

## 흰쥐에게 내독소의 비경구 투여가 혈청 및 간의 Alcohol Dehydrogenase, Catalase 및 Aldehyde Dehydrogenase 활성 변동에 미치는 영향\*

계명대학교 의과대학 생화학교실

### 문교철 · 배시우 · 곽춘식

#### 서 론

Gram 음성균의 감염에서 독성을 나타내는 인자로 알려진 내독소는 균체의 세포벽에 존재하는 일종의 lipopolysaccharide(Bradley, 1979)로 알려져 있으며 이 lipopolysaccharide를 이용하여 생체에 대한 내독소의 영향을 알아 보려는 실험들이 시행되어 왔으나 아직도 내독소의 독성에 관한 분자 생물학적 기전은 완전히 규명되어 있지 않다.

이러한 내독소의 해독 기전중 망상내피계에 의한 내독소 제거설(Benacerraf와 Sebenstyen, 1957; Rutenberg 등, 1967)이 인정을 받고 있으며 이 망상내피계 중에서 간이 내독소 제거에 가장 큰 기능을 하는 것으로 알려져 있다.

Alcohol dehydrogenase(alcohol: NAD<sup>+</sup> oxidoreductase, EC 1.1.1.1, ADH)는 해독 효소(Borson과 Li: 1980)로써 alcohol을 산화시키며 주로 포유동물 간세포의 세포질에 고농도로 편재되어 있다(Li, 1977). Catalase(hydrogen-peroxide: hydrogen peroxide oxidoreductase, EC 1.11.1.6)도 해독 효소(Hassan과 Fridovich, 1980)로서 간 세포의 peroxisome에 많이 함유되어 있으며(Lazarow와 de Duve, 1973) 주로 과산화수소의 분해를 촉매하고 있으나 ethanol의 산화 과정에서도 촉매를 담당하고 있다(Li, 1977; Cederbaum와 Qureshi, 1982). 또한 aldehyde dehydrogenase(aldehyde: NAD<sup>+</sup> oxidoreductase, EC 1.2.1.3, ALDH)는 해독 효소(Weiner, 1980)로써 aldehyde의 산화를 촉매하며 포유동물 간의 세포질, mitochondria 및 endoplasmic reticulum에 많은 양이 발견되는 효소이다(Koivula, 1975). 이와같이 이들 효소는 모두 해독 효소의 한 종류로서 간조직에서 합성이 왕성하며 그 함유량도 많다.

따라서 간은 내독소의 해독에 중심이 되는 역할을 할 뿐만 아니라 이를 해독 효소가 다량 함유되어 있으므로 내독소를 투여했을 때는 이들의 활성도가 변동될 것으로 생각된다. 그러나 내독소 투여 간에서 이들 효소의 활성도 변동에 대한 보고는 아직 찾아 볼 수 없었다.

이 연구는 내독소 투여 후 간의 해독 능력의 일단을 알아 보기 위해 시행한 실험으로서 흰쥐에게 내독소를 혈중으로 주입하고 경시적으로 간의 세포질과 혈청에서 ADH 활성도를, 그리고 간 조직의 catalase와 간 세포질, microsome 및 mitochondria에서 ALDH의 활성도를 각각 측정하여 그 성격을 보고코자 한다.

#### 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 생리적 식염수를 체중 kg당 1.25ml를 우 경정액으로 주입하였으며 내독소 주입군은 김정희 등(1987)의 방법에 따라 Sigma사의 내독소 (*E.coli*, O26: B6, lipopolysaccharide, Sigma, USA)를 생리적 식염수에 4mg/ml의 농도로 녹여 체중 kg당 1.25ml(5mg/kg)를 우 경정액으로 주입하였다.

시약:  $\beta$ -Nicotinamide adenine dinucleotide( $\beta$ -

\* 이 논문은 1993년도 계명대학교 을종연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어졌음.

NAD<sup>+</sup>, from yeast, grade III),  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide reduced form ( $\beta$ -NADH, from yeast, grade III, disodium salt), N, N-dimethyl-p-nitrosoaniline,  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADP<sup>+</sup>, monosodium salt, from yeast Sigma grade) glycine, pyrazole, propionaldehyde, sodium deoxycholic acid, n-butanol, alcohol dehydrogenase (from equine liver A6128), aldehyde dehydrogenase (from baker's yeast A5550), catalase (from bovine liver C3155) 및 표준 단백액 (10g/ml, bovine albumin) 등은 Sigma 사의 제품을 사용하였으며 그 외 일반 시약들은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

**간 적출 및 세포 분획:** 모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether마취하에서 시행하였으며 복부 대동맥으로 부터 채혈하여 쥐를 실혈사시켰다. 그리고는 간 문맥에 삼관한 후 4°C의 0.25M sucrose액으로 관류하여 간에 남아있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아있는 sucrose액을 가능한 모두 제거하였다.

한편 채혈한 혈액은 원심분리하여 혈청은 얻고 곧 ADH 활성도를 측정하였다.

간의 세포분획은 적출한 간들을 즉시 24가로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 5g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣은 다음 teflon glass homogenizer (Thomas사 제품, chamber clearance 0.005–0.007 inches)로 2~4°C를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10w/v%의 간 조직균질액을 만들었다. 그리고는 이 간 균질액 40ml를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법(광춘식과 광정식, 1986)으로 cytosol, mitochondria 및 microsome분획을 분리하였다.

위의 세포 분획법에서 모든 조작은 2~4°C에서 시행하였으며 이때 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 그리고 이때 사용한 rotor는 Du Pont Sorvall사의 SS-34 및 T865 rotor 옆고 sucrose linear density gradient 용액의 제조는 gradient former (ISCO model 570)를 사용하였다.

**효소 활성도 측정:** Cytosol에서 ADH활성도의 측정은 ethanol과 NAD<sup>+</sup>를 기질로 사용하여 37°C에서 3분간 반응시키는 동안에 NAD<sup>+</sup>가 340nm 파장에서 최대흡수대를 갖는 NADH로 환원되는 양을 측정하는 Koivula등(1975)의 방법에 의하였으며 이때 반응액 4ml에는 140 μmol glycine-sodium hydroxide 완충액(pH 9.6), 40μmol ethanol, 2.68 μmol NAD<sup>+</sup> 및 cytosol 분획 0.1ml가 함유되도록 하였다. 그리고 이 효소 활성도의 단위는 1분간에 1mg의 단백이 반응하여 생성한 NADH를 nmol로 나타내었다.

혈청에서 ADH활성도의 측정은 n-butanol과 N, N-dimethyl-p-nitrosoaniline을 기질로 사용하여 25°C에서 20분간 반응시키는 동안에 440nm에서 N, N-dimethyl-p-nitrosoaniline이 탈색되어 감소하는 흡광도로써 ADH 활성도를 측정하는 Skursky등(1979)의 방법에 의하였으며 반응액 1.5ml에는 0.1 mmol sodium phosphate 완충액(pH 8.5), 2.5 nmol N, N-dimethyl-p-nitroaniline, 0.25 μmol NAD<sup>+</sup>, 10nmol NADH 및 혈청 0.25ml를 넣고 25°C에서 20분간 반응 시킨 후 12.5μmol pyrazol을 넣어 반응을 종료시켰다. 그리고 이 효소 활성도의 단위는 1분간에 1ml의 혈청이 반응하여 생성한 butyraldehyde를 nmol로 나타내었다.

Catalase 활성도의 측정은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 기질로 사용하여 25°C에서 30초 반응시키는 동안에 240nm 파장에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 환원되어 감소하는 흡광도로써 효소 활성도를 측정하는 Nelson과 Kiesow(1972)의 방법에 의했으며 반응액 3.02ml에는 150 μmol potassium phosphate 완충액(pH 6.8), 31.5 μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 및 50 mM potassium phosphate 완충액(pH 6.8)에 간 절편을 넣어 마쇄한 10w/v% 마쇄 균질액 20μl가 함유 되도록 하였다. 그리고 이 효소 활성도의 단위는 1분간에 1mg의 단백이 반응하여 환원시킨 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 mol로 나타내었다.

ALDH 활성도의 측정은 propionaldehyde와 NAD<sup>+</sup>를 기질로 사용하여 37°C에서 3분간 반응시키는 동안에 NAD<sup>+</sup>가 NADH로 환원되는 양을 측정하는 Koivula 및 Koivulsalo(1975)의 방법에 의했으며 이 반응액 4ml에는 168 μmol tetrasodium pyrophosphate, 6.68μmol pyrazol, 5.32μmol NAD<sup>+</sup>, 24 μmol propionaldehyde 및 효소액 0.1ml가 함유 되도록 하였다. 이때 효소액은 1% sodium deoxycholic acid로 2배 회석한 후 ultrasonic dismembrator (Fisher model 300)로 2~4°C를 유

지하면서  $20 \pm 4$  K cycle/sec의 조건으로 5회 초음파 마쇄를 한 mitochondria와 microsome 분획을 사용하였으며 cytosol 분획은 원액 그대로 사용하였다. 그리고 이 효소 활성도의 단위는 1분간에 1mg의 단백이 반응하여 생성한 NADH를 nmol로 나타내었다.

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

**단백 정량:** 효소액 중의 단백 정량은 0.5M-perchlric acid와 methanol-ether 혼합액(3:1)으로 단백을 정제하는 Greenberg와 Rothstein(1957)법으로 효소액 중의 단백을 정제한 다음 biuret 법(Gornall과 Bardawill, 1949)으로 정량하였다.

얻어진 각종 성적들의 평균치 중 상호비교가 필요한 경우는 Student의 t-검정법에 의하여 검정하였다.

### 성 적

**내독소 투여가 혈청 및 쥐간의 ADH 활성도에 미치는 영향:** 체중 kg 당 5mg의 내독소를 투여했을 때 혈청과 간 세포질 분획의 ADH의 활성도 변동은 표 1과 같다. 내독소 투여군의 혈청 ADH는 내독소 투여 후 3시간에 147%( $P < 0.001$ ), 8시간에 약 200%( $P < 0.001$ ), 24시간에 약 54%( $P < 0.001$ )의 활성도 증가를 나타내었다. 내독소 투여군의 세포질

ADH는 내독소 투여 후 3시간에 19%( $P < 0.05$ ), 8시간에 약 22%( $P < 0.01$ ), 24시간에 약 19%( $P < 0.05$ )의 활성도 감소를 나타내었다.

**내독소 투여가 쥐간의 catalase 활성도에 미치는 영향:** 체중 kg 당 5mg의 내독소를 투여했을 때 혈청과 간 세포의 catalase의 활성도 변동은 표 2와 같다. 내독소 투여군의 catalase는 내독소 투여 후 3시간에 20%( $P < 0.001$ ), 8시간에 약 13%( $P < 0.05$ ), 24시간에 약 13%( $P < 0.05$ )의 활성도 감소를 나타내었다.

**내독소 투여가 쥐간의 ALDH 활성도에 미치는 영향:** 체중 kg 당 5mg의 내독소를 투여했을 때 혈청과 간 세포 분획의 ALDH의 활성도 변동은 표 3과 같다. 내독소 투여군의 cytosolic ALDH는 내독소 투여 후 3시간 및 8시간에 대조군에 비해 각각 약 19%( $P < 0.05$ ) 및 약 17%( $P < 0.05$ )의 활성도 증가를 나타내었다. 내독소 투여군의 microsomal ALDH는 내독소 투여 후 8시간 및 24시간에 대조군에 비해 각각 약 29%( $P < 0.01$ ) 및 약 39%( $P < 0.001$ )의 활성도 감소를 나타내었다. 내독소 투여군의 mitochondrial aldehyde dehydrogenase는 내독소 투여 후 8시간 및 24시간에 대조군에 비해 각각 약 14%( $P < 0.05$ ) 및 약 20%( $P < 0.01$ )의 활성도 감소를 나타내었다.

### 고 칠

간은 내독소 제거에 관여하는 중요 장기 중 한 가지(Trapani 등, 1962; Bjørneboe 등, 1972; Triger 등, 1972)이기는 하지만 내독소에 의해 손상을 받는 것(Hirata 등, 1980; Sato 등, 1982)으로 알려져 있다.

Table 1. Effect of endotoxin on serum and liver cytosolic alcohol dehydrogenase(ADH) activities in rats

Hours after endotoxin injection	Serum ADH activities ( $\mu\text{mol butyraldehyde ml}^{-1} \text{min}^{-1}$ )		Cytosolic ADH activities (nmol NADH mg protein $^{-1}$ min $^{-1}$ )	
	Control	Endotoxin	Control	Endotoxin
3	4.32 $\pm$ 1.26 (100) <sup>a</sup>	10.65 $\pm$ 2.63*** (247)	74.30 $\pm$ 13.26 (100)	59.83 $\pm$ 14.77* (81)
8	4.25 $\pm$ 1.23 (100)	12.73 $\pm$ 3.42*** (300)	72.61 $\pm$ 12.98 (100)	56.36 $\pm$ 11.45** (78)
24	4.22 $\pm$ 1.18 (100)	6.48 $\pm$ 1.27*** (154)	72.73 $\pm$ 13.16 (100)	58.72 $\pm$ 12.14* (81)

The data are expressed as mean  $\pm$  SD with 10 rats in each group.

a: Number in parenthesis means the percentage.

Significant difference from control(\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , \*\*\*:  $P < 0.001$ )

Table 2. Effect of endotoxin on the hepatic catalase activities in rats

Hours after endotoxin injection	Catalase activities ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ reduced $\text{mg protein}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	
	Control	Endotoxin
3	32.36 $\pm$ 3.92 (100) <sup>a</sup>	25.81 $\pm$ 2.95*** (80)
8	31.68 $\pm$ 4.02 (100)	27.47 $\pm$ 3.26* (87)
24	32.27 $\pm$ 3.87 (100)	28.20 $\pm$ 3.47* (87)

The data are expressed as mean  $\pm$  SD with 10 rats in each group.

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

Table 3. Effect of endotoxin on hepatic aldehyde dehydrogenase(ALDH) activities in rats

Hours after endotoxin injection	ALDH activities (nmol NADH $\text{mg protein}^{-1} \text{min}^{-1}$ )					
	Cytosol		Microsome		Mitochondria	
	Control	Endotoxin	Control	Endotoxin	Control	Endotoxin
3	52.51 $\pm$ 8.12 (100) <sup>a</sup>	62.58 $\pm$ 8.75* (119)	67.11 $\pm$ 11.90 (100)	65.23 $\pm$ 13.25 (97)	90.56 $\pm$ 12.46 (100)	84.73 $\pm$ 8.29 (94)
8	51.72 $\pm$ 7.93 (100)	60.35 $\pm$ 7.34* (117)	66.83 $\pm$ 12.18 (100)	47.77 $\pm$ 15.50** (71)	88.76 $\pm$ 12.33 (100)	76.28 $\pm$ 12.89* (86)
24	52.18 $\pm$ 8.06 (100)	57.52 $\pm$ 4.25 (110)	67.05 $\pm$ 12.03 (100)	42.21 $\pm$ 14.38*** (63)	89.52 $\pm$ 11.97 (100)	71.24 $\pm$ 13.27** (80)

The data are expressed as mean  $\pm$  SD with 10 rats in each group.

Significant difference from control(\*: P < 0.05, \*\*: P < 0.01, \*\*\*: P < 0.001).

내독소 혈중으로 인한 간 손상시에는 4~6시간 부터 간세포에는 괴사현상이 나타나고 8시간 후에는 괴사의 정도가 심해지며 이후 24시간 까지 지속된다(Onda 등, 1986; 김정희 등, 1987)고 한다. 그리고 ADH는 간 병변증시 간 조직에서 그 활성도가 저하되고(Dow 등, 1975) 간세포에 괴사 등이 있을 때는 혈중에 출현한다(Mezey 등, 1968)고 한다. 따라서 이 실험에서 내독소를 주입했을 때 간의 ADH 활성도가 감소되면서 바로 혈중에서 그 활성도가 증가되는 것은 간 세포막의 투과성 항진으로 인한 ADH의 혈중으로의 유출이 그 원인이라 생각된다.

그리고 간에서 catalase의 활성도 감소는 이 실험만으로는 분명한 이유를 알 수는 없으나 간의 ADH와 같은 시기에 비슷한 정도로 그 활성도가 감소되는 것으로 보아 이것도 역시 간 세포막의 투과성 항

진으로 인한 catalase의 혈중 유출에 기인된 것이 아닌가 생각된다.

이 실험에서 내독소 주입시 간 cytosolic ALDH는 활성이 증가되고 microsomal ALDH는 그 활성이 감소되었다. 내독소 주입으로 간에 손상이 야기되었을 때는 endoplasmic reticulum은 증식 및 확장 등의 변화(Rangel 등, 1970; Yoder 등, 1985; 김정희 등, 1987)가 나타나는 만큼 내독소 투여시에 간 microsomal ALDH의 활성도 감소와 cytosolic ALDH의 활성도 증가는 내독소로 인한 endoplasmic reticulum의 손상으로 microsomal ALDH가 세포질로 다량 유리된 때문이라 생각된다. 또한 rough endoplasmic reticulum에 결합된 ribosome이 단백 합성 장소이며 내독소 투여시 endoplasmic reticulum에서 심한 형태학적인 변화가 일어난다는

보고( Rangel 등, 1970; Yoder 등, 1985; 김정희 등, 1987)와 내독소가 phosphoenol pyruvate carboxykinase(Berry와 Rippe, 1973), tryptophan oxygenase(Berry 등, 1966) 등의 합성을 감소 시킨다는 보고를 볼 때 간 microsomal ALDH의 활성도 감소는 어떤 원인에 의한 것인지는 분명치 않지만 내독소에 의해 간의 endoplasmic reticulum에서 ALDH의 합성이 감소된 때문이라 생각된다. 따라서 microsomal ALDH는 내독소 투여시에는 그 합성이 감소됨과 동시에 세포질로 유리된다고 생각된다. 이 실험에서 간 mitochondria의 ALDH는 모두 형태학적으로 간 괴사가 가장 심한 내독소 투여 후 8시간에 활성도 감소를 나타내었으며 cytosolic ALDH는 그 활성도가 증가되었다. 이 실험 성적은 mitochondrial ALDH도 microsomal ALDH처럼 mitochondria의 손상으로 세포질로 유리됨으로서 나타난 현상이라 생각된다.

그리고 이 실험과 같은 조건에서 해독효소인 monoamine oxidase(곽춘식 등, 1991), xanthine oxidase(곽춘식 등, 1991), carboxylesterase(곽춘식 등, 1992a), arylesterase(곽춘식 등, 1992a), cholinesterase(곽춘식 등, 1992a), glutathione S-transferase(곽춘식 등, 1992b)의 활성도를 측정한 성적과 이 실험 성적을 보면 간의 ADH, catalase, ALDH 등의 phase I 해독 효소를 비롯한 간의 각종 해독 효소들이 모두 그 활성도가 감소되었다. 이렇게 내독소 주입시 간에서 이들을 포함한 해독 효소들이 활성도 감소를 나타냄으로서 간의 괴사는 더욱 증폭된 것이라 생각된다. 그러나 이 실험만으로는 분명하게 말할 수 없으므로 내독소 투여 후 해독 효소들의 동태에 대한 더 많은 연구가 있어야 될 것으로 생각된다.

## 요 약

이 연구는 내독소 투여 후 간의 해독 능력의 일단을 파악하기 위하여 실행한 실험으로서 환자에게 내독소를 주입하고 경시적으로 간 세포질과 혈청의 alcohol dehydrogenase(ADH), 간 조직의 catalase 및 간 세포질, microsome 및 mitochondria의 aldehyde dehydrogenase(ALDH)의 활성도 변동을 측정하였다.

내독소 주입군의 혈청 ADH는 실험 전 기간 활성도 증가를 나타내었다. 그러나 세포질 ADH는 실험 전 기간 활성도 감소를 나타내었다.

내독소 주입군의 catalase도 실험 전 기간 활성도 감소를 나타내었다.

내독소 주입군의 cytosolic ALDH는 내독소 주입 후 3시간 및 8시간에 활성도 증가를 나타내었다. 내독소 주입군의 microsomal ALDH는 내독소 주입 후 8시간 및 24시간에 활성도 감소를 나타내었다. 내독소 주입군의 mitochondrial ALDH는 내독소 주입 후 8시간 및 24시간에 활성도 감소를 나타내었다.

이상 이 실험 성적으로 보아 내독소 주입시에는 간 세포막의 장애로 인해 간 ADH가 혈중으로의 유출되며 간의 catalase도 혈중으로 유출된다고 생각된다. Microsomal 및 mitochondrial ALDH는 내독소 투여시에 세포질로 유리되며 동시에 microsomal ALDH는 그 합성도 감소된다고 생각된다.

## 참 고 문 헌

- Benacerraf B, Sebenstyen MM: Effect of bacterial endotoxins on the reticuloendothelial system. *Fed Proc* 1957; 16: 860-867.
- Berry LJ, Smythe DS, Colwell LS: Inhibition of inducible liver enzymes by endotoxin and actinomycin D. *J Bacteriol* 1966; 92: 107-115.
- Berry LJ, Rippe DF: Effect of endotoxin on induced liver enzymes. *J Infect Dis* 1973; 128: S118-S121.
- Bjørneboe M, Prytz H, rskov F: Antibodies to intestinal microbes in serum of patients with cirrhosis of the liver. *Lancet* 1972; 8: 58-60.
- Borson WF, Li TK: Alcohol dehydrogenase, in Jakoby WB: *Metabolic Basis of Detoxication*. London, Academic Press, 1980, pp 231-248.
- Bradley SG: Cellular and molecular mechanisms of action of bacterial endotoxins. *Annu Rev Microbiol* 1979; 33: 67-94.
- Cederbaum AI, Qureshi A: Role of catalase and hydroxyl radicals in the oxidation of methanol by rat liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 1982; 31: 329-335.
- Dow J, Krasner N, Goldberg A: Relation between hepatic alcohol dehydrogenase activity and the ascorbic acid in leukocytes of patients with liver disease. *Clin Sci Mol Med* 1975; 49: 603-608.

- Gornall AG, Bardawill 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.
- Hassan HM, Fridovich I: Superoxide dismutase: Detoxication of a free radical, in Jakoby WB: *Metabolic Basis of Detoxication*. London, Academic Press, 1980, pp 311-332.
- 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.
- 김정희, 정재홍, 서인수: 내독소 투여로 인한 급성 간 괴사의 초비형태학적 연구. *개명의대논문집* 1987; 6: 177-202.
- Koivula T, Koivulsalo M: Different form of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochim Biophys Acta* 1975; 397: 9-23.
- Koivula T, Koivusalo M, Lindrose KO: Liver aldehyde and alcohol dehydrogenase activities in rat strains genetically selected for their ethanol preference. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 1807-1811.
- Koivular T: Subcellular distribution and characterization of human liver aldehyde dehydrogenase fractions. *Life Sci* 1975; 16: 1563-1569.
- 곽춘식, 곽정식: 흰쥐 간세포분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. *개명의대논문집* 1986; 5: 45-53.
- 곽춘식, 문교철, 김상철: 흰쥐에게 내독소의 비경구 투여가 혈청 및 간의 Monoamine Oxidase 및 Xanthine Oxidase 활성 변동에 미치는 영향. *개명의대논문집* 1991; 10: 335-344.
- 곽춘식, 문교철, 김상철: 흰쥐에게 내독소의 비경구 투여가 혈청 및 간의 Carboxylesterase, Arylesterase 및 Cholinesterase 활성 변동에 미치는 영향. *개명의대논문집* 1992a; 11: 561-570.
- 곽춘식, 문교철, 김상철: 흰쥐에게 내독소의 비경구 투여가 혈청 및 간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Peroxidase 및 Glutathione Reductase 활성 변동에 미치는 영향. *개명의대논문집* 1992b; 12: 45-54.
- Lazarow PB, de Duve C: The synthesis and turnover of rat liver peroxisomes: V. Intracellular pathway of catalase synthesis. *J Cell Biol* 1973; 59: 507-524.
- Li TK: Enzymology of human alcohol metabolism. *Relat Areas Mol Biol Adv Enzymol* 1977; 45: 427-483.
- Mezey E, Cherrick GR, Holt PR: Serum alcohol dehydrogenase, an indicator of intrahepatic cholestasis. *N Engl J Med* 1968; 279: 241-248.
- Nelson DP, Kiesow LA: Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25°C (with molar extinction coefficients of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solutions in the UV). *Anal Biochem* 1972; 49: 474-478.
- 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. *Circ Shock* 1986; 18:11-19.
- Rangel DM, Byfield JE, Adomian GE, et al: Hepatic ultrastructural response to endotoxin shock. *Surgery* 1970; 68: 503-511.
- Rutenberg S, Skarnes R, Palmerio C, et al: Detoxification of endotoxin by perfusion of liver and spleen. *Proc Soc 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.
- Skursky L, Kovar J, Stachova M: A sensitive photometric assay for alcohol dehydrogenase activity in blood serum. *Anal Biochem* 1979; 99: 65-71.
- 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; 8: 60-63.
- Weiner H: Aldehyde oxidizing enzymes, in Jakoby WB: *Metabolic Basis of Detoxication*. London, Academic Press, 1980, pp 261-280.
- Yoder MC, Egler JM, Yudkoff M, et al: Metabolic and mitochondrial morphological changes that mimic Reye syndrome after endotoxin administration on rats. *Infect Immun* 1985; 47: 329-331.

=Abstract=

## **Effect of Parenteral Administration of Endotoxin on Changes of Serum and Hepatic Alcohol Dehydrogenase, Catalase and Aldehyde Dehydrogenase Activities in Rats**

**Kyo Cheol Mun, MD; Si Woo Bae, MS; Chun Sik Kwak, PhD**

*Department of Biochemistry, Keimyung University*

*School of Medicine, Taegu, Korea*

The activities of the alcohol dehydrogenase(ADH), catalase and aldehyde dehydrogenase(ALDH) which are detoxifying enzymes in the liver were measured in order to evaluate the detoxifying ability of the liver to endotoxin.

For administration of endotoxin, a dose of 5mg of endotoxin (lipopolysaccharide *E. coli* O26: 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 the activities of the above enzymes in serum and their liver.

The activity of the serum ADH showed a statistically significant increase between 3 and 24 hours after endotoxin administration, but that of the cytosolic ADH in the liver showed a significant decrease throughout the experiment. The activity of catalase in the liver showed a significant decrease throughout the experiment. The activity of the cytosolic ALDH in the liver showed a significant increase between 3 and 24 hours after endotoxin administration. The activities of the microsomal and mitochondrial ALDH in the liver showed a significant decrease between 8 and 24 hours after endotoxin administration respectively.

According to the results, cytosolic ADH and catalase leak into the blood through the damaged membrane of hepatocyte. Microsomal and mitochondrial ALDH leak into the cytosol through their damaged membranes. And it is suggested that the synthesis of the microsomal ALDH in the liver is decreased.

**Key Words:** Alcohol dehydrogenase, Aldehyde dehydrogenase, Catalase, Endotoxin