

흰쥐에서 내독소의 비경구 투여가 혈청 및 간의 Lactate Dehydrogenase, Malate Dehydrogenase 및 Isocitrate Dehydrogenase 활성 변동에 미치는 영향*

계명대학교 의과대학 생화학교실

곽 춘 식

경상북도 보건환경연구소 미생물과

문 교 철·김 상 철

경상북도 보건과

이 도 영

서 론

Gram음성균의 감염으로 유발되는 내독소 혈증은 1951년 Waisbren에 의해 임상 증상이 처음으로 보고(Waisbren, 1951)되었으며 근래에 수혈(Borden과 Hall, 1963), 의원성 감염(Shubin과 Weil, 1963), 항생제의 남용으로 약제에 대한 내성이 생긴 gram 음성균에 의한 감염 및 이에 대한 사망의 빈도가 증가(Finland 등, 1970; Myerowitz 등, 1971; Simmons와 Stolley, 1974)하고 있다.

Gram 음성균의 감염에서 독성을 나타내는 인자로 알려진 내독소는 균체의 세포벽에 존재하는 일종의 lipopolysaccharide(Elin과 Wolff, 1973; Bradley, 1979)로 알려져 있으며 최근에는 균체보다는 이 lipopolysaccharide를 이용하여 내독소의 효과를 알아 보려는 실험(Horowitz 등, 1962; Yoshikawa 등, 1971; Morrison과 Cochrane 1974; Meyrick과 Brigham, 1983)이 시행되고 있다. 그러나 내독소 독성에 관한 분자 생물학적 기전은 아직 규명되어 있지 않다.

이러한 내독소는 전신 장기에 손상(Toba 등, 1982)을 유발하며 특히 간(Hirata 등, 1980; Sato 등, 1982), 신(Wardle, 1975), 폐(Meyrick과 Brigham, 1983) 등

의 장기에 많은 영향을 끼친다고 한다. 내독소에 의한 간 손상의 기전은 간세포내 mitochondria에서의 adenosine triphosphate(ATP) 생성 장애(Schumer 등, 1970; Mela 등, 1971; White 등, 1973), 당대사에 관여하는 효소기능 저하로 초래되는 당대사 장애(Berry 등, 1968; Berry와 Rippe, 1973; Shackleford, 1986), 파종성 혈관내 응고증으로 인한 저용량성 손상(Balis 등, 1978; Balis 등, 1979), 세포의 파괴로 유리되는 lysosome내 분해 효소에 의한 파괴(Janoff 등, 1962; Filkins, 1971; Hirata 등, 1980) 등이다.

그리고 내독소의 해독 기전에 대해서는 내독소에 의한 항체 형성설(Boivin 등, 1933; Laderitz 등, 1966; Rossen 등, 1967; Rudbach, 1971), 내독소 불활성에 관여하는 체액설(Schultz와 Becker, 1967a; Schultz와 Becker, 1967b; Onda 등, 1986), 망상내피계에 의한 내독소 제거설(Benacerraf와 Sebenstyen, 1957; Rutenberg 등, 1967) 등이 있으며 특히 이중에서 망상내피계에 의한 내독소 제거설이 인정을 받고 있다. 이 망상내피계중에서 간과 비장이 내독소 제거에 가장 큰 기능을 하는 것으로 알려져 있으며 간의 해독 능력에 대한 연구(Trapani 등, 1962; Palmerio 등, 1963; Fine 등, 1968; Bjorneboe와 Prytz, 1972; Triger 등, 1972)가 많이 이루어지고 있다.

* 이 논문은 1991년도 계명대학교 윤종연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어졌음.

이렇게 간은 혈류로부터 도달한 내독소의 제거에 중심되는 장기일 뿐 아니라 내독소에 의해 간조직 자체가 손상을 받는 양면성을 가지고 있다. 따라서 내독소 투여시 간의 내독소에 의한 손상 및 내독소 제거에 간의 효소들이 어떤 변동을 보이는지 알아보는 것은 내독소 혈증의 이해에 도움이 될 것이다.

한편 lactate dehydrogenase(L-lactate; NAD⁺ oxidoreductase, EC 1.1.1.27; LDH)는 생체내에서 nicotinamide adenine dinucleotide(NAD⁺) 존재하에 해당과정의 마지막 산물인 L-lactate와 pyruvate간의 가역적 산화 환원 반응을 촉매하는 효소이다(Kim, 1979a). 이 효소는 탄수화물 대사에 관여하는 모든 장기의 세포내에 함유되어 있으며(Zimmerman, 1964) 특히 골격근, 심, 간 및 신 등에 그 함량이 많다(Zimmerman, 1964). 그리고 세포내에서는 세포질 내에 그 함량이 풍부하다(Wilkinson, 1976a). 또한 이 효소의 활성도는 급성 심근경색증(Rotenberg 등, 1988a; Loughlin 등, 1988; Jensen 등, 1990), 각종종양(Glan-noulaki 등, 1989), 일본뇌염(서 등, 1987), 폐질환(Rotenberberg 등, 1988b; Rotenberg 등, 1988c), 홍역(Sugaya 등, 1987), 신질환(하 등, 1989), 다발성골수종(Copur 등, 1989), 및 간암(Zimmerman, 1964) 등의 질환에서 혈증에 변동이 되는 것으로 알려져 있다.

Malate dehydrogenase (L-malate; NAD⁺ oxidoreductase, EC 1.1.1.37; MDH)는 생체내에서 L-malate와 NAD⁺로 부터 oxaloacetate와 NADH를 생성하는 반응을 촉매하는 효소(Wilkinson, 1976b; Kim, 1979b)로서 동물에서는 심근, 골격근, 간 및 신 등에서 많이 합성되며 그 함량도 많다(Dölken 등, 1974; Wilkinson, 1976b; Tyagi 등, 1977; Comte와 Gautheron, 1978; Passarella 등, 1980; Crow 등, 1982). 그리고 세포내에서는 주로 세포질과 mitochondria에 편재되어 있다(Wilkinson, 1976b; Passarella 등, 1980; Corw 등, 1982; McEvily 등, 1985). 또한 이 효소의 활성도는 심근경색증, 감염성 간염, 간경변증, 폐쇄성 황달, 황달을 수반하는 간암, 췌암 등의 질환에서 혈증에 증가하는 것(Bing 등, 1957)으로 알려져 있다.

Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP⁺) dependent isocitrate dehydrogenase (isocitrate: NADP⁺ oxidoreductase, decarboxylating, EC 1.1.1.42; ICDH)는 기질인 isocitrate를 탈수소 및 탈탄산하여 α-ketoglutarate로 전환시키는 효소(Kim, 1979b)이며 간, 심, 골격근 등에 풍부히 존재하고(Wi-

lkinson, 1976c) 세포내에서는 mitochondria와 세포질에 동시에 존재하는 효소(Plaut, 1963)로서 심장과 근육 세포에서는 mitochondria에 존재하며, 간세포에는 주로 세포질에 존재한다고 보고(Pette, 1966)되고 있다.

이 연구는 내독소 투여가 당대사 및 구연산 회로 반응에 어떤 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 gram 음성균중 사람에게 가장 흔히 내독소 혈증을 유발한다고 알려진 대장균(Schumer 등, 1970; Myerowitz, 1971; Utili 등, 1977)에서 추출된 lipopolysaccharide를 흰쥐에게 주입하고 혈청과 간에서 당대사 및 mitochondria의 구연산 회로 반응에 관련된 효소중 LDH, MDH 및 NADP⁺ dependent ICDH의 활성도를 측정하였으며 아울러 alanine aminotransferase (ALT) 및 aspartate aminotransferase(AST)의 활성도도 함께 측정하여 그 성적을 상호 비교 검토하였다.

재료 및 방법

동물 및 처치 : 동물은 4주이상 같은 조건으로 사육한 체중 280-320g이 되는 Sprague-Dawley종의 숫 흰쥐를 사용하였으며 내독소 주입군 및 대조군으로 나누어서 각각 내독소 주입 혹은 생리 식염수 주입 후 3시간, 8시간 및 24시간에 쥐를 각각 10마리씩 죽여 실험에 제공하였다.

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 진양 사료 주식회사의 제품을 먹도록 하였다. 대조군은 생리 식염수를 체중 kg당 1.25ml를 주입하였으며 내독소 주입군은 김정희 등(1987)의 방법에 따라 Sigma사의 내독소(E. coli, 026; B6, lipopolysaccharide, Sigma, USA)를 생리 식염수에 4mg/ml의 농도로 녹여 체중 kg당 5mg이 되도록 우의 경정액으로 주입하였다.

시약 : DL-lactate lithium salt, phenazin methosulfate, 2-(4-iodophenol-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyltetrazolium chloride, β-NADH(reduced nicotinamide adenine dinucleotide; yeast grade III, sodium salt), β-NAD⁺(nicotinamide adenine dinucleotide; yeast grade III, disodium salt), oxaloacetate, β-NADP⁺(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; from yeast β-NAD⁺, sodium salt, Sigma grade), DL-isocitrate, manganese chloride, EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid, disodium salt), 2,4-dinitrophenylhydrazine, sodium deoxycholic acid, LDH(lactic dehyd-

rogenase, from bovine heart), MDH(malic dehydrogenase, from porcine heart, transaminase 측정용), L-alanine, α -ketoglutarate, L-aspartate, 종합표준효소 (enzyme control 2-N) 및 표준 단백액(10g/100ml, bovine albumin) 등은 Sigma사의 제품을 사용하였다. 그 외 일반 시약들은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

간적출 및 세포분획 : 간의 적출은 ether 마취하에서 실시하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시킨 후 간문맥에 삽관한 다음 4°C의 생리식염수로 관류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있는 생리 식염수를 가능한 한 모두 제거하였다. 이렇게 적출한 간은 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합한 다음 그중 5g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣어 teflon glass homogenizer(Thomas사 제품 chamber clearance 0.005-0.007 inch)로 2-4°C를 유지하면서 400rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10w/v%의 간조직 균질액을 만들었다. 그리고는 이 간조직 균질액 40ml를 취하여 sucrose linear density gradient 원심분리법(곽춘식과 곽정식, 1986)으로 cytosol 및 mitochondria를 분리하였다. 즉 간조직의 마쇄 균질액을 571×g (average relative centrifugal force, 이하 생략함)에서 10분간 원심분리하여 조직의 미마쇄 부분, 핵 및 세포막 부분을 제거한 다음, 그 상청액을 7,796×g에서 20분간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었으며 이 과정에서 얻은 상청액을 다시 104,400×g에서 1시간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었다. 이때 얻어진 상청액을 cytosol분획으로 사용하였다. 한편 위의 7,796×g에서 20분간 원심분리하는 과정에서 얻은 pellet을 0.25M sucrose액에 혼탁시키고 이 액을 20-45w/v% sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심관 상부에 부하시켜 45,200×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 침전물을 0.25M sucrose액에 재현탁시켜 7,796×g에서 20분간 원심분리하여 pellet을 얻었으며 이것을 mitochondria 분획으로 사용하였다.

위의 세포분획 과정에서 모든 조작은 2-4°C에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 그리고 sucrose linear density gradient 용액의 제조는 gradient former(ISCO model 570)를 사용하여 제조하였다.

효소시료 조제 : 혈청 및 cytosol은 아무런 처리없이

효소시료로 사용하였으며 mitochondria는 ultrasonic dismembrator(Fisher model 300)로 20±0.4 K cycle/sec의 속도로 2-4°C에서 2분씩 5회 초음파 마쇄하여 MDH 효소시료로 사용하였고, 1% Triton X-100으로 처리한 mitochondria 혼탁액은 ICDH의 효소시료로 사용하였다. 그리고 mitochondria 혼탁액을 1% sodium deoxycholic acid를 함유한 1% sodium bicarbonate액으로 2배 회석한 후 MDH 효소시료 처리 방법과 동일한 방법으로 초음파 마쇄한 후 증류수로 회석하여 ALT 및 AST 효소시료로 사용하였다.

효소활성도 측정 : 혈청 및 간의 LDH 활성도 측정은 L-lactate를 기질로 하고 조효소로서 NAD⁺를 중간 운반체로 phenazin methosulfate 그리고 발색시약으로 2-(4-iodophenol)-3,4-nitrophenyl-5-phenyltetrazolium chloride를 사용하여 37°C에서 5분간 반응시키는 동안에 생성되는 formazan의 자색을 비색정량하는 Babson 및 Phillips(1965)의 방법에 의하였으며 활성도의 단위는 혈청은 1ml당, 간 cytosol은 단백 1mg당 Wróblewski 단위(Wróblewski와 LaDue, 1955)로 환산하여 나타내었다.

혈청 및 간의 MDH 활성도 측정은 oxaloacetate와 NADH를 기질로 하여 30°C에서 2분간 반응시키는 동안에 340nm 파장에서 최대흡수대를 갖는 NADH가 NAD⁺로 산화되면서 감소하는 흡광도로서 효소활성을 측정하는 Siegel 및 Bing(1956)의 방법에 의하였다. 그리고 이 효소 활성도의 단위는 1분간에 1ml의 혈청 혹은 1mg의 단백이 반응하여 생성한 NAD⁺양을 nmol로 나타내었다.

혈청 및 간의 ICDH 활성도 측정은 isocitrate와 NADP⁺를 기질로 하여 37°C에서 30분간 반응시키는 동안에 생성된 α -ketoglutarate를 2,4-dinitrophenylhydrazine으로 발색시켜 390nm에서 비색 정량하는 Bell과 Baron(1960)의 방법에 의하였으며 이 효소 활성도의 단위는 1분간에 1ml의 혈청 혹은 1mg의 단백이 반응하여 생성한 NADPH를 nmol 단위로 나타내었다.

혈청 및 간의 ALT 활성도 측정은 L-alanine과 α -ketoglutarate를 기질로 사용하여 25°C에서 10분간 반응시키는 동안에 생성된 pyruvic acid가 NADH 및 LDH 공존하에서 lactate로 환원될 때 NADH가 산화되어 NAD⁺로 되면서 감소하는 흡광도로서 효소 활성도를 측정하는 Karmen 등(1955)의 방법에 의하였다. 그리고 이 효소 활성도의 단위는 혈청은 1ml당, 간 cytosol 및 mitochondria는 단백 1mg당 Karmen

단위로 환산하여 나타내었다.

혈청 및 쥐의 AST 활성도 측정은 L-aspartate과 α -ketoglutarate를 기질로 사용하여 25°C에서 10분간 반응시키는 동안에 생성된 pyruvic acid가 NADH 및 LDH 공존하에서 malate로 환원될 때 NADH가 산화되어 NAD⁺로 되면서 감소하는 흡광도로서 효소 활성을 측정하는 Karmen 등(1955)의 방법에 의하였다. 그리고 이 효소의 활성도 단위로 Karmen 단위로 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소활성도 측정법들은 그 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 표준 효소를 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 이 실험에서 각 효소 활성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer(Varian, Cary 210)였다.

단백 질량: 효소액 중의 단백질량은 0.5N perchloric acid와 methanol-ether 3:1 혼합액으로 단백을 정제(Greenberg와 Rothstein, 1957)한 다음 biuret 법(Gornall, 1949)으로 정량하였다.

성적 검정: 얻어진 각종 성적들의 유의성 검정은 Student's t-test(Schefler, 1980)에 의하였다.

성 적

내독소 투여가 혈청 및 쥐간의 LDH 활성도에 미치는 영향: 체중 kg당 5mg의 내독소를 투여했을 때

혈청 및 흰쥐 간의 cytosol 분획의 LDH 활성도의 변동은 표 1과 같다. 내독소 투여군의 혈청 LDH 활성도는 대조군에 비해 실험 전기간 증가를 나타내었다. 즉 혈청 LDH는 내독소 투여 후 3시간에 대조군에 비해 약 19% ($P<0.001$)의 활성 증가를 나타내었으며 8시간에도 약 19% ($P<0.01$)의 활성 증가를 나타내었다. 24시간에는 대조군에 비해 약 11% ($P<0.05$)의 활성 증가를 나타내었다. 그리고 내독소 투여군의 간 cytosol 분획의 LDH도 대조군에 비해 실험 전기간 활성 증가를 나타내었다. 즉 쥐간의 cytosol 분획의 LDH는 내독소 투여 후 3시간에 대조군에 비해 약 14% ($P<0.05$)의 활성 증가를 나타내었으며 8시간에는 약 16% ($P<0.001$)의 활성 증가를 나타내었다. 그리고 24시간에는 대조군에 비해 약 14% ($P<0.01$)의 활성 증가를 나타내었다.

내독소 투여가 혈청 및 쥐간의 MDH 활성도에 미치는 영향: 체중 kg당 5mg의 내독소를 투여했을 때 혈청 및 흰쥐 간의 cytosol과 mitochondria 분획의 MDH 활성도의 변동은 표 2와 같다. 대조군의 혈청 MDH는 내독소 투여 후 3시간에 대조군에 비해 약 24% ($P<0.05$)의 활성 증가를 나타내었으며 8시간에는 약 54% ($P<0.001$)의 활성 증가를 나타내었다. 24시간에는 대조군에 비해 약 11%의 활성 증가를 나타내었으나 통계학적 의의는 없었다. 그리고 내독소 투여군의 간 cytosol 분획의 MDH는 대조군에 비해 실험 전기간 의의 있는 활성의 변동은 없었다. 그리고 내독소 투여군의 간 mitochondria 분획의 MDH는

Table 1. Effect of endotoxin on the serum and liver lactate dehydrogenase(LDH) activities in rats

| Hours after endotoxin injection | LDH activities | | | |
|--|--|--------------------|--|-----------------------|
| | Serum (Wróblewski unit ml ⁻¹) | | Cytosol (Wróblewski unit mg protein ⁻¹) | |
| | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) |
| 3 | 521±50 (100) | 619±41*** (119) | 2,945±171 (100) | 3,363±476* (114) |
| 8 | 512±56 (100) | 608±42** (119) | 2,952±165 (100) | 3,431±341*** (116) |
| 24 | 503±42 (100) | 557±47* (111) | 2,983±176 (100) | 3,336±270** (114) |

The data are expressed as mean±SD with 10 rats in each group.

; For control group, the rats were injected physiologic saline solution, and endotoxin group, a single dose of 5 miligrams of lipopolysaccharide (E. coli 026: B6 from Sigma Chemical Co. USA) was injected per kg body weight. Significant difference from control(*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, ***: $P<0.001$).

내독소 투여후 3시간에 대조군에 비해 약 47% ($P<0.01$)의 활성 증가를 나타내었으며 8시간에도 약 46% ($P<0.001$)의 활성 증가를 나타내었다.

내독소 투여가 혈청 및 쥐간의 ICDH 활성도에 미치는 영향 : 체중 kg당 5mg의 내독소를 투여했을 때 혈청 및 흰쥐 간의 cytosol과 mitochondria 분획의 ICDH 활성도의 변동은 표 3과 같다. 내독소 투여군의 혈청 ICDH는 대조군에 비해 실험 전기간 활성 증가를 나타내었다. 즉 혈청 ICDH는 내독소 투여후 3시간에 대조군에 비해 약 124% ($P<0.01$)의 활성 증가를 나타내었으며 8시간에는 약 171% ($P<0.05$)의 활성 증가를 나타내었다. 그리고 24시간에는 대조군에 비해

약 42% ($P<0.01$)의 활성 증가를 나타내었다. 내독소 투여군의 간 cytosol 분획의 ICDH는 내독소 투여 후 3시간에는 대조군에 비해 약 12%의 활성 감소를 나타내었으나 통계학적 의의는 없었다. 8시간에는 대조군에 비해 약 19% ($P<0.01$)의 활성 감소를 나타내었으며 24시간에는 약 12% ($P<0.05$)의 감소를 나타내었다. 그리고 내독소 투여군의 간 mitochondrial 분획의 ICDH는 대조군에 비해 실험 전 기간 의의있는 활성의 변동이 없었다.

내독소 투여가 혈청 및 쥐간의 ALT 활성도에 미치는 영향 : 체중 kg당 5mg의 내독소를 투여했을 때 혈청 및 흰쥐 간의 cytosol과 mitochondria 분획의 ALT

Table 2. Effect of endotoxin on the serum and liver malate dehydrogenase(MDH) activities in rats

| Hours after endotoxin injection | MDH activities | | | | | |
|--|--|---------------------|--|---------------------|--------------------|-----------------------|
| | Serum (nmol NAD ⁺ ml ⁻¹ min ⁻¹) | | Cytosol (nmol NAD ⁺ mg protein ⁻¹ min ⁻¹) | | Mitochondria | |
| | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) |
| 3 | 489±97 (100) | 607±123* (124) | 3,376±250 (100) | 3,588±488 (106) | 999±168 (100) | 1,470±345** (147) |
| 8 | 476±85 (100) | 732±146*** (154) | 3,387±262 (100) | 3,532±405* (104) | 1,012±173 (100) | 1,489±322*** (147) |
| 24 | 470±88 (100) | 524±79 (111) | 3,392±258 (100) | 3,234±299 (95) | 1,026±178 (100) | 1,056±182 (103) |

The data are expressed as mean±SD with 10 rats in each group.

; Endotoxin was given as described in table 1.

Significant difference from control(*; $P<0.05$, **; $P<0.01$, ***; $P<0.001$).

Table 3. Effect of endotoxin on the serum and liver isocitrate dehydrogenase(ICDH) activities in rats

| Hours after endotoxin injection | ICDH activities | | | | | |
|--|--|--------------------|--|------------------|-----------------|------------------|
| | Serum (nmol NADPH ⁺ ml ⁻¹ min ⁻¹) | | Cytosol (nmol NADPH ⁺ mg protein ⁻¹ min ⁻¹) | | Mitochondria | |
| | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) |
| 3 | 3.3±0.8 (100) | 7.4±4.1** (224) | 236±30 (100) | 208±43 (88) | 145±22 (100) | 146±19 (101) |
| 8 | 3.4±0.7 (100) | 9.2±6.7* (271) | 241±32 (100) | 196±25** (81) | 150±24 (100) | 157±15 (105) |
| 24 | 3.3±0.7 (100) | 4.7±1.2** (142) | 239±28 (100) | 210±23* (88) | 148±19 (100) | 144±40 (97) |

The data are expressed as mean±SD with 10 rats in each group.

; Endotoxin was given as described in table 1.

Significant difference from control(*; $P<0.05$, **; $P<0.01$).

Table 4. Effect of endotoxin on the serum and liver alanine aminotransferase(ALT) activities in rats

| Hours after endotoxin injection | ALT activities | | | | | |
|--|--|---------------------|--|--------------------|----------------|--------------------|
| | Serum (Karmen unit ml ⁻¹) | | Cytosol (Karmen unit mg protein ⁻¹) | | Mitochondria | |
| | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) |
| 3 | 31.8±3.3 (100) | 34.2±5.8 (108) | 2,236±620 (100) | 2,337±812 (105) | 64±18 (100) | 106±20*** (166) |
| 8 | 30.5±3.6 (100) | 63.8±38.3* (209) | 2,243±632 (100) | 2,332±608 (104) | 66±16 (100) | 112±52* (170) |
| 24 | 30.8±3.0 (100) | 31.4±3.7 (102) | 2,249±626 (100) | 2,308±563 (103) | 63±18 (100) | 69±24 (110) |

The data are expressed as mean±SD with 10 rats in each group.

; Endotoxin was given as described in table 1.

Significant difference from control(*; P<0.05, ***; P<0.001).

Table 5. Effect of endotoxin on the serum and liver aspartate aminotransferase(AST) activities in rats

| Hours after endotoxin injection | AST activities | | | | | |
|--|--|------------------------|--|-------------------|--------------------|--------------------|
| | Serum (Karmen unit ml ⁻¹) | | Cytosol (Karmen unit mg protein ⁻¹) | | Mitochondria | |
| | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) |
| 3 | 81.4±12.2 (100) | 132.8±36.3*** (163) | 1,726±470 (100) | 1,535±384 (89) | 1,136±130 (100) | 1,184±121 (104) |
| 8 | 82.1±11.6 (100) | 165.3±63.4*** (201) | 1,741±452 (100) | 1,412±391 (81) | 1,133±126 (100) | 1,141±190 (101) |
| 24 | 21.8±11.2 (100) | 95.6±20.2 (117) | 1,736±443 (100) | 1,497±314 (86) | 1,138±134 (100) | 1,136±110 (100) |

The data are expressed as mean±SD with 10 rats in each group.

; Endotoxin was given as described in table 1.

Significant difference from control(**; P<0.001).

활성도의 변동은 표 4와 같다. 내독소 투여군의 혈청 ALT는 내독소 투여후 8시간에 대조군에 비해 약 109% (P<0.05)의 활성 증가를 나타내었다. 내독소 투여군의 간 cytosol 분획의 ALT는 대조군에 비해 실험 전기간 의의있는 활성의 변동은 없었다. 그리고 내독소 투여군의 간 mitochondrial 분획의 ALT는 내독소 투여 후 3시간에 대조군에 비해 약 66% (P<0.001)의 활성 증가를 나타내었으며 8시간에는 약 70% (P<0.05)의 활성 증가를 나타내었다.

내독소 투여가 혈청 및 쥐간의 AST 활성도에 미치는 영향 : 체중 kg당 5mg의 내독소를 투여했을 때 혈청 및 흰쥐간의 cytosol과 mitochondria 분획의 ALT

활성도의 변동은 표 5와 같다. 내독소 투여군의 혈청 AST는 내독소 투여후 3시간에 대조군에 비해 약 63% (P<0.001)의 활성 증가를 나타내었으며 8시간에는 대조군에 비해 약 101% (P<0.001)의 활성 증가를 나타내었다. 그리고 내독소 투여군의 간 cytosol 및 mitochondria 분획의 AST는 대조군에 비해 실험 전기간 의의있는 활성의 변동은 없었다.

고 찰

이 실험에서 내독소를 투여했을 때 혈청 및 간 cytosol 분획의 LDH는 실험 전기간 활성 증가를 나타내

었다. 실험 동물에게 내독소를 투여했을 때 lactate는 세포에서 효과적으로 제거되지 못하거나 이용되지 못하여 혈중에 증가된다(Mela 등, 1971; White 등, 1973)고 하며, 또한 간으로의 혈류량 감소로 간세포는 저산소증이 나타난다(White 등, 1973)고 한다. 따라서 이 실험에서 간 cytosol 분획의 LDH 활성이 증가된 것은 저산소증으로 인해 LDH가 유도된 때문이 아닌가 생각되며 이로인해 pyruvate에서 lactate로의 대사가 증가되고 이 증가된 lactate가 간세포내에서 제거 혹은 이용되지 못하여 그대로 혈중에 유리되고 따라서 혈중 lactate치가 증가된 것이라 생각된다.

그리고 내독소 투여후 조직 소견을 관찰한 김정희 등(1987) 및 Onda 등(1986)의 연구에 의하면 내독소 투여후 4-6시간부터 간은 괴사 현상을 나타내어 8시간에는 괴사 현상이 현저하며 이후 24시간까지 지속된다고 하였다. 저산소증으로 간세포중에 유도된 LDH가 간괴사로 인한 간세포막의 투과성 항진으로 혈중에 유리됨으로서 혈중 LDH 활성이 증가된 것으로 생각된다.

이 실험에서 내독소 투여군의 혈청 MDH 활성도는 내독소 투여후 3시간 및 8시간에 증가를 나타내었으나 간 cytosol 분획의 MDH는 실험 전기간 의의있는 활성의 변동은 없었다. 그리고 내독소 투여군의 간 mitochondria 분획의 MDH는 내독소 투여 후 3시간 및 8시간에 활성 증가를 나타내었다. 또한 혈청 및 간 cytosol 및 mitochondrial ALT도 MDH와 같은 경향을 나타내었다. ALT는 간세포에 풍부히 존재(Wróblewski 등, 1956; Sato 등, 1982)하며 간 장애 및 기능의 효소학적 지표로 사용(Melby 등, 1959; Clermont 등, 1967; Dixon 등, 1975; Sato 등, 1982)되고 있다. 그리고 각종 간질환 및 실험 동물에서의 간 장애시 혈중의 ALT 증가는 간에서의 유출(Matloff 등, 1980; 김 등, 1989)로 알려져 있다. 특히 내독소는 mitochondria 막을 파괴한다(White, 1973)고 알려져 있는 만큼 이 실험에서 혈청 ALT가 증가된 것은 mitochondrial ALT와 함께 cytosolic ALT가 혈중으로 유출된 때문이라 생각되며 분명하게 설명하기는 어려우나 mitochondria에서 cytosol로 유출된 양 만큼의 ALT가 혈중으로 유출됨으로서 cytosolic ALT는 활성의 변동이 없었다고 생각된다. 또한 MDH도 ALT와 같은 경로를 밟는다고 생각된다. 이 실험에서 mitochondria MDH는 구연산 회로에 관여되는 효소로 내독소 투여시 ATP가 감소된다는 보고(Staples 등, 1969)를 볼 때 그 활성이 감소되리라 예상했으나

오히려 증가되었다. 그러나 ATP 감소의 보고들이 주로 산화적 인산화 반응에 관여하는 효소들의 기능 저하(Schumer 등, 1970; Mela 등, 1971; Stanley 등, 1988)라는 점과 이 실험 성적으로 생각해볼 때 내독소에 의한 ATP 생성 저하는 구연산 회로의 억제에 의해서가 아닌 직접 산화적 인산화 반응에 영향을 줌으로써 이루어진다고 생각된다. 그리고 내독소 투여시 mitochondria MDH 및 ALT 활성의 증가 원인으로는 명확하게 설명할 수 없으며 앞으로 추구해보아야 하겠다.

이 실험에서 내독소 투여군의 혈청 ICDH는 실험 전기간 활성 증가를 나타내었다. 내독소 투여군의 간 cytosolic 분획의 ICDH는 내독소 투여 후 8시간 및 24시간에 활성 감소를 나타내었다. 그리고 내독소 투여군의 간 mitochondria 분획의 ICDH는 실험 전기간 의의있는 활성의 변동이 없었다. 즉 내독소는 구연산 회로에 관여하는 mitochondria의 ICDH에는 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 이는 내독소가 구연산 회로는 억제하지 않는다는 점을 뒷받침하는 또 하나의 효소학적 성격이라 생각된다. 그리고 혈청 ICDH는 증가되고 동시에 간 cytosol의 ICDH는 감소되는 것으로 보아 간 cytosol의 ICDH가 혈중으로 유출됨으로서 나타난 현상이라 생각된다.

이 실험에서 내독소 투여군의 혈청 AST는 내독소 투여후 3시간 및 8시간에 활성 증가를 나타내었다. 그리고 내독소 투여군의 간 cytosol 및 mitochondria 분획의 AST는 실험 전기간 의의있는 활성의 변동은 없었다. AST도 ALT와 마찬가지로 간담도 질환시 혈중으로 유출되는 것(Wilkinson, 1976d)으로 알려져 있으나 이 실험만으로는 혈중의 AST 증가가 간에서 생성된 AST가 혈중으로 유출되어 나타난 결과인지 아니면 AST가 심, 골격근, 신(Wróblewski 등, 1956; Wilkinson, 1976d) 등 간 이외의 장기에도 풍부한 만큼 다른 장기에서 유리되어 나타난 결과인지는 확실치 않다. 따라서 이 문제들을 해결하기 위해서는 앞으로 계속 연구하여야 하겠다.

요 약

내독소 투여가 당대사 및 구연산 회로 반응에 어떤 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 흰쥐에게 체중 kg당 5mg의 lipopolysaccharide를 주입하고 3, 8 및 24시간에 혈청 및 흰쥐간에서 당대사 및 mitochond-

ria의 구연산 회로 관련 효소인 LDH, MDH 및 ICDH의 활성도를 측정하는 한편 ALT 및 AST의 활성도도 함께 측정하여 그 성적을 상호 비교 검토하였다.

이 실험에서 내독소를 투여했을 때 혈청 및 간 cytosol 분획의 LDH는 실험 전기간 활성 증가를 나타내었다.

내독소 투여군의 혈청 MDH는 내독소 투여후 3시간 및 8시간에 활성 증가를 나타내었다. 그리고 내독소 투여군의 간 cytosol 분획의 MDH는 실험 전기간 의의있는 활성의 변동은 없었다. 내독소 투여군의 간 mitochondria 분획의 MDH는 내독소 투여후 3시간 및 8시간에 활성 증가를 나타내었다.

내독소 투여군의 혈청 ICDH는 실험 전기간 활성 증가를 나타내었다. 내독소 투여군의 간 cytosol 분획의 ICDH는 내독소 투여 후 8시간 및 24시간에 활성 감소를 나타내었다. 그리고 내독소 투여군의 간 mitochondria 분획의 ICDH는 실험 전기간 의의있는 활성의 변동은 없었다.

내독소 투여군의 혈청 ALT는 내독소 투여후 8시간에 활성 증가를 나타내었다. 내독소 투여군의 간 cytosol 분획의 ALT는 실험전기간 의의있는 활성의 변동은 없었다.

이상 성적으로 보아 내독소를 투여했을 때 cytosol 분획의 LDH 활성이 증가된 것은 저산소증으로 인해 LDH가 유도된 때문이라 생각된다. 그리고 혈청 MDH, ICDH 및 ALT 활성도의 증가는 mitochondria 및 cytosol의 이들 효소가 혈중으로 유출되어 나타난 결과로 생각된다. Mitochondrial MDH의 활성 증가와 mitochondrial ICDH의 활성의 변화없음은 내독소에 의한 ATP 생성 저하의 주된 부위는 구연산 회로의 억제에 의해서가 아니며 직접적으로 산화적 인산화 반응에 영향을 줌으로써 이루어진다는 점을 시사한다고 생각된다. 그리고 내독시 투여시 mitochondrial MDH 및 mitochondrial ALT의 활성 증가는 그 증가가 합성 증가인지 촉매 효율의 증가인지는 분명치 않다.

참 고 문 헌

- Babson AL, Phillips GE: A rapid colorimetric assay for serum lactic dehydrogenase. *Clin Chim Acta* 1965; 12: 210-215.
Balis JU, Paterson ES, Gerber L, et al: Glucocorticoid

and antibiotic effects on hepatic microcirculation and associated host responses in lethal gram-negative bacteremia. *Lab Invest* 1979; 40: 55-65.

Balis JU, Rappaport ES, Gerber L, et al: A primate model for prolonged endotoxin shock, Blood-vascular reactions and effects of glucocorticoid treatment. *Lab Invest* 1978; 38: 511-523.

Bell JL, Baron DN: A colorimetric method for determination of isocitrate dehydrogenase. *Clin Chim Acta* 1960; 5: 740-747.

Benacerraf B, Sebenstyan MM: Effect of bacterial endotoxins on the reticuloendothelial system. *Fed Proc* 1957; 16: 860-867.

Berry LJ, Rippe DF: Effect of endotoxin on induced liver enzymes. *J Infect Dis* 1973; 128: S118-S121.

Berry LJ, Smythe DS, Colwell LS: Inhibition of hepatic enzyme induction as a sensitive assay for endotoxin. *J Bacteriol* 1968; 96: 1191-1199.

Bing RJ, Castellanos A, Siegel A: Diagnostic value of malic dehydrogenase and phosphohexose isomerase: Preliminary report of findings in patients with myocardial infarction and liver disease. *JAMA* 1957; 164: 647-650.

Bjørneboe M, Prytz H, Frskov F: Antibodies to intestinal microbes in serum of patients with cirrhosis of the liver. *Lancet* 1972; 8: 58-60.

Boivin A, Mesrobeanu I, Mesrobeanu L: Technique pour la préparation des polysaccharides microbiens spécifiques. *C R Soc Biol* 1933; 113: 490-492.

Borden CW, Hall WH: Fatal transfusion reactions from massive bacterial contamination of blood. *N Engl J Med* 1963; 269: 709-713.

Bradley SG: Cellular and molecular mechanisms of action of bacterial endotoxins. *Annu Rev Microbiol* 1979; 33: 67-94.

Clermont RJ, Chalmers TC: The transaminase tests in liver disease. *Medicine* 1967; 46: 197-207.

Comte J, Gautheron DC: The markers of pig heart mitochondrial subfractions. II. On the association of malate dehydrogenase with inner membrane. *Biochimie*. 1978; 60: 1299-1305.

Copur S, Kus S, Kars A, et al: Lactate dehydrogenase and its isozymes in serum from patients with multiple myeloma. *Clin Chem* 1989; 35: 1968-1970.

Crow KE, Braggins TJ, Batt RD, et al: Rat liver cytosolic malate dehydrogenase: Purification, kinetic properties, role in control of free cytosolic NADH concentration. Analysis of control of ethanol metabolism using computer simulation. *J Biol Chem*

- 1982; 257: 14217-14225.
- Dixon MF, Fulker MJ, Walker BE, et al: Serum transaminase levels after experimental paracetamol-induced hepatic necrosis. *Gut* 1975; 16: 800-807.
- Dölken G, Leisner E, Pette D: Turnover of malate-dehydrogenase isozymes in rabbit liver and heart. *Eur J Biochem* 1974; 47: 333-342.
- Elin RJ, Wolff SM: Bacterial endotoxins, in (ed) AI Laqskin, II, A Lechevalier. *Handbook of Microbiology*, CRC, Cleveland, 1973 pp 215-239.
- Filkins JP: Hepatic lysosomes and the inactivation of endotoxin. *J Reticuloendothel Soc* 1971; 9: 480-488.
- Fine J, Palmerio C, Rutenberg S: New developments in therapy of refractory traumatic shock. *Arch Surg* 1968; 96: 163-175.
- Finland M: Changing ecology of bacterial infections as related to antibacterial therapy. *J Inf Dis* 1970; 122: 419-431.
- Glannoulaiki EE, Kaplaxis DL, Tentas C, et al: Lactate dehydrogenase isozyme pattern in sera of patients with malignant disease. *Clin Chem* 1989; 35: 396-399.
- Gornall AG, Barawill CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J Biol Chem* 1949; 177: 751-766.
- Greenberg DM, Rothstein: Method for isolation and degradation of labeled protein, in Colowick SP, Kaplan No (eds): *Method in Enzymology*. New York, Academic Press, 1957; 4: pp 708-731.
- 하종영, 박성광, 강성귀 등 : 신장질환에서의 Lactate Dehydrogenase 및 그의 Isozyme 활성도의 변화. *대한내과학회잡지* 1989; 37: 228-234.
- Hirata K, Kaneko A, Ogawa K, et al: Effect of endotoxin on rat liver: Analysis of acid phosphatase isozymes in the liver of normal and endotoxin-treated rats. *Lab Invest* 1980; 43: 165-171.
- Horowitz HI, Des Prez RM, Hook EW: Effect of bacterial endotoxin on rabbit platelets: II. Enhancement of platelets factor 3 activity in vitro and in vivo. *J Exp Med* 1962; 116: 619-633.
- Janoff A, Weissmann J, Zweifach BW, et al: Pathogenesis of experimental shock. IV. Studies on lysosomes in normal and tolerant animals subjected to lethal trauma and endotoxemia. *J Exp Med* 1962; 451-466.
- Jensen AE, Reikvan, Asberg: Diagnostic efficiency of lactate dehydrogenase isozymes in serum after acute myocardial infarction. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50: 285-289.
- Karmen A, Wróblewski F, LaDue JS: Transaminase activity in human blood. *J Clin Invest* 1955; 34: 126-131.
- Kim BK: *Enzyme nomenclature*. IUB New York, Academic Press, 1979, pp 32-33.
- Kim BK: *Enzyme nomenclature*. IUB New York, Academic Press, 1979, pp 34-35.
- 김정희, 정재홍, 서인수 : 내독소 투여로 인한 급성 간괴사의 초현미경학적 연구. *계명의대논문집* 1987; 6: 177-202.
- 김여희, 곽춘식, 정성광 : Ethanol 중독 환자에서 총 담관 결찰이 혈청 및 간의 Alanine Aminotransferase 활성에 미치는 영향. *계명의대논문집* 1989; 8: 113-121.
- 곽춘식, 곽정식 : 환자간 세포분획법. I. Mitochondria 및 Microsome의 분리, *계명의대논문집* 1986; 5: 45-53.
- Laderitz O, Staub AM, Westphal O: Immunochemistry of O and R antigens of *Salmonella* and related enterobacteriaceae. *Bactriol Rev* 1966; 30: 192-255.
- Loughlin JF, Krijnen PMW, Jablonsky G, et al: Diagnostic efficiency of four lactate dehydrogenase isozyme-1 ratios in serum after myocardial infarction. *Clin Chem* 1988; 34: 1960-1965.
- Matloff DS, Selinger MJ, Kaplan MM: Hepatic transaminase activity in alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1980; 78: 1389-1392.
- McEvily AJ, Mullinax TR, Dulin DR, et al: Regulation of mitochondrial malate dehydrogenase: Kinetic modulation independent of subunit interaction. *Arch Biochem Biophys* 1985; 238: 229-236.
- Mela L, Baclzo LV, Miller ID: Defective oxidative metabolism of rat liver mitochondria in hemorrhagic and endotoxin shock. *Am J Physiol* 1971; 220: 571-577.
- Melby JC, Egda RH, Bossenmaier IC, et al: Suppression by cortisol of increased serum-transaminase induced by endotoxin. *Lancet* 1959; 1: 441-444.
- Morrison DC, Cochrane CG: Direct evidence for hageman factor (factor XII) activation by bacterial lipopolysaccharides(endotoxins). *J Exper Med* 1974; 140: 797-811.
- Myerowitz RL, Medeiros AA, O'Brien FF: Recent experience with bacillemyia due to gram-negative organisms. *J Infect Dis* 1971; 124: 239-246.
- Onda M, Toba M, Andoh T, et al: Ultrastructural studies of experimental endotoxin shock in the

- liver and spleen: Therapeutic effects of low-dose heparin on reticuloendothelial disturbances. *Circulatory Shock* 1986; 18: 11-19.
- Palmerio C, Zetterstrom B, Shammash J, et al: Denervation of the abdominal visera for the treatment of traumatic shock. *N Engl J Med* 1963; 269: 709-716.
- Passarella S, Marra E, Doonan S, et al: Selective permeability of rat liver mitochondria to purified malate dehydrogenase isoenzyme in vitro. *Biochem J* 1980; 192: 649-658.
- Pette GWE: Isocitrate dehydrogenase in Ahn YH, Kim YS: Physio-chemical and kinetic studies on the NADP⁺-isocitrate dehydrogenase from rat liver cytosol. *Younsei J Med Sci* 1983; 16: 567-581.
- Plaut D: in Ahn YH, Kim YS: Physio-chemical and kinetic studies on the NADP⁺-isocitrate dehydrogenase from rat liver cytosol. *Younsei J Med Sci* 1983; 16: 567-581.
- Rosser RD, Wolff SM, Butler WT: The antibody response in nasal washings and serum to *S. typosa* endotoxin administered intravenously. *J Immunol* 1967; 99: 246-254.
- Rotenberg Z, Weinberger I, Davidson E, et al: Atypical patterns of lactate dehydrogenase isozymes in acute myocardial infection. *Clin Chem* 1988a; 34: 1096-1098.
- Rotenberg Z, Weinberger I, Davidson E, et al: Patterns of lactate dehydrogenase isozymes in serum of patients with acute pulmonary edema. *Clin Chem* 1988b; 34: 1882-1884.
- Rotenberg Z, Weinberger I, Davidson E, et al: Significance of isolated increases in total lactate dehydrogenase and its isozymes in serum of patients with bacterial pneumonia. *Clin Chem* 1988c; 34: 1503-1505.
- Rudbach JA: Molecular immunogenicity of bacterial lipopolysaccharide antigens: Establishing a quantitative system. *J Immunol* 1971; 106: 993-1001.
- Rutenberg S, Skarnes R, Palmerio C, et al: Detoxification of Endotoxin by Perfusion of liver and spleen. *Exp Biol Med* 1967; 125: 455-459.
- Sato T, Tanaka J, Kono Y, et al: Hepatic cellular injury following lethal Escherichia coli bacteremia in rats. *Lab Invest* 1982; 47: 304-310.
- Scheffler WC: *Statistics for the Biological Sciences*, ed 2. USA Menlo Park, Addison-Wesley Publishing, 1980, pp 84-89.
- Schultz DR, Becker EL: The alteration of endotoxin by postheparin plasma and its purified fractions. I. Comparision of the ability of Guinea pig postheparin and normal plasma to detoxify endotoxin. *J Immunol* 1967; 98: 473-481.
- Schultz DR, Becker EL: The alteration of endotoxin by postheparin plasma and its purified fractions. II. Relationship of the endotoxin detoxifying activity of Euglobin from postheparin to lipoprotein lipase. *J Immunol* 1967; 98: 482-489.
- Schumer W, Das Gupta TK, Moss GS, et al: Effect of endotoxin on liver cell mitochondria in man. *Ann Surg* 1970; 171: 875-882.
- Shackleford GM, Hart SK, Berry LJ: Endotoxin treatment inhibits glucocorticoid induction of hepatic enzymes at a late induction step. *Am J Physiol* 1986; 250: E218-E225.
- Shubin H, Weil MH: Bacterial shock: A serious complication in urological practice. *JAMA* 1963; 185: 850-853.
- Siegel A, Bing RJ: Plasma enzyme activity in myocardial infarction in dog and man. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 91: 604-607.
- Simmons HE, Stolley PD: This is medical progress?: Trend and consequences of antibiotic use in the United States. *JAMA* 1974; 227: 1023-1028.
- Stanley LA, Adams ZDJ, Lindsay R, et al: Potentiation and suppression of mouse liver cytochrome P-450 isozymes during the acute-phase response induced by bacterial endotoxin. *Eur J Biochem* 1988; 174: 31-36.
- Staples D, Topuzlu C, Blair E: A comparision of adenosine triphosphate levels in hemorrhagic and endotoxin shock in the rat. *Surgery* 1969; 66: 883-885.
- Sugaya N, Takeuchi Y, Kanno T: Increased lactate dehydrogenase in serum in measles infection. *Clin Chem* 1987; 33: 661-663.
- 서순필, 양동욱, 유주용: 일본뇌염 환자의 총 Lactate Dehydrogenase(LD) 활성 및 LD-Isozyme 분획상에 관한 연구. 전남의대잡지 1987; 24: 333-344.
- Toba M, Ando T, Miyashita M, et al: Ultrastructural changes of spleen in endotoxin administration. *J Clin Electron Microsc* 1982; 15: 5-6.
- Trapani RJ, Waravdekar VS, Landy M, et al: In vitro inactivation of endotoxin by an intracellular agent from rabbit liver. *J Infect Dis* 1962; 110: 135-142.
- Triger DR, Alp MH, Wright R: Bacterial and dietary antibodies in liver disease. *Lancet* 1972; 1: 60-66.
- Tyagi AK, Siddiqui FA, Venkitasubramanian TA:

- Studies on the purification and characterization of malate dehydrogenase from *Mycobacterium phlei*. *Biochim Biophys Acta* 1977; 485: 255-267.
- Utili R, Abernathy CO, Zimmerman HJ: Minitrview. Endotoxin effects on the liver. *Life Sci* 1977; 20: 553-568.
- Waisbren BA: Bacteremia due to Gram-negative bacteria other than *Salmonella*. A clinical and therapeutic study. *Arch Intern Med*, 1951; 88: 467-488.
- Wardle EN: Endotoxin and acute renal failure. *Nephron* 1975; 14: 321-332.
- White RR, Mela L Bacalzo LV, et al: Hepatic ultrastructure in endotoxemia, hemorrhage and hypoxia: Emphasis on mitochondrial changes. *Surgery* 1973; 73: 525-534.
- Wilkinson JH: *The Principles and Practice of Diagnostic Enzymology*. Edward Arniod, London, 1976a, pp 56-58.
- Wilkinson JH: *The Principles and Practice of Diagnostic Enzymology*. Edward Arnold, London, 1976b, pp 46-54.
- Wilkinson JH: *The Principles and Practice of Diagnostic Enzymology*. Edward Arniod, London, 1976c, pp 54-56.
- Wilkinson JH: *The Principles and Practice of Diagnostic Enzymology*. Edward Arniod, London, 1976d, pp 87-93.
- Wróblewski F, LaDue JS: Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc Soc Exp Biol Med* 1955; 90: 210-213.
- Wróblewski F, LaDue JS: Serum glutamic oxaloacetic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 91: 569-571.
- Yoshikawa T, Tanaka KR, Guze LB: Infection and disseminated intravascular coagulation. *Medicine* 1971; 50: 237-258.
- Zimmerman JH: Serum enzymes in the diagnosis of hepatic disease. *Gastroenterology*. 1964; 46: 613-618.

=Abstract=

Effect of Parenteral Administration of Endotoxin on the Changes of the Serum and Hepatic Lactate Dehydrogenase, Malate Dehydrogenase and Isocitrate Dehydrogenase Activities in Rats

Chun Sik Kwak, PhD

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

Kyo Cheol Mun, MD; Sang Chual Kim, MS

Microbiology Division, Kyōng Sang Buk-Do, Provincial Government, Institute of Health and Environment, Taegu, Korea

Do Young Lee, PhD

Health Division, Kyōng Sang Buk-Do, Provincial Government, Taegu, Korea

The activities of the serum and hepatic lactate dehydrogenase(LDH), malate dehydrogenase(MDH) and isocitrate dehydrogenase(ICDH) related to the carbohydrate metabolism and mitochondrial citric acid cycle were studied after parenteral injection with endotoxin for manifestation of the mechanism to the liver damage by endotoxin especially carbohydrate metabolism and adenosine triphosphate(ATP) production in mitochondria.

A dose of 5 milligrams of endotoxin(lipopolysaccharide E. coli 026: B6, from Sigma chemical company, USA) per kg of body weight was administered through a right external jugular vein. Then the rats were killed after 3, 8, and 24 hours of injection with endotoxin to measure LDH, MDH and ICDH in serum and their liver. Alanine aminotransferase(ALT) and aspartate aminotransferase(AST) were also measured in them.

The serum and cytosolic LDH activities in rats treated with endotoxin were significantly increased between 3 hours and 24 hours.

The serum and mitochondrial MDH activities were significantly increased between 3 hours and 8 hours. But cytosolic MDH activity showed no significant change.

The ICDH activity of serum was significantly increased between 3 hours and 24 hours. But the cytosolic ICDH activity was significantly decreased between 3 hours and 8 hours. The mitochondrial ICDH activity showed no significant change.

The serum ALT activity was significantly increased after 8 hours of endotoxin intoxication than control. The cytosolic ALT activity showed no significant change. The mitochondrial ALT activity was significantly increased between 3 hours and 8 hours.

The serum AST activity was significantly increased between 3 hours and 8 hours. But the cytosolic and mitochondrial AST activities showed no significant changes.

Based on the results, the increase in the cytosolic LDH is due to the induction of LDH by hypoxia. And the cause of the increase MDH, ICDH, and ALT activities in serum is that these cytosolic or mitochondrial enzymes flowed into the blood in large quantities through damaged hepatocyte membrane by endotoxin.

Increased activity of mitochondrial ICDH activity and no change of mitochondrial MDH activity mean endotoxin decreases ATP production through direct suppression of the oxidative phosphorylation and it does not affect to the citric acid cycle.

The cause of increase in the activities of mitochondrial ICDH and mitochondrial ALT is not clear whether it is due to the increased biosynthesis or increased catalytic activities in these enzymes.

Key Words: Alanine and aspartate aminotransferase, Endotoxin, Isocitrate dehydrogenase, Lactate Dehydrogenase, Malate dehydrogenase