

주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 혈청 및 간의 Lactate Dehydrogenase 활성에 미치는 영향*

계명대학교 의과대학 생화학교실

김여희 · 안광욱 · 곽춘식

서 론

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, 1979). 이 효소는 탄수화물 대사에 관여하는 모든 장기의 세포내에 함유되어 있으며(Zimmerman, 1964) 특히 끌격근, 심, 간 및 신 등에 그 함량이 많다(Zimmerman, 1964). 그리고 세포내에서는 세포질내에 그 함량이 풍부하다(Wilkinson, 1976)고 한다. 또한 이 효소의 활성도는 심근경색증(Rotenberg 등, 1988a; Loughlin 등, 1988; Jensen 등, 1990), 간암(Zimmerman, 1964)과 각종 악성종양(Glannoulaiki 등, 1989), 폐질환(Rotenberg 등, 1988b; Rotenberg 등, 1988c), 홍역(Sugaya 등, 1987), 다발성골수종(Copur 등, 1989), 간염(Halsted, 1971b), 간경변증(Halsted, 1976b) 및 폐쇄성 황달(Halsted, 1976b)등의 질환에서 혈중에 변동이 되고 특히 흰쥐에게 담즙울체를 야기했을 때 담즙울체간에서는 이 효소의 활성도가 감소되며 이때 혈청에서는 그 활성도가 증가되는 것(곽춘식과 이상일, 1985)으로 알려져 있다.

주정(ethanol)을 장기간 섭취하면 지방간, 간염, 간경변증이 초래(Christoferson과 Poulsen, 1979; Wooddell, 1980; Sherlock, 1985b)될 수 있고 이때 간세포는 심한 형태학적 변화를 받는다(Christoferson과 Poulsen, 1979; Chang, 1985; Chang, 1987)고 한다. 그리고 주정 중독시에는 간에서 형태학적 변화가 관찰될 뿐만 아니라 대사성 변화도 야기되는 것(Ritchie, 1980; Ellenhorn과 Barceloux, 1988)으

로 알려져 있다.

간의 배설기능 장애로 간조직에 담즙울체가 야기되면 간조직은 형태학적 변화(Moritz와 Snodgrass, 1972; Desmet, 1979; 장대성 등, 1987; 김효석 등, 1989)가 나타남과 동시에 심한 물질대사의 변동도 초래된다(Kaplan과 Righetti, 1970; Toda 등, 1980; 곽춘식과 장억규, 1985; 곽춘식과 이상일, 1985; Sherlock, 1985a; 정상호와 곽춘식, 1987; 문교철과 곽춘식, 1989). 그리고 이때 간조직에서는 여러 효소의 활성이 변동되며 이들 효소들은 5'-nucleotidase(곽춘식과 장억규, 1985; 곽춘식 등, 1987), alkaline phosphatase(Kaplan과 Righetti, 1970; Righetti와 Kaplan, 1971; Toda 등, 1980; 곽춘식 등, 1987), leucine aminopeptidase(곽춘식, 1980; 정상호와 곽춘식, 1987), γ -glutamyl transpeptidase(곽춘식과 장억규, 1985; 곽춘식 등, 1987), alanine aminotransferase(김여희 등, 1989), aspartate aminotransferase(김여희 등, 1990), LDH(곽춘식과 이상일, 1985), malate dehydrogenase(곽춘식과 이상일, 1985), alcohol dehydrogenase(곽춘식 등, 1988), glutathione S-transferase(권용철 등, 1990), glutathione peroxidase(권용철 등, 1990), monoamine oxidase(문교철과 곽춘식, 1989), catalase(곽춘식 등, 1988), xanthine oxidase(곽춘식, 1985), glutathione reductase(권용철 등, 1990), microsomal ethanol oxidizing system(곽춘식 등, 1988), aldehyde dehydrogenase(곽춘식 등, 1988), α -D-mannosidase(박은미, 1990), β -D-mannosidase(박은미, 1990), β -D-glucuronidase(박은미, 1990), α -D-glucosidase(박은미, 1990) 및 β -D-glucosidase(박은미, 1990)를 들 수 있다.

근래에 와서 주정의 소비량이 늘어남에 따라 음주로 인해 야기되는 질병들이 관심의 대상이 되고

* 이 논문은 1992년도 계명대학교 을종연구비 및 동산의료원 조사 연구비로 이루어졌다.

(Bruguera 등, 1979; Christoflersen과 Poulsen, 1979; Bosron과 Li, 1980; Wooddell, 1980; Lieber, 1985; Chedid 등, 1986; Dworkin 등, 1988) 있으며 특히 주정 대사의 주된 장기인 간에 미치는 주정의 영향은 더욱 주목을 받고 있다(Liu 등, 1975; Matsuzaki와 Lieber, 1977; Wands 등, 1979; Nakano 등, 1982; Uchida 등, 1983; Chang, 1985; Savolainen 등, 1986; Chang, 1987; Eagon 등, 1987; LaBaume 등, 1987; Diehl 등, 1988; Ellenhorn과 Barceloux, 1988; Hoek 등, 1988; Venkatesan 등, 1988; Yamada 등, 1988; Hutabart와 Yost, 1989; 김여희 등, 1989; 꽈춘식 등, 1989; Casey 등, 1990; Diehl 등, 1990; 김여희 등, 1990; 김여희 등, 1991a; 김여희 등, 1991b). 따라서 음주로 인해 간질환이 유발된다(Christoflersen과 Poulsen, 1979; Wooddell, 1980; Sherlock, 1985b)는 보고가 있고 보면 간질환이 있을 때 음주를 하거나 주정 중독이 야기된다면 간조직과 혈청에서 LDH의 활성변동은 더욱 심할 것으로 생각된다. 또한 일반적으로 간담도 질환시 음주는 해롭다고 하나 그 학문적 뒷받침은 분명치 않다.

이 연구는 이러한 문제를 해결하기 위한 일환으로 시도한 실험으로서 만성 주정 중독 환쥐에게 담즙 울체를 야기시키거나 담즙울체가 진행되는 흰쥐에게 급성 주정 중독을 야기 시킨 후 혈청과 간조직에서 LDH의 활성도를 측정하여 그 성격을 비교 검

토한 것이다.

재료 및 방법

동물 및 처치: 동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280-320g 되는 Sprague-Dawley종의 숫 흰쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 다음과 같이 총 26군으로 나누었다(도 1). 즉 정상군(1 군), 총담관 결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 총담관 결찰군(총 5 군), 단순 개복술 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 가수술군(총 5 군), Eagon 등(1987)의 방법에 따라 5% (v/v) ethanol을 60일간 섭취시킨 만성 주정 중독군(1 군), 5% (v/v) ethanol을 60일간 섭취시킨 후 계속 5% ethanol을 섭취시키면서 총담관 결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 만성 주정 중독 후 총담관 결찰을 한군(총 5 군), 5% (v/v) ethanol을 60일간 섭취시킨 후 계속 5% (v/v) ethanol을 섭취시키면서 가수술 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 만성 중독 후 가수술을 한 군(총 5 군), Liu 등(1975)의 방법에 따라 체중 kg당 4g의 ethanol을 투여하고 각각 1.5 시간 및 24시간에 죽인 총담관 결찰 후 급성 주정 중독을 시킨 군(총 2 군) 등이다.

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전 후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 진양사료

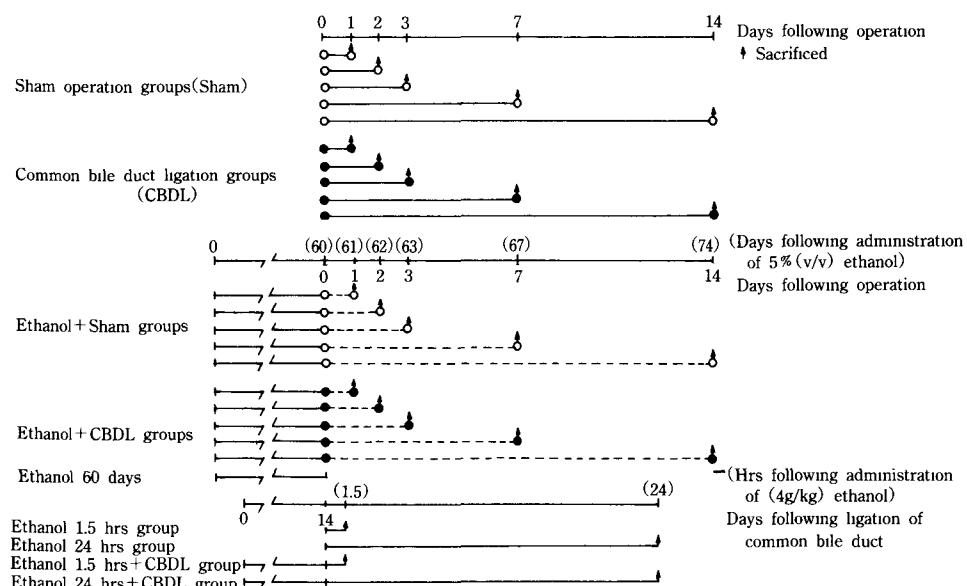


Fig 1. Experimental design.

주식회사의 실험동물 사료를 먹게 하였다.

만성 주정 중독군, 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 및 만성 주정 중독 후 총담관 결찰을 한 군에서는 물대신 5% (v/v) ethanol용액(Eagon 등, 1987)을 자유로이 먹게 하였다. 그리고 급성 주정 중독은 환쥐 체중 kg당 4g의 ethanol이 투여되도록 25% (v/v) ethanol용액을 조제(Liu 등, 1975)하여 1회 경구 투여하였다.

총담관 결찰술, 가수술 및 간적출술은 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 일정한 시간에 시행하였으며 쥐를 약 12시간 금식시킨 후 ether마취하에서 실시하였다.

총담관 결찰은 간근위부와 약 1cm 아래쪽의 원위부의 총담관을 각각 이중결찰한 후 그 중간부위를 절단하였으며 간 적출시 담관의 폐쇄상태를 확인하였다. 가수술은 단순 개복술만 시행하였다.

모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식 시킨 후 ether 마취하에서 시행하였으며 복부대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사 시킨 후 간문맥으로 삽관하여 4°C의 0.25M sucrose액으로 관류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다. 그리고 채취한 혈액은 원심분리하여 혈청을 얻고 곧 효소 활성도를 측정하였다.

시약 : DL-lactate lithium salt, phenazin metho sulfate, 2-(4-iodophenol-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyltertriazolium chloride (INT), β -NADH(reduced nicotinamide adenine dinucleotide; yeast grade III, sodium salt), β -NAD⁺(nicotinamide adenine dinucleotide; yeast grade III, disodium salt), LDH(lactic dehydrogenase, from bovine heart) 및 표준단백액(10g/100ml, bovine albumin)등은 Sigma사의 제품을 사용하였다. 그외 일반 시약들은 특급 또는 일급 품을 사용하였다.

효소시료 조제 : 적출한 간을 즉시 2-4°C로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 그중 3g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣어 teflon glass homogenizer(Thomas사 제품 chamber clearance 0.05-0.007 inch)로 2-4°C를 유지하면서 400rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10w/v%의 간조직 균질액을 만들었다. 그리고는 이 간균질액 20ml를 취하여 sucrose linear density gradient 원

심분리법(곽춘식과 곽정식, 1986)으로 세포질 분획을 분리하였다. 즉 간조직 균질액을 571× g(average relative centrifugal force, 이하 생략함)에서 10분간 원심분리하여 조직의 미마쇄부분, 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 세포질 분획으로 사용하였다.

위의 세포질 분리 과정에서 모든 조작은 2-4°C에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-65 B ultracentrifuge였다. 그리고 세포질 분획의 분리에 사용한 rotor는 Du Pont Sorvall사의 T865 rotor였다.

효소활성도 측정 : 혈청 및 간의 LDH활성도 측정은 L-lactate를 기질로 하고 조효소로서 NAD⁺를 중간전자운반체로 phenazine methosulfate를 그리고 발색시약으로 INT를 사용하여 37°C에서 5분간 반응시켜 생성되는 formazan의 자색을 비색적량하는 Babson과 Philips(1965)의 방법에 의하였으며 단위는 Wróblewski(1955)단위로 환산하여 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소활성도 측정법은 그 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 표준 효소를 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대하여 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다.

이 실험에서 LDH활성도 측정에 사용한 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer(Varian, Cary 210)였다.

단백정량 : 효소시료 중의 단백정량은 0.5N perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3:1)으로 단백을 정제하는 Greenberg와 Rothstein(1957)법으로 효소시료 중의 단백을 정제한 다음 biuret법(Gornall, 1949)으로 정량하였다.

성적검정 : 유의성 검정은 Student's t-test (Scheffler, 1980)로 하였다.

성 적

만성 주정 중독 환쥐에서 총담관 결찰이 간의 LDH 활성도에 미치는 영향 : 만성 주정 중독을 시킨 환쥐에게 계속 5% (v/v)ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때 간의 LDH활성도 변동은 표 1과 같다.

쥐간의 LDH활성도는 만성 주정 중독 군, 가수술

Table 1. Effect of common bile duct ligation on liver lactate dehydrogenase(LDH) activities in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s) following operation	LDH activities (Wröblewski unit mg protein ⁻¹)			
	(Normal; 2,176±322, Ethanol; 2,167±318)			
	Sham	CBDL	Ethanol + Sham	Ethanol + CBDL
1	2,166±303	2,185±232	2,162±312	2,172±286
2	2,168±297	1,717±294 ^a	2,173±306	1,768±214 ^d
3	2,156±334	1,588±342 ^a	2,159±297	1,643±272 ^d
7	2,164±348	1,406±218 ^b	2,165±321	1,474±226 ^e
14	2,152±326	1,322±224 ^b	2,168±318	1,410±245 ^e

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, d; P<0.05 vs. Ethanol + Sham,
e; P<0.01 vs. Ethanol + Sham

Table 2. Effect of common bile duct ligation on liver lactate dehydrogenase(LDH)activities in acute ethanol intoxicated rats

LDH activities (Wröblewski unit mg protein ⁻¹)					
Normal	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5 hrs + CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs + CBDL
2,176 ± 322	1,322 ± 224 ^k	2,234 ± 342	1,536 ± 457 ⁿ	2,267 ± 363	1,524 ± 460 ^q

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

Animal groups are described in Fig. 1.

k; P<0.01 vs. Normal, n; P<0.05 vs. Ethanol 1.5 hrs, q; P<0.05 vs. Ethanol 24 hrs

군 및 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 등에서
는 별 변동을 나타내지 않았다.

정상쥐의 총단관을 결찰한 군에서는 대조군인 가
수술군에 비해 이 효소의 활성도가 총담관결찰 후
2일에는 약 21%(p<0.05), 3일에는 약 26%(p<
0.05), 7일에는 약 32%(p<0.01), 14일에는 약 35%
(p<0.01)의 감소를 나타내었다. 그러나 총담관을 결
찰한 군과 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군
을 상호 비교 했을 때 이 효소 활성도는 별 차이
가 없었다.

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 간
의 LDH활성도에 미치는 영향 : 흰쥐에서 총담관
을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때
간 LDH활성도의 변동은 표 2와 같다.

쥐간의 LDH활성도는 급성 주정 중독을 시켰을
때 별 변동이 없었다. 그리고 간의 LDH활성도는
총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결

찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때 대조군인
정상군이나 급성 주정 중독만 시킨 군에 비해 유
의한 감소를 나타내었다. 그러나 이 효소 활성도는
총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과
총담관결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 상
호간에 별 차이가 없었다.

만성 주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 혈청
LDH 활성도에 미치는 영향 : 만성 주정 중독을
시킨 흰쥐에게 계속 5%(v/v)ethanol을 먹이면서 총
담관을 결찰했을 때 혈청 LDH활성도의 변동은 표
3과 같다.

쥐 혈청의 LDH활성도는 만성 주정 중독 군, 가
수술군 및 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군 등
에서는 별 변동을 나타내지 않았다. 그리고 총담관
을 결찰한 군과 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰
한 군에서는 혈청에서 이 효소의 활성도가 그 대조
군인 가수술군이나 만성 주정 중독 후 가수술을 한

Table 3. Effect of common bile duct ligation on serum lactate dehydrogenase(LDH) activities in chronic ethanol intoxicated rats

Day(s) following operation	LDH activities (Wróblewski unit ml^{-1})			
	Sham	(Normal; 483±172, Ethanol; 494±167)		
		CBDL	Ethanol + Sham	Ethanol + CBDL
1	494±163	1,876±201 ^c	628±202	2,029±422 ^f
2	486±167	1,074±362 ^a	512±172	1,865±361 ^{fh}
3	493±174	1,038±204 ^b	492±168	1,388±305 ^f
7	483±176	935±297 ^a	488±181	1,253±345 ^e
14	496±165	906±239 ^a	490±176	1,178±367 ^e

All values are expressed as mean \pm 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, e; P<0.01 vs.

Ethanol + Sham, f; P<0.001 vs. Ethanol+Sham, h; P<0.01 vs. CBDL

Table 4. Effect of common bile duct ligation on serum lactate dehydrogenase(LDH) activities in acute ethanol intoxicated rats

Normal	LDH activities (Wróblewski unit ml^{-1})				
	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5 hrs + CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs + CBDL
483 \pm 172	906 \pm 239 ^j	567 \pm 234	1,196 \pm 358 ⁿ	602 \pm 277	1,450 \pm 489 ^f

All values are expressed as mean \pm 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 1.5 hrs, r; P<0.01 vs. Ethanol 24 hrs

군에 비해 실험 전기간동안 현저한 증가를 나타내었다. 즉 이 효소의 활성도가 총담관을 결찰한 군에서는 대조군인 가수술 군에 비해 수술 후 1일에는 약 279% ($p<0.001$), 2일에는 약 121% ($p<0.05$), 3일에는 약 111% ($p<0.01$), 7일에는 약 94% ($p<0.05$), 14일에는 약 83% ($p<0.05$) 증가를 나타내었으며 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군에서도 그 대조군인 만성 주정 중독 후 가수술을 한 군보다 수술 후 1일에는 약 223% ($p<0.001$), 2일에는 약 264% ($p<0.001$), 3일에는 약 182% ($p<0.001$), 7일에는 약 157% ($p<0.01$), 14일에는 약 140% ($p<0.01$)의 증가를 나타내었다. 그리고 총담관결찰 군과 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군을 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 실험 전기간 동안 이 효소의 활성도가 더 높았다.

총담관을 결찰한 환쥐에서 급성 주정 중독이 혈청의 LDH활성도에 미치는 영향 : 환쥐에게 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때 혈청 LDH활성도의 변동은 표 4와 같다.

쥐 혈청의 LDH활성도는 급성 주정 중독을 시켰을 때 별 변동이 없었다. 그리고 혈청의 이 효소활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이나 다같이 정상군 또는 그 대조군인 급성 주정 중독만 시킨 군에 비해 현저한 활성증가를 나타내었다. 그리고 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과 총담관결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 총담관결찰 후 14일 경과한 군보다 그 활성도가 더 높았다.

고 찰

간은 물질대사의 중추 기관으로서 대단히 복잡하고 다양한 기능을 가진 장기이며(Sherlock, 1985 a) 체외로부터 흡수되거나 체내에서 생성된 유해물질을 해독하여 배설시키는 해독기구를 가짐으로서 생체를 보호하고 있다(Jakoby 등, 1982). 그러나 이러한 기능을 가진 간이라 하더라도 장기간 음주를 하면 간은 지방간, 간염, 간경변증등의 병변이 야기될 수 있으며(Christofersen과 Poulsen, 1979; Woodell, 1980; Sherlock, 1985b) 이때 간세포는 심한 형태학적 및 생화학적 변화를 받는다(Christofersen과 Poulsen, 1979; Chang, 1985; Chang, 1987)고 한다. 그리고 이러한 변화는 주로 mitochondria와 endoplasmic reticulum에서 관찰되며 mitochondria에서 나타나는 변화는 종창, 변형 및 cristae의 배열문란 등이고 endoplasmic reticulum에서 나타나는 변화로는 smooth endoplasmic reticulum의 증식을 들 수 있다. 이외에도 Mallory소체 증식과 간세포의 괴사를 수반하는 형태학적 변화도 관찰된다. 또한 체내에 흡수된 주정은 간에서 대사되며 이 대사과정은 ethanol이 acetaldehyde로 산화되고 다시 acetate로 산화되어 이용된다.(Bosron과 Li, 1980; Lieber, 1985). 특히 이러한 대사과정에서 생성된 acetaldehyde는 간세포의 세포막 손상과 세포 자체의 괴사를 초래하는 것(Sherlock, 1985b)으로 알려져 있다. 또한 이와 같이 음주로 인한 간손상이 있을 때 간에서 일어나는 대사성 변화로는 lactate의 생산증가, pyruvate의 생성감소, 지방산의 합성촉진, 지방산의 산화감소 및 구연산 회로의 활성저하 등을 들 수 있다(Ritchie, 1980; Ellenhorn과 Barceloux, 1988).

한편 간조직에 담즙을 체가 야기되는 경우는 원발성 담즙성 간경변증, 담관염, 담즙을체형 간염, 선천성 담도폐쇄, 종양이나 담석에 의한 담도폐쇄 등(Halsted, 1976a)이며 이와 같은 간담도 질환시 간조직은 괴사, 담도증식, 섬유화 및 경화성 변화 등 형태학적 변화와 아울러 심한 간세포의 기능 장애도 나타난다(Desmet, 1979).

흰쥐의 총담관을 결찰하면 간은 담즙을체가 되고 시간이 경과함에 따라 담즙을체간은 괴사, 담도증식, 섬유화 및 경화성 변화가 나타나며(Moritz와 Sondgrass, 1972; 장대성 등, 1987; 김효석 등, 1989). 이때 간은 배설기능이 저하된다. 이와 같이 담즙을체로

간의 배설기능이 저하되면 간세포에 존재하는 alkaline phosphatase(Kaplan과 Righetti, 1970; Righetti와 Kaplan, 1971; Toda 등, 1980; 꽈춘식 등, 1987) 및 γ -glutamyl transpeptidase(곽춘식과 장억규, 1985; 꽈춘식 등, 1987)는 그 활성이 증가되며 alanine aminotransferase(곽춘식과 장억규, 1985; 김여희 등, 1990) 및 LDH(곽춘식과 이상일, 1985) 등은 그 활성이 감소된다고 한다. 이러한 담즙을체간에서 그 활성이 증가되는 효소들은 담즙을체시 그 합성이 증가(Kaplan과 Righetti, 1970; Righetti와 Kaplan, 1971; Toda 등, 1980; 꽈춘식과 이상일, 1985; 꽈춘식 등, 1987; 문교철과 꽈춘식, 1989)되며 담즙을체간에서 그 활성이 감소되는 효소들은 간외로 누출이 증가되어 나타난 결과(곽춘식과 장억규, 1985; 꽈춘식과 이상일, 1985)라고 한다.

이상과 같이 주정 중독 또는 담즙을체로 간손상이 야기되면 형태학적 및 생화학적 변화가 야기되므로 주정 중독시 담즙을체가 야기되면 간 손상의 정도는 더욱 심해질 것이다. 따라서 이 실험에서와 같이 급성 및 만성 주정 중독시 간에 담즙을체를 야기시킨다면 혈청과 간조직에서 LDH활성도의 변동은 더욱 심해질 것이다.

김여희 등(1989, 1990, 1991a, 1991b)은 흰쥐에게 급성 및 만성 주정 중독을 시키고 간에 담즙을체를 야기시켰을 때 간조직의 alanine aminotransferase, asparatate aminotransferase, alkaline phosphatase 및 leucine aminopeptidase가 혈중으로 다량 누출되었다고 하였으며 이 성적은 담즙을체로 인한 간세포의 손상이 주정 중독으로 증폭되어 나타난 결과라 하였다. 따라서 이를 연구자의 보고는 위의 추론을 한층 더 뒷바침하는 자료라 생각된다.

이 실험에서 정상쥐나 만성 주정 중독 쥐의 총담관을 결찰했을 때 간의 LDH활성도는 총담관 결찰 후 2일부터 14일까지 유의한 활성감소를 나타내었다. 그리고 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군과 정상쥐의 총담관을 결찰한 군과 이 효소의 활성도를 비교했을 때는 양군간에 별 차이가 없었다.

또한 이 실험에서 쥐간의 LDH활성도는 총담관을 결찰하고 14일경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때 다같이 정상군이나 그 대조군인 급성 주정 중독을 시킨군에 비해 유의한 활성감소를 나타내었다. 그러나 이 효소들은 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과 총담관결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 별 차

이가 없었다.

이상 이 실험의 성적을 보면 담즙울체시 급성 또는 만성 주정 중독을 시켰을 때 간의 LDH활성도에 미치는 영향은 담즙울체에 의한 영향만 나타날 뿐 주정 중독에 의한 영향은 나타나지 않는다는 것을 알 수 있다.

이 실험에서 정상쥐의 총담관을 결찰했을 때와 만성 주정 중독 쥐의 총담관을 결찰했을 때 혈청의 LDH활성도는 실험 전기간 동안 현저한 활성도 증가를 나타내었으며 양군간에 그 활성도를 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 실험 전기간 동안 이 효소의 활성도가 더 높았다.

또한 이 실험에서 혈청의 이 효소활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관 결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 다같이 정상군 또는 그 대조군인 급성 주정 중독만 시킨 군에 비해 현저한 활성증가를 나타내었다. 그리고 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과 총담관결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 총담관결찰 후 14일 경과한 군보다 그 활성도가 더 높았다.

이 성적은 급성 및 만성 주정 중독시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때 보다 간 손상의 증폭으로 간의 LDH가 간외로 누출이 심해진다는 것을 보여주는 결과라 할 수 있으며 또한 ethanol이 생체 세포의 세포막과 세포소기관막의 투과성을 증가시킨다는 보고(Geokas와 Rinderknecht, 1973)도 있고 보면 이 사실은 더욱 확실하다고 하겠다.

이상 문현상의 지견과 성적으로 보아 간의 LDH는 담즙울체시 급성 또는 만성 주정 중독이 야기되면 그 활성도가 담즙울체만 있을 때와 마찬가지로 감소되나 주정 중독에 의한 영향은 나타내지 않는 것으로 보인다. 그러나 급성 및 만성 주정 중독 시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때보다 간 손상이 증폭되므로 간에서 이들 효소의 누출이 증가되는 것으로 생각된다. 따라서 이 성적은 담즙울체로 간손상이 있을 때는 음주를 해서는 안된다는 것을 뒷바침하는 자료라 할 수 있다.

요 약

이 연구는 간담도 질환시 음주의 해로움에 대한

생화학적 배경의 일단을 밝히고자 시행한 실험으로서 급성 및 만성 주정 중독을 시킨 흰쥐에게 총담관 결찰로 담즙울체를 야기시켜 혈청과 간의 lactate dehydrogenase(LDH)활성도를 측정한 것이다.

흰쥐에게 급성 및 만성 주정 중독을 시켰을 때 간과 혈청의 LDH활성도는 변동을 나타내지 않았다.

정상쥐의 총담관을 결찰했을 때 간의 LDH활성도는 총담관결찰 후 2일부터 14일까지 유의한 활성감소를 나타내었다. 그리고 총담관을 결찰한 군과 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군을 비교했을 때는 이 효소활성도는 별 차이가 없었다.

쥐간의 LDH활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시켰을 때 다같이 정상군이나 그 대조군인 급성 주정 중독을 시킨 군에 비해 유의한 활성감소를 나타내었다. 그러나 이 효소는 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과 총담관결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 별 차이가 없었다.

정상쥐의 총담관을 결찰했을 때와 만성 주정 중독 쥐의 총담관을 결찰했을 때 혈청의 LDH활성도는 실험 전기간 동안 현저한 활성도 증가를 나타내었으며 양군간에 그 활성도를 비교했을 때는 만성 주정 중독 후 총담관을 결찰한 군이 총담관만 결찰한 군보다 실험 전기간 동안 이 효소의 활성도가 더 높았다.

또한 혈청의 이 효소활성도는 총담관을 결찰하고 14일 경과한 군이나 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 다같이 정상군 또는 그 대조군인 급성 중독만 시킨 군에 비해 현저한 활성증가를 나타내었다. 그리고 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군과 총담관결찰 후 14일 경과한 군과 비교했을 때는 총담관결찰 14일 후 급성 주정 중독을 시킨 군이 총담관결찰 후 14일 경과한 군보다 그 활성도가 더 높았다.

이상 성적으로 보아 급성 및 만성 주정 중독시 담즙울체가 야기되면 담즙울체만 있을 때 보다 간 손상이 증폭되므로 간에서 이 효소의 누출이 증가되는 것으로 생각된다. 따라서 이 성적은 담즙울체로 간손상이 있을 때는 음주를 해서는 안된다는 것을 뒷바침하는 자료라 할 수 있다.

참 고 문 헌

- Babson AL, Philips GE: A rapid colorimetric assay for serum lactic dehydrogenase. *Clin Chim Acta* 1965; 12: 210-215.
- Bosron WF, Li TX: Alcohol dehydrogenase, in Jakob WB(ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*, New York, Academic Press, 1980, Vol 1, pp 231-244.
- Bruguera M, Bertran A, Bombi J, et al: Giant mitochondria in hepatocytes. A diagnostic hint for alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1979; 73: 1383-1387.
- Casey CA, Kragskow SL, Sorrell MF, et al: Effect of chronic ethanol administration on total asialoglycoprotein receptor content and intracellular processing of asialoorosomucoid in isolated rat hepatocytes. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1052: 1-8.
- 장대성, 곽정식, 손태중: 총담관결찰에 의한 담관 중식성 변화의 초미형태학적 연구. 경북의대잡지 1987; 28: 113-122.
- Chang ES: Light and electron microscopic studies of liver biopsies on alcoholic patients. *J Clin Electron Microsc* 1985; 18: 331-347.
- Chang ES: Ultrastructural morphogenesis of mitochondria in alcoholic liver. *Acta Pathol Jpn* 1987; 37: 213-224.
- Chedid A, Mendenhall CL, Tosch T, et al: Significance of mega mitochondria in alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1986; 90: 1858-1864.
- Christofersen P, Poulsen H: Alcoholic liver disease, in MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ(eds): *Pathology of the Liver*, New York, Churchill Livingstone Inc, 1979, pp 232-244.
- 정상호, 곽준식: 흰쥐 담즙율체간의 Leucine Aminopeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1987; 6: 210-221.
- 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.
- Desmet VJ: Cholestasis; extrahepatic obstruction and secondary biliary cirrhosis, in MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer, PJ(eds): *Pathology of the Liver*. New York, Churchill Livingstone Inc, 1979, pp 272-305.
- Diehl AM, Goodman Z, Ishak KG: Alcohol-like liver disease in nonalcoholics. A clinical and histologic comparison with alcohol-induced liver injury. *Gastroenterology* 1988; 95: 1056-1062.
- Diehl AM, Wells M, Brown ND, et al: Effect of ethanol on polyamine synthesis during liver regeneration in rats. *J Clin Invest* 1990; 85: 385-390.
- Dworkin BM, Rosenthal WS, Stahl RE, et al: Decreased hepatic selenium content in alcoholic cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1988; 33: 1213-1217.
- Eagon PK, Willet JE, Seguiti SM: Androgen responsive functions of male rat liver. Effect of chronic alcohol ingestion. *Gastroenterology* 1987; 93: 1162-1169.
- Ellenhorn MJ, Barceloux DG: *Medical Toxicology Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*, New York, Elsevier Science Publishing Co, Inc, 1988, pp 782-796.
- Geokas MC, Rinderknecht H: Plasma arylsulfatase and β -glucuronidase in acute alcoholism. *Clin Chim Acta* 1973; 46: 27-32.
- Glannouliki 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, Bardavill CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J Biol Chem* 1949; 177: 751-766.
- Greenberg DM, Rothstein M: Method for isolation and degradation of labelled compounds, in Colowick SP, Kaplan ND(eds): *Method in Enzymology*. New York, Academic Press, 1957, Vol 4, pp 708-731.
- Halsted JA: *The Laboratory in Clinical Medicine, Interpretation and Application*. London, Saunders Co, 1976a, pp 426-429.
- Halsted JA: *The Laboratory in Clinical Medicine, Interpretation and Application*. London, Saunders Co, 1976b, pp 533-535.
- Hoek JB, Rubin R, Thomas AP: Ethanol-induced phospholipase C activation is inhibited by phorbol esters in isolated hepatocytes. *Biochem J* 1988; 251: 865-871.
- Hutabarat RM, Yost GS: Purification and characterization of an ethanol-induced UDP-glucuronosyltransferase. *Arch Biochem Biophys* 1989; 273: 16-25.

- Jakoby WB, Bend JR, Caldwell J: *Metabolic Basis of Detoxication. Metabolism of Functional Groups*, New York, Academic Press, 1982, pp 5-317.
- Kaplan MM, Righetti A: Induction of rat liver alkaline phosphatase: The mechanism of serum elevation in bile duct obstruction. *J Clin Invest* 1970; 49: 508-516.
- Kim BK: *Enzyme Nomenclature*, IUB. New York, Academic Press, 1979, pp 32-33.
- 김효석, 박재웅, 김은영, 곽규식, 최용한, 정준모 : 총담관결찰시 간세포의 초미형태학적 변화. 대한 내과학회잡지 1989; 36: 459-470.
- 김여희, 곽춘식, 정성광 : Ethanol중독 환쥐에서 총 담관결찰이 혈청 및 간의 Alanine Aminotransferase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1989; 8: 113-121.
- 김여희, 곽춘식, 정성광 : Ethanol중독 환쥐에서 총 담관결찰이 혈청 및 간의 Aspartate Aminotransferase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1990; 9: 87-95.
- 김여희, 이숙형, 곽춘식, 문교철 : 주정 중독 환쥐에서 총 담관결찰이 혈청 및 간의 Alkaline Phosphatase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1991a; 10: 18-27.
- 김여희, 박은미, 곽춘식 : Ethanol중독 환쥐에서 총 담관결찰이 혈청 및 간의 Leucine Aminopeptidase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1991b; 10: 196-207.
- 곽춘식 : 총수담관을 결찰한 환쥐의 혈청 및 간장의 Leucine Aminopeptidase에 미치는 Actinomycin D의 영향. 경북의대잡지 1980; 21: 126-134.
- 곽춘식 : 환쥐 담즙울체간의 Xanthine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집. 1985; 4: 125-130.
- 곽춘식, 장억규 : 환쥐 담즙울체 간장의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성 치. 계명의대논문집 1985; 4: 1-27
- 곽춘식, 김여희, 문교철 : 환쥐 담즙울체간에서의 알 콜대사 효소들의 활성치. 계명의대논문집 1988; 7: 64-75.
- 곽춘식, 김여희, 문교철 : 환쥐 담즙울체간의 Plasma Membrane, Mitochondria 및 Microsome의 5'-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성 치. 계명의대논문집 1987; 6: 67-76.
- 곽춘식, 곽정식 : 환쥐 간세포 분획법. I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 1986; 5: 45-53.
- 곽춘식, 이상일 : 환쥐 담즙울체간의 Malate Dehydrogenase의 활성 치. 계명의대논문집 1985; 4: 131-137.
- 곽춘식, 박은미, 문교철, 김여희 : Ethanol중독 환쥐에서 총담관결찰이 간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Peroxidase 및 Glutathione Reductase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1989; 8: 268-281.
- 권용철, 문교철, 곽춘식 : 환쥐 담즙울체간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Reductase 및 Glutathione Peroxidase의 활성도. 계명의대논문집 1990; 9: 159-170.
- LaBaume LB, Merrill DK, Glary GL, et al: Effect of acute ethanol on serine biosynthesis in liver. *Arch Biochem Biophys* 1987; 256: 569-577.
- 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.
- Liu SJ, Ramsey RK, Fallon HJ: Effect of ethanol on hepatic microsomal drug metabolizing enzymes in the rat. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 369-378.
- 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.
- Matsuzaki S, Lieber CS: Increased susceptibility of hepatic mitochondria to the toxicity of acetaldehyde after chronic ethanol consumption. *Biochem Biophys Res Commun* 1977; 75: 1059-1065.
- Moritz M, Snodgrass PJ: Serum enzymes derived from liver cell fraction. II. Responses to bile duct ligation in rats. *Gastroenterology* 1972; 62: 93-100.
- 문교철, 곽춘식 : 환쥐 담즙울체간의 Monoamine Oxidase의 활성 치. 계명의대논문집 1989; 8: 69-77.
- Makano M, Worner TM, Lieber CS: Perivenular fibrosis in alcoholic liver injury: Ultrastructure and histologic progression. *Gastroenterology* 1982; 83: 777-785.
- 박은미 : 환쥐 담즙울체간의 α -D- 및 β -D-Mannosidase, α -D- 및 β -D-Glucosidase와 β -D-Glucuronidase의 활성도. 계명대학교대학원, 박사학위논문, 1990, pp 1-55.
- Righetti ABB, Kaplan MM: Effects of actinomycin D on rat liver alkaline phosphatase. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971; 136: 491-495.
- 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.
- 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.
- Savolainen MJ, Baraona E, Leo MA, et al: Pathogenesis of the hypertriglyceridemia at early stages of alcoholic liver injury in the baboon. *J Lipid Res* 1986; 27: 1073-1083.
- Scheffler WC: *Statistics for the Biological Sciences*, ed 2. USA Menlo Park, Addison-Wesley Publishing Company, 1980, pp 84-89.
- Sherlock DS: *Diseases of the Liver and Biliary System*, ed 7. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985a, pp 1-14.
- Sherlock DS: *Diseases of the Liver and Biliary System*, ed 7. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985b, pp 346-360.
- Sugaya N, Takeuchi Y, Kanno T: Increased lactate dehydrogenase in serum in measles infection. *Clin Chem* 1987; 33: 661-663.
- Toda G, Ikeda Y, Kako M, et al: Mechanism of elevation of serum alkaline phosphatase activity in biliary obstruction: An experimental study. *Clin Chim Acta* 1980; 107: 85-96.
- Uchida T, Kao H, Quispe-Sjogren M, et al: Alcoholic foamy degeneration. A pattern of acute alcoholic injury of the liver. *Gastroenterology* 1983; 84: 683-692.
- Venkatesan S, Ward RJ, Peters TJ: Effect of chronic ethanol feeding on the hepatic secretion of very-low-density lipoproteins. *Biochem Biophys Acta* 1988; 960: 61-66.
- Wands JR, Carter EA, Bucher NLR, et al: Inhibition of hepatic regeneration in rats by acute and chronic ethanol intoxication. *Gastroenterology* 1979; 77: 528-531.
- Wilkinson JH: *The Principles and Practice of Diagnostic Enzymology*, London, Edward Arnold, 1976, pp 46-54.
- Wooddell WJ: Liver disease in alcohol addicted patients. in Davidson SV(ed); *Alcoholism and Health*. Century Boulevard, Aspen System Co, 1980, pp 125-134.
- Wróblewski F, LaDue JS: Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc Soc Exp Biol Med* 1955; 90: 210-213.
- Yamada S, Fujiwara K, Masaki N, et al: Evidence for potentiation of lipid peroxidation in the rat liver after chronic ethanol feeding. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48: 627-632.
- Zimmerman JH: Serum enzymes in the diagnosis of hepatic disease. *Gastroenterology* 1964; 46: 613-618.

=Abstract=

Effect of Common Bile Duct Ligation on Serum and Liver Lactate Dehydrogenase Activities in Ethanol Intoxicated Rats

You Hee Kim, MD; Kwang Wook Ahn, MD;
Chun Sik Kwak, PhD

*Department of Biochemistry, Keimyung University
School of Medicine, Teagu, Korea*

The activities of the liver and serum lactate dehydrogenase were studied when cholestasis was induced by common bile duct (CBD) ligation in rats and chronic ethanol intoxication developed, or cholestasis following acute ethanol intoxication for manifestation of the biochemical background of alcohol intoxication in hepatobiliary disease.

There was no significant change in the liver and serum lactate dehydrogenase activities of rats treated with both acute or chronic ethanol intoxication.

The liver lactate dehydrogenase activity showed a significant decrease at the 2nd, 3rd, 7th and 14th days following the ligation in both the groups with the ligation following the chronic ethanol intoxication and the groups only with CBD ligation.

The acute intoxication with ethanol which was done after 14 days of the CBD ligation, the rats liver lactate dehydrogenase activities decreased considerably and the same was seen in the group with the 14th day following the CBD ligation.

The groups that received CBD ligation after being chronically intoxicated with ethanol showed a marked increase at the 1st, 2nd, 3rd, 7th and 14th days following the ligation in the sera lactate dehydrogenase activities. However, the activities showed a far higher degree than groups of the CBD ligation. For the groups of acute intoxication with ethanol done after 14 days of the CBD ligation, the sera lactate dehydrogenase activities increased markedly, but the activities showed a higher degree than the group with the 14th day following the CBD ligation.

According to the above results, when the acute and chronic ethanol intoxication with cholestasis occurred, the sera lactate dehydrogenase activities are higher than in cholestasis because of increased liver cell damage, which causes the enzyme to leak into the blood in great quantity. Accordingly, these results will be the data supporting alcoholic drink is enzymologically harmful in hepatobiliary disease.

Key Words: Cholestasis, Ethanol intoxication, Lactate dehydrogenase