하지 않았다. 이들 성적을 보면 간세포 cytosol분획의 GR 역시 만성 주정 중독 후 간에 담즙울체를 야기시키면 총담관결찰만 했을 때보다는 그 합성이나 촉매효율이 감소되는 효소가 아닌가 생각된다. 반대로 간의 GSH-Px는 만성 주정 중독 후 간에 담즙울체를 야기시키면 그 합성이나 촉매효율이 증가되는 효소라 생각된다. 그러나 합성 증가가 주된 것인지 촉매효율 증가가 주된 것인지는 분명치 않다.

이 실험에서 흰쥐에게 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시키면 간세포 cytosol 분획의 GST와 GSH-Px의 활성도는 현저한 감소를 나타내었다. 그러나 그 활성의 증가 정도는 총담관결찰 후 14일에 희생시킨 군보다 현저하지 않았다. 간세포 mitochondria분획의 GST 활성도는 양군에서 비슷한 감소를 나타내었다. 이 성적도 같은 맥락에서 보면 간세포 cytosol분획의 GST와 GSH-Px는 간에 심한 담즙울체를 야기시킨 후 급성 주정 중독을 시켰을 때는 담즙울체만 야기시켰을 때보다 주로 그 합성이 증가되는 것으로 보인다. 반대로 간세포 endoplasmic reticulum분획의 GST와 cytosol 분획의 GR는 cytosol분획의 GST와 GSH-Px와는 달리

담즙울체를 야기시키고 급성 주정 중독을 시켰을 때는 담즙울체만 야기시켰을 때보다 그 합성이나 촉매효율이 감소되는 효소라 생각된다. 간세포 mitochondria분획의 GST는 급성 주정 중독에 대한 영향을 받지 않은 것으로 생각된다.

이상 이 실험 성적에 대한 추론을 요약해 보면 다음과 같다고 할 수 있다. 즉 담즙울체가 있을 때 급성 및 만성 주정 중독을 시키면 간세포 endoplasmic reticulum분획의 GST는 담즙울체만 있을 때보다 그 합성이나 촉매효율이 감소되며 아울러 세포질 내의 유출이 증가되는 것 같았다. 그리고 cytosol분획의 GR도 그 합성과 촉매효율이 감소되는 것 같았다. 반면에 간세포 cytosol분획의 GST와 GSH-Px는 오히려 그 합성이나 촉매효율이 증가되는 것 같았다. 한편 간세포 mitochondria분획의 GST는 만성 주정 중독시 담즙울체가 야기되었을 때는 세포질내 유출이 증가되는 것 같았으나 담즙울체시 급성 주정 중독이 야기되었을 때는 별다른 영향을 받지 않은 것 같았다. 그리고 급성 주정 중독만 시켰을 때는 이 실험에서 관찰한 모든 효소에서 그 활성에는 별다른 변동이 없었으나 만성 주정 중독시에만 endoplasmic reticulum분획의 GST가 그 합성이나 촉매효율이 증가되는 것 같았다.

그리고 이상 이 실험의 성적과 추론만으로는 급성 및 만성 주정 중독시 담즙울체가 야기되면 이들 효소의 활성이 담즙울체만 야기될 때와는 다르게 변동된다는 사실만을 알 수 있을 뿐이며, 또한 이 조건에서 얻어진 성적만으로는 이들 효소의 활성 증감이 효소 합성 증감에 의한 것인지 촉매효율 증감에 의한 것인지도 분명치 않다. 따라서 이를 규명하기 위해서는 앞으로 조건을 달리하는 실험을 계속하여 연구해야 하겠다.

요 악

급성 및 만성 주정 중독 흰쥐에서 담즙울체가 간의 GST, GR 및 GSH-Px 활성 변동에 어떤 영향을 미치는지를 알아 보기 위하여 이 실험을 하였다. 만성 주정 중독은 흰쥐에게 물 대신 5% (v/v) ethanol을 60일간 섭취시킴으로써 야기하였으며, 60일간 ethanol을 섭취한 흰쥐의 총담관을 결찰한 후 ethanol을 계속 섭취시킴에서 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일 후 흰쥐를 희생시켜 간세포 cytosol, mitochondria 및 microsome분획에서 GST 활성도를 측정하였으며 아울러

GSH-Px의 활성도를 측정하였다.

급성 주정 중독은 흰쥐 체중 kg당 4g의 ethanol을 단회 경구투여한 후 1.5시간 및 24시간에 희생시켜 위와 동일한 간세포분획에서 이를 효소의 활성도를 측정하였다. 또한 총담관결찰 후 14일 경과한 흰쥐에게 급성 주정 중독을 시킨 후 1.5시간 및 24시간에 희생시켜 실험에 제공하였다.

흰쥐에게 만성 주정 중독을 시켰을 때 간세포 cytosol과 microsome분획의 GST 활성도는 약간 증가되었다. 그러나 mitochondria분획의 GST 활성도는 변동을 나타내지 않았다. 또한 만성 주정 중독군에서 간의 GR과 간세포 cytosol분획의 GSH-Px의 활성도와 급성 주정 중독군에서 간세포 cytosol, mitochondria 및 microsome분획의 GST, 간의 GR 및 간세포 cytosol분획의 GSH-Px 활성도 등도 변동이 없었다.

만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서 간세포 cytosol분획의 GST 활성도는 실험의 전기간을 통해 의의있는 활성 감소를 나타내었다. 그러나 그 감소의 정도는 총담관결찰군보다 현저하지 않았다. 그리고 간세포 mitochondria분획에서 GST 활성도는 총담관 결찰군이 총담관결찰 후 14일에 약간 감소되었으나 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서는 2일부터 14일까지 의의있는 감소를 나타내었다. 또한 microsome분획의 GST 활성도는 총담관결찰군에서는 총담관결찰 후 7일 및 14일에 현저한 증가를 나타내었다. 그러나 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서는 실험의 전기간을 통해 증가를 보이지 않았다.

만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서 간의 GR 활성도는 총담관결찰 후 2일부터 14일까지 증가를 나타내었으나 그 증가 정도는 총담관결찰군보다 현저하지 않았다. 반면에 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서 GSH-Px 활성도는 총담관결찰 후 14일에 의의있는 감소를 나타내었다. 그러나 그 감소의 정도는 총담관결찰군보다 현저하지 않았다.

총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군에서 간세포 cytosol분획의 GST와 GSH-Px의 활성도는 현저한 감소를 나타내었다. 그러나 그 활성 감소의 정도는 총담관결찰만 하고 14일에 희생시킨 군보다는 현저하지 않았다.

총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군에서 간세포 microsome분획의 GST와 간의 GR 활성도는 현저한 증가를 나타내었다. 그러나 그 활성 증가의 정도는 총담관결찰만 한 후 14일에 희생시킨 군보다

현저하지 않았다.

총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군에서 간세포 mitochondria분획의 GST 활성도는 총담관결찰만 한 후 14일에 희생시킨 군과 마찬가지로 의의 있는 활성 감소를 나타내었다.

이상 실험결과로 보아 급성 및 만성 주정중독시 간에 담즙율체가 야기되면 endoplasmic reticulum의 GST와 세포질의 GR활성도가 간에 담즙율체만 야기시켰을 때 보다 그 활성이 감소되는것으로 보이며 반면에 간의 세포질 분획의 GST와 GSH-Px 활성도는 증가되는 것 같았다. 그리고 만성주정중독시에는 endoplasmic reticulum의 GST활성도만이 약간 증가되는 것 같았다.

참 고 문 헌

1. Jakoby WB: The glutathione S-transferase: A group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol* 1978; 46: 383-414.
2. Trush AM, Mimnaugh EG, Gram TE: Activation of pharmacologic agents to radical intermediates: Implications for the role of free radicals in drug action and toxicity. *Biochem Pharmacol* 1982; 31: 3335-3346.
3. Croci T, Williams GM: Activities of several phase I and pahse II xenobiotic biotransformation enzymes in cultured hepatocytes from male and female rats. *Biochem Pharmacol* 1985; 34: 3029-3035.
4. Beauchamp C, Fridovich I: A mechanism for the production of ethylene from methional: The generation of the hydroxyl radical by xanthine oxidase. *J Biol Chem* 1979; 245: 4641-4646.
5. Simon RH, Scoggin CM, Patterson D: Hydrogen peroxide causes the fetal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J Biol Chem* 1981; 266: 7181-7186.
6. Freeman BA, Crapo JD: Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.
7. Halliwell B: Biochemical mechanism accounting for the toxic action of oxygen of living organisms: The key role of superoxide dismutase. *Cell Biol Int Rep* 1978; 2: 113-128.
8. Susan MD, Barry LF: Normobaric oxygen toxicity of the lung. *N Engl J Med* 1989; 303: 76-86.
9. Mc Cord JM, Fridovich I: Superoxide. An enzy-

- matic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 1967; 224: 6049—6055.
10. Marklund S, Marklund G: Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 1974; 47: 469—474.
11. Fried R: Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide dismutase. *Biochemie* 1975; 57: 657—660.
12. Free JA: superoxide, superoxide dismutase and oxygen toxicity. in Spiro JG(ed): *Metal Ion Activation of Dioxygen*, New York, John Wiley & Sons Inc. 1980, pp 209—237.
13. Oh SM, Son YS, Choi KS, et al: Effect of oxygen-derived free radicals on brain microsomal $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ ATPase activity. *Korean J Pharmacol* 1982; 18: 1—14.
14. Little C, O'Brien PJ: An intracellular GSH-peroxidase with lipid peroxide substrate. *Biochem Biophys Res Commun* 1968; 31: 145—150.
15. Floné L, Günzler WA, Schock HH: Glutathione peroxidase: A selenoenzyme. *FEBS Lett* 1973; 32: 132—134.
16. Lawrence RA, Burk RF: Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71: 952—958.
17. Boyland E, Chasseaud LF: The role of glutathione and glutathione S-transferase in mercapturic acid biosynthesis. *Adv Enzymol* 1969; 32: 173—219.
18. Chasseaud LF: Distribution of enzymes that catalyze reactions of glutathione with α , β -unsaturated compounds. *Biochem J* 1973; 131: 756—769.
19. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB: Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249: 7130—7139.
20. Jakoby WB, Bend JR, Caldwell J: Metabolic Basis of Detoxication. Metabolism of Functional Groups, New York, Academic Press, 1982, pp 5—317.
21. Litwack G, Ketterer B, Arias IM: Ligandin: A hepatic protein which binds steroids and bilirubin, carcinogens and a number of exogenous organic anions. *Nature* 1971; 234: 466—467.
22. Takikawa H, Sugiyama Y, Kaplowitz N: Binding of bile acid by glutathione S-transferase from rat liver. *J Lipid Res* 1986; 27: 955—966.
23. Wolkoff AW, Goresky CA, Sellin J, et al: Role of ligandin in transfer of bilirubin from plasma into liver. *Am J Physiol* 1979; 236: 638—648.
24. Kamisaka K, Habig WH, Ketley JM, et al: Multiple forms of human glutathione S-transferase and their affinity for bilirubin. *Eur J Biochem* 1975; 60: 153—161.
25. Kim BK: Enzyme Nomenclature, IUB, New York, Academic Press, 1979, pp 186—187.
26. Trip JAJ, Van Dam J, Tepper T, et al: A simple procedure for the purification of porcine ligandin (Y-protein). *FEBS Lett* 1974; 45: 6—10.
27. Grahnén A, Sjöholm I: The preparation of ligandin with glutathione S-transferase activity from porcine liver cytosol by affinity chromatography on bromosulphophthalein sepharose. *Eur J Biochem* 1977; 80: 573—580.
28. Hayes JD, Mantle TJ: Inhibition of hepatic and extrahepatic glutathione S-transferases by primary and secondary bile acids. *Biochem J* 1986; 233: 407—415.
29. Friedberg T, Benthey P, Stasiecki P, et al: The identification, solubilization and characterization of microsome-associated glutathione S-transferase. *J Biol Chem* 1968; 254: 12028—12033.
30. Bannikov GA, Tchipysheva TA: Ligandin in steroidogenically active cells of rat gonads. *Br J Cancer* 1978; 38: 350—354.
31. Wahlländer A, Soboll S, Sies H: Hepatic mitochondrial and cytosolic glutathione content and the subcellular distribution of GSH S-transferase. *FEBS Lett* 1979; 97: 138—140.
32. Lee CYG, McKinney JD: Identity of microsomal glutathione S-transferase. *Mole Cell Biochem* 1982; 48: 91—96.
33. Ryle CM, Mantle TJ: Studies on the glutathione S-transferase activity associated with rat liver mitochondria. *Biochem J* 1984; 222: 553—556.
34. Tsuru M, Kamisaka K, Hirano M, et al: Quantification of human serum ligandin by radioimmuno assay. *Clin Chim Acta* 1978; 84: 251—253.
35. Ohmi N, Arias IM: Ligandinemia in primary liver cancer in rat and man. *Hepatology* 1981; 1: 316—318.
36. Adachi Y, Horii K, Suwa M, et al: Serum glutathione S-transferase in experimental liver damage in rats. *Gastroenterologia (Jpn)* 1981; 16: 129—133.
37. Harisch G, Meyer W: Studies on tissue distribution of glutathione and on activities of glutathione related enzymes after carbon tetrachloride indu-

- ced liver injury. *Res Commun Chem Pharmacol* 1985; 47: 399-414.
38. Sherman M, Campbell JAH, Titmuss SA, et al: Glutathione S-transferase in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1983; 3: 170-176.
39. 권용진: 흰쥐 담즙율제산의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Reductase 및 Glutathione Peroxidase의 활성치. 계명대학교 대학원 석사학위논문 1988, pp 1-38.
40. Pierce S, Tappel L: Glutathione peroxidase activities from rat liver. *Biochim Biophys Acta* 1978; 523: 27-36.
41. Chance B, Sies H, Boveris A: Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979; 59: 527-605.
42. Kim BK: Enzyme Nomenclature, IUB, New York, Academic Press, 1979, pp 106-107.
43. Chow CK, Tappel AL: an enzymatic protective mechanism against lipid peroxidation damage to lungs of ozone exposed rats. *Lipids* 1972; 7: 518-524.
44. Chow CK, Tappel AL: Activities of pentose shunt and glycolytic enzymes in lungs of ozone exposed rats. *Arch Environ Health* 1973; 26: 205-208.
45. Player TJ, Mills DL, Horton AA: Age dependent changes in rat liver microsomal and mitochondrial NADPH dependent lipid peroxidation. *Biochem Biophys Res commun* 1977; 78: 1397-1402.
46. Wendel A: glutathione peroxidase, in Jakoby WB (ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*, Vol 1, New York, Academic Press, 1980, pp 333-348.
47. Nakamura W, Hosoda S, Hayashi K: Purification and properties of rat liver glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta* 1974; 358: 251-261.
48. Stults FH, Forstrom JW, chiu DTY, et al: Rat liver glutathione peroxidase: Purification and study of multiple forms. *Arch Biochem Biophys* 1977; 183: 490-497.
49. Casaril M, Gabrielli GB, Dusi S, et al: Decreased activity of liver glutathione peroxidase in human hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1985; 21: 941-944.
50. Peskin AV, Koen YM, Zbarsky IB: Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in tumors. *FEBS Lett* 1978; 1: 41-45.
51. Kitathara A, Yamaraky T, Ishikawa T, et al: Changes in activity of glutathione peroxidase and glutathione reductase during chemical hepatocarcinogenesis in the rat. *Jpn Cancer Res(Gann)* 1983; 74: 649-655.
52. Kim BK: *Enzyme Nomenclature*, IUB, New York, Academic Press, 1979, pp 92-93.
53. Carlberg I, Mannervik B: Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *J Biol Chem* 1975; 250: 5475-5480.
54. Moron MS, Depierre JW, Mannervik B: Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver. *Biochim Biophys Acta* 1979; 582: 67-78.
55. Goldberg DM, Spooner RJ: Glutathione reductase, in Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Gra 1 β M (eds): *Methods of Enzymatic Analysis*, ed 3, Vol III. Weinheim, Verlag Chemie GmbH 1983, pp 258-264.
56. Taniguchi N, Tsukada Y, Hirai H: Acquirement of fetal properties in hepatoma on glutathione metabolism. *Biochim Biophys Acta* 1974; 354: 161-167.
57. Wakui K, Kumata H, Tadaki H, et al: Clinical significance of serum glutathione reductase in various clinical conditions, especially in liver diseases. *Tohoku J Exp Med* 1976; 118: 17-23.
58. West M, Berger C, Rony H, et al: Serum enzymes in disease. VI. Glutathione reductase in sera of normal subjects and of patients with various disease. *J Lab Clin Med* 1961; 57: 946-954.
59. Wooddell WJ: Liver disease in alcohol addicted patients, in Davidson sv(ed): *Alcoholism and Health*, Century Boulevard, Aspen system Co., 1980, pp 125-134.
60. Sherlock DS: *Diseases of The Liver and Biliary System*, ed 7. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985, pp 346-360.
61. Christofersen P, Poulsen H: Alcoholic liver disease, in Macsween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ (eds): *Pathology of The Liver*. New York, Churchill Livingstion InC., 1979, pp 232-244.
62. Chang ES: Ultrastructural morphogenesis of mitochondria in alcoholic liver. *Acta Pathol Jpn* 1987; 37: 213-224.
63. Chang ES: Light and electron microscopic studies of liver biopsies on alcoholic patients. *J Clin Electron Microscopy* 1985; 18: 331-347.
64. Ellenhorn MJ, Barceloux DG: *Medical Toxicology Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*. New York, Elsevier Science Publishing Co., InC., 1988, pp 782-796.

65. Ritchie JM: The aliphatic alcohols, in Gilman AG, Goodman LS, Gilman A (eds): *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, ed 7. New York, Macmillan Publishing Co., Inc., 1980, pp 376 – 388.
66. Eagon PK, Willet JE, Seguiti SM: Androgen responsive functions of male rat liver. Effect of chronic alcohol ingestion. *Gastroenterology* 1987; 93: 1162 – 1169.
67. Liu SJ, Ramsey RK, Fallon HJ: Effect of ethanol on hepatic microsomal drug metabolizing enzymes in the rat. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 369 – 378.
68. 곽준식, 곽정식 : 환자 간 세포 분획법. I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. *계명의대논문집* 1986; 5: 45 – 53.
69. Paglia ED, Valentine WN: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158 – 169.
70. Greenberg DM, Rothstein M: Method for isolation and degradation of labelled compounds, in Colowick SP, Kaplan ND (eds): *Method in Enzymology*, Vol 4. New York, Academic Press, 1957, pp 708 – 731.
71. Gornall AG, Bardawil CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J Biol Chem* 1949; 177: 751 – 766.
72. Scheffler WC: *Statistics for the Biological Sciences*, ed 2. USA Menlo Park, Addison-Wesley Publishing Company, 1980, pp 84 – 89.
73. Halsted JA: *The Laboratory in Clinical Medicine. Interpretation and Application*. London, Saunders Co., 1976, pp 426 – 429.
74. Moritz M, Snodgrass PJ: Serum enzymes derived from liver cell fraction. II. Responses to bile duct ligation in rats. *Gastroenterology* 1972; 62: 93 – 100.
75. 장대성, 곽정식, 손태중 : 총담관결찰에 의한 담관증식성 변화의 초현미경적 연구. *경북의대잡지* 1987; 28: 113 – 122.
76. Sherlock DS: *Diseases of The Liver and Biliary system*, ed 7. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985, pp 79 – 80.
77. Righetti ABB, Kaplan MM: Effects of actinomy-
- cin D on rat liver alkaline phosphatase. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971; 136: 491 – 495.
78. Kaplan MM, Righetti A: Induction of rat liver alkaline phosphatase: The mechanism of the serum elevation in bile duct obstruction. *J Clin Invest* 1970; 49: 508 – 516.
79. Toda G, Ikeda Y, Kako M, et al: Mechanism of elevation of serum alkaline phosphatase activity in biliary obstruction: An experimental study. *Clin Chim Act* 1980; 107: 85 – 96.
80. 곽준식 : 총수담관을 결찰한 환자의 혈청 및 간장의 Leucine Aminopeptidase에 미치는 Actinomycin D의 영향. *경북의대잡지* 1980; 21: 126 – 134.
81. 곽준식 : 환자 담즙울체간의 Xanthine Oxidase의 활성화. *계명의대논문집* 1985; 4: 125 – 130.
82. 곽준식, 장의규 : 환자 담즙울체 간장의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성화. *계명의대논문집* 1985; 4: 1 – 27.
83. 곽준식, 이상원 : 환자 담즙울체 간의 Malate Dehydrogenase의 활성화. *계명의대논문집* 1985; 4: 131 – 137.
84. 곽준식, 김여희, 문교철 : 환자 담즙울체간의 Plasma Membrane, Mitochondria 및 Microsome의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성화. *계명의대논문집* 1987; 6: 67 – 76.
85. 정상호, 곽준식 : 환자 담즙울체간의 Leucine Aminopeptidase의 활성화. *계명의대논문집* 1987; 6: 210 – 221.
86. 문교철, 곽준식 : 환자 담즙울체간의 Monoamine Oxidase의 활성화. *계명의대논문집* 1989; 8: 69 – 77.
87. Bosron WF, Li TK: Alcohol dehydrogenase, in Jakoby WB (ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*. New York, Academic Press, 1980, Vol 1, pp 231 – 244.
88. Lieber CS: Alcohol metabolism, in Hall P (ed): *Alcoholic Liver Disease, Pathobiology, Epidemiology and Clinical Aspects*. Frome and London, Edward Arnold Ltd., 1985, pp 1 – 24.
89. 김여희, 곽준식, 정성광 : Ethanol 중독 환자에서 총담관결찰이 혈청 및 간의 Alanine Aminotransferase 활성에 미치는 영향. *계명의대논문집* 1989; 8: 113 – 121.