

## 급성 주정 중독 흰쥐에서 간의 Aryl Sulfotransferase와 UDP-Glucuronosyltransferase 활성에 미치는 총담관 결찰의 영향

제명대학교 의과대학 생화학교실 및 의과학연구소

권삼옥 · 김여희

### Effect of Common Bile Duct Ligation on Liver Aryl Sulfotransferase and UDP-Glucuronosyltransferase Activities in Acute Ethanol Intoxicated Rats

Sam Ok Kwon, M.D. and You Hee Kim, M.D.

Department of Biochemistry, Keimyung University  
School of Medicine, Institute for medical Science, Taegu, Korea

#### -Abstract-

The activities of aryl sulfotransferase (AST) isozymes I-II and III-IV and UDP-glucuronosyltransferase (UDP-GT) were measured in rats with acute ethanol intoxication after common bile duct (CBD) ligation to investigate the adverse effects of alcohol ingestion to the liver under the hepatobiliary disease.

Serum AST I-II and AST III-IV activities in CBD ligated rats combined with acute ethanol intoxication showed greater increases than that in CBD ligation alone. These results indicate that the leak of hepatic AST isozymes into blood is facilitated in CBD ligated rats combined with acute ethanol intoxication than in CBD ligation alone due to aggravated hepatic membrane damage.

Liver mitochondrial AST I-II and AST III-IV activities in CBD ligated rats combined with acute ethanol intoxication showed less increases than that in CBD ligation alone. However, liver microsomal UDP-GT activity in CBD ligated rats combined with acute ethanol intoxication showed a more decrease than that in CBD ligation alone.

On the other hand, when acute ethanol intoxication was combined with CBD ligation, the values of Vmax of the liver mitochondrial AST I-II, AST III-IV and liver microsomal UDP-GT decreased significantly than that in CBD ligation alone. However, the values of Km of above hepatic enzymes did not change. Viewed from these results, when acute ethanol intoxication was combined with cholestasis, these enzymes in the liver seem to be decreases their biosynthesis than that in cholestasis.

According to all of the results, if ethanol intoxication is combined with cholestasis, the hepatic damage is aggravated.

**Key Words :** Aryl sulfotransferase, UDP-glucuronosyltransferase, Cholestasis, Enzyme induction

## 서 론

일반적으로 간담도 질환 시 음주는 유해하다고 하며 이 사실은 장기간 많은 양의 음주를 했을 때 지방간, 간염, 간경변증 등이 초래될 수 있다는 보고 (Wooddell, 1980; Sherlock, 1985b; Hall, 1994) 를 볼 때 당연하다고 생각된다. 그러나 아직도 그 생화학적 뒷받침은 충분치 않다.

간은 생체이물 (xenobiotic)들을 생체 변환시키는 주된 장기이므로 생체이물의 생체 변환에 관련된 효소들이 다량 존재하며 (Jakoby *et al.*, 1982) 특히 담즙울체로 간 손상이 있을 때나 (곽춘식, 1985; 곽춘식 외, 1988; 권용철 외, 1990; 곽춘식과 이숙형, 1992) 담즙울체와 주정 중독을 병행했을 때는 (곽춘식 외, 1990; 정성광과 곽춘식, 1992; 문교철, 1992; 정성광 외, 1994) 간에서 이 효소들의 활성도가 변동된다.

Aryl sulfotransferase (3'-phosphoadenosylsulfate; phenol sulfotransferase, EC 2.8.2.1)는 phenol 화합물들에게 sulfate를 포함시켜 배설시키는 생체이물 생체 변환 효소로서 (Jakoby *et al.*, 1980; Kim, 1984) 포유동물의 간에 주로 분포되어 있으며 (Benerjee and Roy, 1966; Hidaka *et al.*, 1969; Campbell *et al.*, 1987) 혈중에도 출현한다 (Anderson *et al.*, 1991). 이 효소는 사람에서 2종, 쥐에서는 4종의 isozyme (I, II, III 및 IV)이 존재하며 (Jakoby *et al.*, 1980; Sekura *et al.*, 1981; Campbell *et al.*, 1987), 간세포에서는 세포질, mitochondria 및 endoplasmic reticulum에 국재되어 있다 (Christ and Walle, 1989; Falany *et al.*, 1990; Ihm *et al.*, 1995).

UDP-glucuronosyltransferase (UDP-glucuronate  $\beta$ -D-glucuronosyltransferase (acceptor-unspecific), EC 2.4.1.17)는 phenol 화합물, 각종 alcohol들 그리고 각종 amine 및 지방산들에게 glucuronate를 포함시켜 배설시키는 생체이물 생체 변환 효소로서 포유동물간의 endoplasmic reticulum에 국재되어 있다 (Kim, 1979; Kasper and Henton, 1980; Jakoby *et al.*, 1982). 이러한 양 효소 중 aryl sulfotransferase (AST)는 흰쥐에게 담즙울체를 야기시켰을 때 간세포의 mitochondria, microsome

및 혈청에서는 그 활성도가 증가되고 세포질에서는 그 활성도가 감소되며, microsomal UDP-glucuronosyltransferase (UDP-GT)는 흰쥐에게 담즙울체를 야기시켰을 때 그 활성도가 감소되는 것 (Ihm *et al.*, 1995)으로 밝혀져 있으며 또한 흰쥐에게 담즙울체와 만성 주정 중독을 병행했을 때는 이들 효소의 활성도가 담즙울체만 있을 때보다 감소되는 것 (조경일, 1995)으로 밝혀져 있다. 이와 같이 생체이물 생체 변환 효소인 AST와 UDP-GT가 담즙울체시나 담즙울체와 만성 주정 중독이 병행되었을 때는 간 조직에서 그 활성도가 변동되고 또한 담즙울체시 주정 중독을 시키면 간 손상이 심해진다는 보고 (정성광과 곽춘식, 1992; 김성수 ; 1993)가 있기에 급성 주정 중독 시에 담즙울체가 야기된다면 이들 효소의 활성도는 심한 변동이 있을 것으로 생각된다. 그러나 이에 대한 보고는 아직 찾아 볼 수 없었다.

이 연구는 간담도 질환 시 음주의 유해성에 대한 생화학적 배경의 일단을 밝히고자 시행한 실험으로서 담즙울체가 진행되는 흰쥐에게 급성 주정 중독을 시킨 후 간의 세포질, mitochondria 및 microsome과 혈청에서 AST의 활성도를 측정하는 한편 microsome에서 UDP-GT활성도를 측정하였으며 아울러 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시킨 흰쥐의 간에서 이들 효소의 Km치와 Vmax치도 함께 측정하여 이들 성격을 보고코자 한다.

## 재료 및 방법

**동물 및 처치 :** 동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280~320 g되는 Sprague-Dawley종의 숫흰쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 다음과 같이 총 6군으로 나누었다 (Fig. 1). 즉 정상군 (1군), 총담관 결찰 후 14일에 회생시킨 군 (1군), Liu 등 (1975)의 방법에 따라 체중 kg당 4 g의 ethanol을 투여하고 각각 1.5시간 및 24시간 후에 회생시킨 군 (총 2군), 총담관 결찰 14일 후 체중 kg당 4 g의 ethanol을 투여하고 각각 1.5시간 및 24시간 후에 회생시킨 군 (총 2군) 등이다.

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

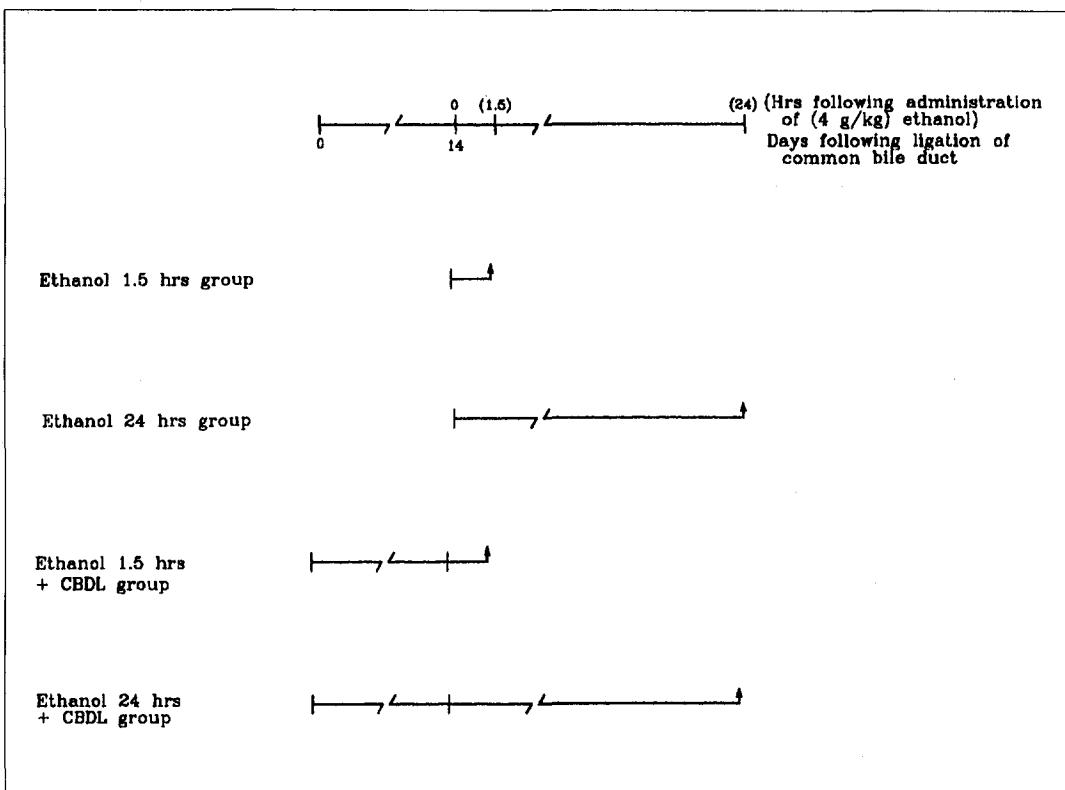


Fig. 1. Experimental design

지사료 주식회사의 실험동물 사료를 먹게 하였다. 급성 주정 중독은 흰쥐 체중  $kg$ 당 4 g의 ethanol 이 투여되도록 25% (v/v) ethanol용액을 조제 (Liu *et al.*, 1975)하여 1회 경구 투여하였다.

총담관 결찰술 및 간 적출술은 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 쥐를 일정한 시간에 죽일 수 있도록 수술 시간을 조절하였으며 12시간 금식시킨 후 ether 마취하에서 실시하였다.

총담관 결찰은 간 근위부와 약 1 cm 아래쪽의 원위부의 총담관을 각각 이중 결찰한 후 그 중간 부위를 절단하였으며 간 적출 시 담관의 폐쇄 상태를 확인하였다. 가수술은 단순개복술만 시행하였다.

시약 : 2-Mercaptoethanol, 2-naphthol, adenosine 3'-phosphate 5'-phosphosulfate (PAPS), methylene blue,  $\alpha$ -naphthyl sulfate potassium, UDP-glucuronic acid sodium, *p*-nitrophenol, *p*-nitrophenyl  $\beta$ -D-glucuronide, bovine albumin, Triton X-100, glycine, uridine 5'-diphosphoglucuronyl-

transferase (type III, from bovine liver) 및 단백질 표준액 (10 g/100 ml bovine albumin) 등은 Sigma사 제품을 사용하였으며 그 외 시약들은 시판하는 특급 또는 일급 품을 사용하였다.

간 적출 및 세포분획: 모든 실험군에서 간의 적출은 12시간 금식시킨 후 ether마취 하에서 시행하였으며 복부대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실혈사시켰다. 그리고는 간 문맥에 삽관한 후 4°C의 0.25 M sucrose액으로 관류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출 하였다. 그리고 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있던 sucrose액을 가능한 한 모두 제거하였다.

한편 채혈한 혈액은 원심분리하여 혈청은 얻고 곧 효소 활성도를 측정하였다.

간의 세포 분획은 적출한 간을 즉시 2~4°C로 냉각한 후 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합하여 그 중 약 7 g을 취하여 9배량의 0.25 M sucrose액 을 넣은 다음 Teflon glass homognizer (Thomas 사 제품, chamber clearance 0.005~0.007 inches)

로 2~4°C를 유지하면서 400 rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10% (w/v)의 간 조직 균질액을 만들었다. 이 간 균질액 모두를 취하여 sucrose density gradient 원심분리법 (곽춘식과 곽정식, 1986)으로 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획을 분리하였다. 즉 이 마쇄 균질액을  $571 \times g$  (average relative centrifugal force)에서 10분간 원심분리하여 조직의 미마쇄부분, 핵 및 원형질막 부분을 제거한 다음 그 상청액을  $7,796 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었으며 이 과정에서 얻은 상청액을 다시  $104,000 \times g$ 에서 1시간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었다. 이때 얻은 상청액을 cytosol 분획으로 사용하였다. 그리고 위의 과정에서 얻은 pellet를 0.25 M sucrose액에 재현탁시키고 이 액을 10~35% (w/v) sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하 시켜  $88,500 \times g$ 에서 15분간 원심분리하여 얻은 원심관 중앙 부위와 상부에 형성된 pellet을 모아서  $88,500 \times g$ 에서 1시간 원심분리하여 pellet를 얻고 이 pellet를 다시 0.25 M sucrose액에 재현탁시켜  $88,500 \times g$ 에서 1시간 재원심분리하여 pellet를 얻었다. 이 pellet를 microsome 분획으로 사용하였다.

한편 위의  $7,796 \times g$ 에서 20분간 원심분리하는 과정에서 얻은 pellet를 0.25 M sucrose액에 현탁시키고 이 액을 20~45% (w/v) sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심관 상부에 부하시켜  $45,200 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 얻은 침전물을 0.25 M sucrose액에 재현탁시켜  $7,796 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 pellet를 얻었으며 이것을 mitochondria 분획으로 사용하였다.

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

**효소 시료 조제 :** AST 측정용 효소 시료의 조제는 분리한 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획을 단백질량으로  $5 mg/ml$ 가 되도록 0.25 M

sucrose액에 혼탁시켜 사용하였으며 UDP-GT 측정용 효소 시료도 분리한 microsome 분획을 단백질량으로  $5 mg/ml$ 가 되도록 0.25 M sucrose액에 혼탁시켜 사용하였다.

**효소 활성도 측정 :** 혈청과 간의 cytosol, mitochondria 및 microsome 분획의 AST의 활성도 측정은 시료와 함께 2-naphthol과 PAPS를 기질로 사용하여 37°C에서 10분간 반응시키는 동안에 생성된 1-naphthyl sulfate를 methylene blue와 반응시켜 생성된 ion pair pigment를 chloroform으로 추출한 후 651 nm파장에서 비색하여 효소의 활성도를 산출하는 Sekura 등 (1981)의 법에 의하였다. 그리고 이때 AST-I과 II isozyme 측정 시에는 0.5 M sodium acetate (pH 7.4) 완충액을 사용하였으며 AST-III과 IV isozyme 측정 시에는 완충액으로서 0.5M sodium phosphate (pH 5.5) 완충액을 사용하였다. 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1 ml의 혈청 또는 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 1-naphthyl sulfate를 nmol로 나타내었다.

간의 microsome 분획의 UDP-GT의 활성도 측정은 시료와 함께 *p*-nitrophenol과 UDP-glucuronic acid를 기질로 사용하여 37°C에서 20분간 반응시키는 동안에 생성된 *p*-nitrophenyl  $\beta$ -D-glucuronide를 413 nm파장에서 비색하여 효소의 활성도를 산출하는 Reinke 등 (1986)의 법에 의하였다. 이 효소의 활성도 단위는 1분간에 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 *p*-nitrophenyl  $\beta$ -D-glucuronide를 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 분광광도계는 computer controlled enzyme spectrophotometer (Varian, Cary 210)였다.

**Km치 및 Vmax치의 측정 :** 정상쥐, 총담관 결찰 후 14일 경과한 쥐, 급성 주정 중독 후 1.5 및 24시간 경과한 쥐 및 총담관 결찰술 후 14일에 급성 주정 중독을 시키고 1.5 및 24시간 경과한 쥐의 간세포 분획 시료들과 각 효소 기질의 원액과 회색액들을 사용하여 각각 AST와 UDP-GT 활성

도를 측정한 후 이를 성적으로부터  $1/v_i$ 치를, 그리고 각 효소 활성도 측정에 사용한 기질액의 농도로부터  $1/[S]$ 치를 계산하여 이중역수도 (double reciprocal plot)를 작도한 다음 이것으로부터  $K_m$ 치와  $V_{max}$ 치를 산출 하였다 (Segel, 1976).

**단백질 정량:** 효소액 중의 단백질 정량은 0.5 M perchloric acid와 methanol-ether 혼합액 (3:1)으로 단백질을 정제하는 Greenberg와 Rothstein (1957)법으로 효소액 중의 단백질을 정제한 다음 biuret법 (Gornall *et al.*, 1949)으로 정량 하였다.

**성적 검정:** 유의성 검정은 Student's t-test로 하였으며 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

## 성 적

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 간과 혈청의 AST isozyme들의 활성도에 미치는 영향: 쥐 간 및 혈청의 AST I-II 및 AST III-IV isozyme의 활성도는 급성 주정 중독을 야기시킨 군에서는 유의한 변동을 나타내지 않았다 (Table 1, 2).

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기

시키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 간의 mitochondrial AST I-II isozyme의 활성도는 급성 주정 중독만 야기시킨 대조군에 비해 각각 약 43% ( $P<0.05$ ) 및 약 48% ( $P<0.01$ )의 증가를 나타내었다. 그러나 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시킨 군들에서 간의 cytosolic 및 microsomal AST I-II isozyme의 활성도는 변동을 나타내지 않았다 (Table 1).

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 혈청의 AST I-II isozyme의 활성도는 급성 주정 중독만 야기시킨 대조군에 비해 각각 약 71% ( $P<0.001$ ) 및 약 72% ( $P<0.001$ )의 증가를 나타내었다 (Table 1).

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 간의 cytosolic AST III-IV isozyme의 활성도는 급성 주정 중독만 야기시킨 대조군에 비해 각각 약 57% ( $P<0.001$ ) 및 약 56% ( $P<0.01$ )의 감소를 나타내었다. 그러나 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 시킨 군들에서 간의 mitochondrial 및 microsomal AST III-IV isozyme의 활성도는 유

Table 1. Effect of common bile duct ligation on serum and liver cytosolic, mitochondrial, and microsomal aryl sulfotransferase I, II activities in acute ethanol intoxicated rats

Aryl sulfotransferase activities (Liver aryl sulfotransferase; nmol 1-naphthyl sulfate min <sup>-1</sup> mg protein <sup>-1</sup> , Serum aryl sulfotransferase; nmol 1-naphthyl sulfate min <sup>-1</sup> ml <sup>-1</sup> )						
Normal	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5 hrs + CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs + CBDL	
(Cytosol)						
0.29 ± 0.04	0.22 ± 0.06	0.26 ± 0.05	0.22 ± 0.07	0.31 ± 0.04	0.25 ± 0.08	
(Mitochondria)						
0.56 ± 0.03	1.14 ± 0.12 <sup>c</sup>	0.54 ± 0.06	0.77 ± 0.15 <sup>d,k</sup>	0.58 ± 0.05	0.86 ± 0.14 <sup>h,k</sup>	
(Microsome)						
0.74 ± 0.03	0.81 ± 0.12	0.70 ± 0.08	0.68 ± 0.17	0.72 ± 0.06	0.76 ± 0.14	
(Serum)						
2.78 ± 0.19	3.46 ± 0.31 <sup>b</sup>	2.87 ± 0.23	4.92 ± 0.67 <sup>t,k</sup>	2.92 ± 0.28	5.08 ± 0.63 <sup>l,l</sup>	

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. Normal, c;  $P<0.001$  vs. Normal, d;  $P<0.05$  vs. Ethanol 1.5 hrs, f;  $P<0.001$  vs. Ethanol 1.5hrs, h;  $P<0.01$  vs. Ethanol 24 hrs, i;  $P<0.001$  vs. Ethanol 24 hrs, k;  $P<0.01$  vs. CBDL 14 days, l;  $P<0.001$  vs. CBDL 14 days

Table 2. Effect of common bile duct ligation on serum and liver cytosolic, mitochondrial, and microsomal aryl sulfotransferase III,IV activities in acute ethanol intoxicated rats

Normal	Aryl sulfotransferase activities					
	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5 hrs + CBDL			Ethanol 24 hrs + CBDL
			(Cytosol)			
0.19 ± 0.02	0.10 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.21 ± 0.04	0.09 ± 0.03 <sup>f</sup>	0.18 ± 0.05	0.08 ± 0.04 <sup>h</sup>	
0.66 ± 0.05	1.18 ± 0.15 <sup>c</sup>	0.77 ± 0.12	0.89 ± 0.22 <sup>i</sup>	0.68 ± 0.17	0.85 ± 0.25 <sup>j</sup>	
0.61 ± 0.08	0.95 ± 0.17 <sup>b</sup>	0.73 ± 0.14	0.77 ± 0.24	0.68 ± 0.11	0.74 ± 0.21	
2.54 ± 0.17	3.81 ± 0.32 <sup>c</sup>	2.68 ± 0.25	5.23 ± 0.74 <sup>t,k</sup>	2.63 ± 0.31	5.46 ± 0.82 <sup>t,k</sup>	

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. Normal, c; P<0.001 vs. Normal, f; P<0.001 vs. Ethanol 1.5 hrs, h; P<0.01 vs. Ethanol 24 hrs, i; P<0.001 vs. Ethanol 24 hrs, j; P<0.05 vs. CBDL 14 days, k; P<0.01 vs. CBDL 14 days

의한 변동을 나타내지 않았다 (Table 2).

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 혈청의 AST III-IV isozyme의 활성도는 급성 주정 중독만 야기시킨 대조군에 비해 각각 95% (P<0.001) 및 약 108% (P<0.001)의 증가를 나타내었다 (Table 2).

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시킨 군들과 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군의 결과를 상호 비교했을 때 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 시키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 간의 mitochondrial AST I-II isozyme의 활성도는 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군에 비해 각각 약 32% (P<0.01) 및 약 25% (P<0.01)의 감소를 나타내었고 (Table 1), 간의 mitochondrial AST III-IV isozyme의 활성도는 각각 25% (P<0.05) 및 약 28% (P<0.05)의 감소를 나타내었으며(Table 2). 혈청의 AST I-II isozyme의 활성도는 각각 42% (P<0.01) 및 약 47% (P<0.001)의 증가를 나타내었다 (Table 1). 그리고 혈청의 AST III-IV isozyme의 활성도도 각각 약 37% (P<0.01) 및 약 43% (P<0.01)의 증가를 나타내었다 (Table 2).

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 주정 중독이 간 microsome의 UDP-GT 활성도에 미치는 영향: 쥐 간의 microsomal UDP-GT 활성도는 급성 주정 중독을 야기시킨 군에서는 유의한 변동을 나타내지 않았다 (Table 3).

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 간의 microsomal UDP-GT 활성도는 급성 주정 중독만 야기시킨 대조군에 비해 양 군 모두 약 68% (P<0.001)의 감소를 나타내었다 (Table 3).

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시키는 군들과 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군의 결과를 상호 비교했을 때 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 간의 microsomal UDP-GT 활성도는 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군에 비해 각각 약 37% (P<0.05) 및 약 42% (P<0.05)의 감소를 나타내었다 (Table 3).

흰쥐에서 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때 간의 mitochondrial AST isozyme들의 Km치 및 Vmax치의 변동: 흰쥐에게 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시켰을 때 PAPS를 기질로 사용하

Table 3. Effect of common bile duct ligation on liver microsomal UDP-glucuronosyltransferase activities in acute ethanol intoxicated rats

UDP-Glucuronosyltransferase activities (nmol p-nitrophenyl $\beta$ -D-glucuronide min $^{-1}$ mg protein $^{-1}$ )					
Normal	CBDL 14 days	Ethanol 1.5 hrs	Ethanol 1.5 hrs + CBDL	Ethanol 24 hrs	Ethanol 24 hrs + CBDL
21.6 ± 2.4	12.3 ± 3.0 <sup>c</sup>	23.7 ± 3.2	7.7 ± 2.8 <sup>t,j</sup>	22.4 ± 3.6	7.1 ± 3.3 <sup>i,j</sup>

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

Animal groups are described in Fig.1.

c; P<0.001 vs. Normal, f; P<0.001 vs. Ethanol 1.5 hrs, i; P<0.001 vs. Ethanol 24 hrs, j; P<0.05 vs. CBDL 14 days

Table 4. Mitochondrial aryl sulfotransferase I, II kinetic parameters from cholestasis with acute ethanol intoxicated rat liver determined with adenosine 3'-phosphate 5'-phosphosulfate

Animal groups	Km (mM)	Vmax (nmol 1-naphthyl sulfate min $^{-1}$ mg protein $^{-1}$ )
Normal	1.61 ± 0.33	0.67 ± 0.05
CBDL 14 days	1.59 ± 0.43	1.22 ± 0.10 <sup>c</sup>
Ethanol 1.5 hrs	1.62 ± 0.37	0.65 ± 0.08
Ethanol 1.5 hrs + CBDL	1.58 ± 0.41	0.82 ± 0.13 <sup>d,l</sup>
Ethanol 24 hrs	1.60 ± 0.39	0.68 ± 0.08
Ethanol 24 hrs + CBDL	1.56 ± 0.35	0.93 ± 0.12 <sup>h,k</sup>

Michaelis-Menten constants for aryl sulfotransferase I, II were determined using adenosine 3'-phosphate 5'-phosphosulfate and 2-naphthol at 37°C for mitochondrial fraction of male rat livers of acute intoxication with ethanol done after 14 days of the common bile duct ligation.

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig.1.

c; P<0.001 vs. Normal, d; P<0.05 vs. Ethanol 1.5 hrs, h; P<0.01 vs. Ethanol 24 hrs, k; P<0.01 vs. CBDL 14 days, l; P<0.001 vs. CBDL 14 days

여 측정한 간의 mitochondrial AST isozyme들의 Km치 및 Vmax치의 변동은 table 4 및 table 5와 같다.

쥐 간의 mitochondrial AST I-II 및 AST III-IV isozyme의 Km치는 모든 실험군에서 유의한 변동이 없었다 (Table 4와 5).

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시

키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 간의 mitochondrial AST I-II isozyme의 Vmax치는 그 대조군인 급성 주정 중독만 시킨 군보다는 유의한 증가를 나타내었으나 그 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군보다는 유의한 감소를 나타내었다 (Table 4).

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시

Table 5. Mitochondrial aryl sulfotransferase III,IV kinetic parameters from cholestasis with acute ethanol intoxicated rat liver determined with adenosine 3'-phosphate 5'-phosphosulfate

Animal Groups	Km (mM)	Vmax (nmol 1-naphthyl sulfate min <sup>-1</sup> mg protein <sup>-1</sup> )
Normal	2.30 ± 0.29	1.04 ± 0.09
CBDL 14 days	2.25 ± 0.40	1.50 ± 0.16 <sup>c</sup>
Ethanol 1.5 hrs	2.34 ± 0.36	1.18 ± 0.14
Ethanol 1.5 hrs + CBDL	2.30 ± 0.47	1.28 ± 0.15 <sup>j</sup>
Ethanol 24 hrs	2.33 ± 0.43	1.09 ± 0.11
Ethanol 24 hrs + CBDL	2.27 ± 0.53	1.15 ± 0.18 <sup>j</sup>

Michaelis-Menten constants for aryl sulfotransferase III,IV were determined using adenosine 3'-phosphate 5-phosphosulfate and 2-naphthol at 37°C for mitochondrial fraction of male rat livers of acute intoxication with ethanol done after 14 days of the common bile duct ligation.

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig.1.

c; P<0.001 vs. Normal, j; P<0.05 vs. CBDL 14 days

Table 6. Microsomal UDP-glucuronosyltransferase kinetic parameters from cholestasis with acute ethanol intoxicated rat liver determined with p-nitrophenol

Animal Groups	Km (mM)	Vmax (nmol p-nitrophenyl β-D-glucuronide min <sup>-1</sup> mg protein <sup>-1</sup> )
Normal	9.43 ± 1.67	28.6 ± 1.9
CBDL 14 days	9.27 ± 2.18	14.8 ± 2.2 <sup>c</sup>
Ethanol 1.5 hrs	9.51 ± 1.94	28.2 ± 2.5
Ethanol 1.5 hrs + CBDL	9.26 ± 1.72	9.3 ± 2.0 <sup>f,k</sup>
Ethanol 24 hrs	9.46 ± 2.24	27.3 ± 2.3
Ethanol 24 hrs + CBDL	9.29 ± 2.06	8.8 ± 2.7 <sup>i,k</sup>

Michaelis-Menten constants for UDP-glucuronosyltransferase were determined using p-nitrophenol and UDP-glucuronic acid at 37°C for microsomal fraction of male rat livers of acute intoxication with ethanol done after 14 days of the common bile duct ligation.

The data are expressed as mean ± SD with 5 rats in each group.

Animal groups are described in Fig.1.

c; P<0.001 vs. Normal, f; P<0.001 vs. Ethanol 1.5 hrs, i; P<0.001 vs. Ethanol 24 hrs, k; P<0.01 vs. CBDL 14 days

키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 간의 mitochondrial AST III-IV isozyme의 Vmax치는 그 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군에 비해서만 유의한 감소를 나타내었다 (Table 5).

환자에서 총담관을 결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 시켰을 때 간의 microsomal UDP-GT의 Km치 및 Vmax치의 변동은 Table 6과 같다.

결찰한 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시켰을 때 p-nitrophenol을 기질로 사용하여 측정한 간의 microsomal UDP-GT의 Km치 및 Vmax치의 변동은 Table 6과 같다.

취 간의 microsomal UDP-GT의 Km치는 모든 실험군에서 유의한 변동이 없었다.

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기

시키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 간의 microsomal UDP-GT의 Vmax치는 그 대조군인 급성 주정 중독만 시킨군 또는 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군에 비해 유의한 감소를 나타내었다.

## 고 찰

장기간 다량의 음주를 했을 때는 지방간, 간염 및 간경변증 (Wooddell, 1980; Sherlock, 1985b; Hall, 1994)에 이환될 수 있으며 음주로 인해 나타나는 대사성 변화로는 lactate의 생산 증가, pyruvate의 생성 감소, 지방산의 합성 촉진, 시트르산회로의 활성 저하 및 지방산의 산화 감소 등을 들 수 있다 (Ellenhorn and Barceloux, 1988; Hall, 1994).

간 조직에 담즙을체가 야기되는 경우들은 원발성 담즙성 간경변증, 담관염, 담즙을체형 간염, 선천성 담도 폐쇄, 종양이나 담석에 의한 담도 폐쇄 등이며 (Halsted, 1976) 이와 같은 간담도 질환으로 간에 담즙을체가 야기되면 간 조직은 괴사, 담도 증식, 섬유화 및 경화성 변화 등이 나타날 뿐만 아니라 (Desmet, 1994) 심한 간 기능의 장애도 나타난다 (Halsted, 1976 ; Sherlock, 1985a).

흰쥐의 총담관을 결찰하면 간에 담즙을체가 야기되며 시간이 경과함에 따라 담즙을체간은 괴사, 담도 증식, 섬유화 및 경화성 변화가 연속적으로 나타나며 (Moritz and Snodgrass, 1972 ; 장대성 외, 1987 ; 김효석 외, 1989) 동시에 간 기능도 장애가 초래되는 것 (Kaplan and Righetti, 1970 ; Righetti and Kaplan, 1971 ; Toda *et al.*, 1980 ; 곽춘식과 이숙형, 1992)으로 알려져 있다. 따라서 간 담도 질환의 생화학적 연구를 위한 실험적 방법으로 널리 이용하는 것이 흰쥐의 총담관을 결찰하여 담즙을체간을 만드는 것이다.

흰쥐 담즙을체간에서는 각종 생체이물 생체 변환 효소들의 활성도가 증감되는 것으로 알려져 있다. 즉 흰쥐 담즙을체간에서 그 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소는 microsomal glutathione S-transferase (권용철 외, 1990), xanthine oxidase (곽춘식, 1985), microsomal ethanol oxidizing system, aldehyde dehydrogenase (곽춘식 외, 1988), mitochondrial 및 microsomal AST (Ihm

*et al.*, 1995)이며 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체 변환 효소는 cytosolic 및 mitochondrial glutathione S-transferase, glutathione peroxidase (권용철 외, 1990), monoamine oxidase (문교철과 곽춘식, 1989), catalase, alcohol dehydrogenase (곽춘식 외, 1988), carboxylesterase, arylesterase, cholinesterase (곽춘식과 이숙형, 1992), cytosolic AST, microsomal UDP-GT (Ihm *et al.*, 1995) 등으로서 이들 효소의 활성도 증감은 주로 담즙을체간에서 그 합성이 증감되므로써 나타난 결과(곽춘식, 1985; 곽춘식 외, 1988; 문교철과 곽춘식, 1989; 권용철 외, 1990; 곽춘식과 이숙형, 1992; Ihm *et al.*, 1995)라 한다.

체내에 흡수된 주정은 간에서 대부분 대사되며 이 대사과정은 ethanol이 acetaldehyde로 산화되고 다시 acetate로 산화된다 (Bosron and Li, 1980; Lieber, 1985). 특히 이러한 대사과정에서 생성된 acetaldehyde는 간세포의 괴사를 초래하는 물질 (Sherlock, 1985b)로 알려져 있고 또한 주정 중독시 심한 형태학적 변화가 초래되는 (Chang, 1985; Chang, 1987)만큼 담즙을체와 주정 중독이 병행된다면 간 손상의 정도는 더욱 심해질 것이며 또한 심하다는 보고도 있다 (정성광과 곽춘식, 1992; 김성수 외, 1993).

특히 흰쥐에서는 주정 중독과 담즙을체로 간 조직의 손상이 항진될 때는 생체이물 생체 변환 효소들의 활성도가 변동이 심하다고 한다 (곽춘식 외, 1990; 정성광과 곽춘식, 1992; 문교철, 1992; 정성광 외 1994). 흰쥐에서 급성 주정 중독시 담즙을체가 야기되면 담즙을체만 있을 때 보다 간에서 그 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소들은 xanthine oxidase (정성광 외, 1994), cytosolic glutathione S-transferase, cytosolic glutathione peroxidase (곽춘식 외, 1990), mitochondrial monoamine oxidase (정성광과 곽춘식, 1992), catalase (문교철, 1992) 등을 들 수 있으며 간에서 그 활성도가 감소되는 생체이물 생체 변환 효소는 microsomal glutathione S-transferase (곽춘식 외, 1990)를 들 수 있다. 그리고 급성 주정 중독시 담즙을체가 야기되면 담즙을체만 있을 때보다 혈청에서 그 활성도가 증가되는 생체이물 생체 변환 효소들은 alcohol dehydrogenase (문교철, 1992)

와 xanthine oxidase (정성광 외, 1994) 등을 들 수 있고 그 활성도가 감소되는 효소들은 carboxylesterase와 arylesterase (안광욱, 1993)를 들 수 있다. 따라서 이 실험에서 활성도를 측정한 AST isozyme들과 UDP-GT도 간에서 합성이 활발한 생체이물 생체 변환 효소이며, 만성 주정 중독시 담즙을체를 야기시켰을 때 간에서 그 활성도가 변동 (조경일, 1995)되므로 급성 주정 중독시에도 담즙을체가 야기되면 간에서 그 활성도의 변동은 심해질 것으로 생각된다.

이 실험 성격에서 쥐 간의 mitochondrial AST I-II 및 AST III-IV isozyme의 활성도를 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시킨 군들과 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군들간에 상호 비교했을 때 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 이들 효소의 활성도는 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군에 비해 통계학적으로 유의하게 증가되지 않았다. 그러나 간의 cytosolic 및 microsomal AST I-II 및 AST III-IV isozyme의 활성도는 이들 군 상호간에 유의한 차이가 없었다.

이 실험 성격에서 쥐간의 microsomal UDP-GT 활성도를 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시킨 군들과 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군들간에 상호 비교했을 때 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 이 효소의 활성도는 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군에 비해 통계학적으로 유의하게 더 감소되었다.

이상의 성격을 볼 때 쥐간의 mitochondrial AST isozyme들과 microsomal UDP-GT는 담즙을체시 급성 주정 중독이 야기되면 담즙을체만 있을 때보다 그들의 활성도가 감소되는 효소로 생각된다.

이 실험 성격에서 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 시킨군에서 간의 mitochondrial AST I-II 및 AST III-IV isozyme과 간의 microsomal UDP-GT의 Vmax치를 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군의 이들 효소의 Vmax치와 비교했을 때 모두 통계학적으로 유의한 감소를

나타내었다. 그러나 양 군 간에 이들 효소의 Km치는 유의한 차이가 없었다. 이와 같이 담즙을체시 급성 주정 중독을 야기했을 때 이들 효소의 Km치가 변동이 없으면서도 담즙을체만 야기시켰을 때보다 그 활성도가 저하되고 또한 Vmax치가 감소된 것은 이들 효소의 활성도 저하가 촉매 효율의 저하로 나타난 결과라 보기는 어렵다. 따라서 담즙을체 시 급성 주정 중독이 야기되면 이들 효소는 담즙을체만 있을 때보다 그 합성이 감소되는 것으로 생각된다.

이 실험 성격에서 쥐 혈청의 AST I-II 및 AST III-IV isozyme의 활성도를 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시킨 군들과 대조군인 총담관 결찰 후 14일 경과시킨 군들 간에 상호 비교했을 때 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기시키고 1.5시간 및 24시간 경과시킨 군에서 이들 효소의 활성도는 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과한 군에 비해 통계학적으로 유의하게 더 증가되었다. 이 성격은 담즙을체 시 급성 주정 중독으로 간손상이 증폭되면 이들 효소의 혈중 누출이 심해진다는 것을 나타낸 성격이라고 할 수 있다. 담즙을체간과 주정 중독 간은 괴사가 진행되는 간이며 (Moritz and Snodgrass, 1972; 장대성 외, 1987; 김효석 외, 1989; Hall, 1994) 간의 괴사가 진행될 때는 간에서 효소들의 누출이 심해진다 (Lind, 1958; 곽춘식 외, 1988; 김여희 외, 1990)고 하며, 또한 담즙을체 시 간에서 AST isozyme들의 누출이 심해져서 혈중에 그 활성도가 증가된다는 보고 (Ihm *et al.*, 1995)가 있으므로 이 실험에서 환쥐에게 담즙을체와 급성 주정 중독을 병행될 때 혈청에서 이들 효소의 활성도가 담즙을체만 있을 때보다 증가된 것은 간 세포막의 손상이 더욱 심해져서 이들 효소의 혈중 누출이 담즙을체만 있을 때보다 더욱 심해진 것이라 생각된다.

이상 이 실험 성격과 문헌상의 지견으로 보아 간의 mitochondrial AST isozyme들과 UDP-GT는 담즙을체 시 급성 주정 중독이 야기되면 담즙을체만 있을 때보다 합성이 감소되는 효소로 생각되며, 또한 담즙을체 시 급성 주정 중독이 야기되면 담즙을체만 있을 때보다 간손상이 심해져서 간에서 혈중으로 AST의 누출이 더욱 증가되는 것

으로 생각된다. 따라서 이들 성적은 담즙을체로 간손상이 있을 때 음주를 하면 간 손상이 더욱 심해질 것이라는 것을 시사해 준다.

## 요 약

이 연구는 간담도 질환 시 음주의 해로움에 대한 생화학적 배경의 일단으로 밝히고자 시행한 실험으로서 담즙을체가 진행되는 흰쥐에게 급성 주정 중독을 야기시킨 후 간과 혈청의 aryl sulfotransferase (AST) isozyme들과 간 microsome의 UDP- glucuronosyltransferase (UDP-GT) 활성도를 측정하였으며 한편 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 시킨 간에서 이들 효소의 Km과 Vmax치를 측정하였다.

쥐간 mitochondria의 AST I-II 및 AST III-IV isozyme의 활성도를 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기한 군과 대조군인 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군 간에 비교했을 때 이들 효소의 활성도는 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기한 군이 총담관을 결찰한 후 14일 경과시킨 군보다 소폭으로 증가되었다. 그러나 혈청에서 이들 효소의 활성도는 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기한 군이 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군보다 더욱 증가되었다.

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기한 군과 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군에서 간 microsome의 UDP-GT 활성도를 비교했을 때 간 misosome에서 이 효소의 활성도는 총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기한 군이 총담관만 결찰한 후 14일 경과한 군보다 더 감소되었다.

총담관 결찰 후 14일에 급성 주정 중독을 야기한 군에서 간 mitochondria의 AST I-II, AST III-IV isozyme과 간 microsome의 UDP-GT의 Vmax치를 총담관만 결찰한 후 14일 경과시킨 군의 이들 효소의 Vmax치와 비교했을 때 모두 유의한 감소를 나타내었다. 그러나 양군 간에 이들 효소의 Km치는 유의한 차이가 없었다.

이상의 결과로 보아 mitochondria의 AST와 간 microsome의 UDP-GT는 급성 주정 중독 시 담즙을체가 야기되면 그 합성이 담즙을체만 있을 때 보다 감소되는 효소로 생각되며, 또한 급성 주정

중독 시 담즙을체가 야기되면 담즙을체만 있을 때 보다 간세포막의 손상이 심해져서 간에서 혈중으로 AST의 누출이 더욱 증가된 것으로 생각된다. 또한 이들 성적은 담즙을체로 간손상이 있을 때 음주를 하면 간손상이 더욱 심해질 것이라는 것을 시사해준다.

## 참 고 문 헌

- 곽춘식: 흰쥐 담즙을체간의 Xanthine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1985; 4 (2): 125-130.
- 곽춘식, 곽정식: 흰쥐 간세포분획법 I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 1986; 5 (1): 45-53.
- 곽춘식, 김여희, 문교철: 흰쥐 담즙을체간에서의 알콜대사 효소들의 활성치. 계명의대논문집 1988; 7 (1): 64-75
- 곽춘식, 김여희, 조준승: Ethanol중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 Glutathione S-Transferase, Glutathione Peroxidase 및 Glutathione Reductase 활성에 미치는 영향. 한국생화학지 1990; 23 (2): 251-262.
- 곽춘식, 이숙형: 흰쥐 담즙을체간의 Carboxylesterase, Arylesterase 및 Cholinesterase의 활성도. 한국생화학지 1992; 25 (3): 251-261.
- 권용철, 문교철, 곽춘식: 흰쥐 담즙을체간의 Glutathione S-Transferase, Glutathi-one Reductase 및 Glutathione Peroxidase의 활성도. 계명의대논문집 1990; 9 (2): 159-170.
- 김성수, 박성대, 곽춘식: 주정 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 Cathepsin B,D,H와 Acid Phosphatase 활성에 미치는 영향. 대한소화기 병학회지 1993; 25 (4): 696-708.
- 김여희, 곽춘식, 정성광: Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 혈청 및 간의 Aspartate Aminotransferase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1990; 9 (1): 87-95.
- 김효석, 박재웅, 김은영, 곽규식, 최용한, 정준모: 총담관 결찰시 간세포의 초미형 태학적 변화. 대한내과학회지 1989; 36 (4): 459-470.
- 문교철: Ethanol 중독 흰쥐에서 총담관 결찰이 간의 Alcohol 대사 효소들의 활성에 미치는 영향.

- 경희대학교대학원 박사학위논문 1992; 1-62.
- 문교철, 곽춘식: 흰쥐 담즙율체간의 Monoamine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1989; 8 (1): 69-77.
- 안광육: 주정 중독 환쥐에서 총담관 결찰이 간의 Carboxylesterase 및 Arylesterase 활성에 미치는 영향. 계명대학교대학원 박사학위논문 1993; 1-59.
- 장대성, 곽정식, 손태중: 총담관 결찰에 의한 담관 증식성 변화의 초미형태학적 연구. 경북의대잡지 1987; 28 (2): 113-122.
- 정성광, 곽춘식: ethanol 중독 환쥐에서 총담관 결찰이 간의 Monoamine Oxidase 활성에 미치는 영향. 한국생화학회지 1992; 25 (3): 210-218.
- 정성광, 김여희, 곽춘식: 주정 중독 환쥐에서 총담관 결찰이 간의 Xanthine Oxidase 활성에 미치는 영향. 계명의대논문집 1994; 13 (1): 64-72.
- 조경일: 만성 주정 중독 환쥐에서 총담관 결찰이 간의 Aryl Sulfotransferase 및 UDP-Glucuronosyltransferase 활성에 미치는 영향. 계명대학교 대학원 박사학위논문 1995; 1-42.
- Anderson RJ, Garcia MJ, Liebentritt DK, Kay HD: Localization of human blood phenol sulfotransferase activities: Novel detection of the thermostable enzyme in granulocytes. *J Lab Clin Med* 1991; 118 (5): 500-509.
- Banerjee RK, Roy AB: The sulfotransferase of guinea pig liver. *Mol Pharmacol* 1966; 2 (1): 56-66.
- Bosron WF, Li TK: Alcohol dehydrogenase, in Jakoby WB (ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*, New York, Academic Press, 1980, Vol 1, pp 231-244.
- Campbell NR, Van Loon JA, Sundaram RS, Ames MM, Hansch C, Weinshilboum R: Human and rat liver phenol sulfotransferase: Structure-activity relationships for phenolic substrates. *Mol Pharmacol* 1987; 32 (6): 813-819.
- Chang ES: Light and electron microscopic studies of liver biopsies on alcoholic patients. *J Clin Electron Microscopy* 1985; 18 (4): 331-337.
- Chang ES: Ultrastructural morphogenesis of mitochondria in alcoholic liver. *Acta Pathol Jpn* 1987; 37 (2): 213-224.
- Christ DD, Walle T: Stereoselective sulfation of R, S-4'-hydroxypropranolol by canine hepatic cytosol and partially purified phenol sulfotransferase. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 251 (3): 949-955.
- Desmet VJ: Cholestasis; extrahepatic obstruction and secondary biliary cirrhosis, in MacSween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, Burt AD, Portman BC (eds): *Pathology of the Liver*, 3 ed., New York, Churchill Livingstone, 1994, pp 425-474.
- Ellenhorn MJ, Barceloux DG: *Medical Toxicology Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*. New York, Elsevier Science Publishing, 1988, pp 782-796.
- Falany CN, Vazquez ME, Heroux JA, Roth JA: Purification and characterization of human liver phenol-sulfating phenol sulfotransferase. *Arch Biochem Biophys* 1990; 278 (2): 312-318.
- Gornall AG, Bardawill CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J Biol Chem* 1949; 177 (3): 751-766.
- Greenberg DM, Rothstein M: Method for isolation and degradation of labelled compounds, in Colowick SP, Kaplan NO (eds): *Method in Enzymology*, New York, Academic Press, 1957, Vol 4, pp 708-731.
- Hall PM: Alcoholic liver disease, in MacSween RNM, Anthony PA, Scheuer PJ, Burt AD, Portman BC(eds): *Pathology of the Liver*, 3 ed., New York, Churchill Livingstone, 1994, pp 317-348.
- Halsted JA: *The Laboratory in Clinical Medicine. Interpretation and Application*. London, Saunders, 1976, pp 426-429.
- Hidaka H, Nagatsu T, Yagi K: Formation of serotonin O-sulfate by sulpho-transferase of

- rabbit liver. *Biochim Biophys Acta* 1969; 177 (2): 354-357.
- Ihm JS, Kim YH, Kwak CS: Aryl sulfotransferase activity in cholestatic rat liver induced by common bile duct ligation. *Korean J Biochem* 1995; 27 (3): 141-147.
- Jakoby WB, Bend JR, Caldwell J: *Metabolic Basis of Detoxication. Metabolism of Functional Groups*. New York, Academic Press, 1982, pp 5-317.
- Jakoby WB, Sekura RD, Lyon ES, Marcus CJ, Wang JL: Sulfotransferases, in Jakoby WB (ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*, New York, Academic Press, 1980, Vol II, pp 199-228.
- Kaplan MM, Righetti ABB: Induction of rat liver alkaline phosphatase: The mechanism of the serum elevation on bile duct obstruction. *J Clin Invest* 1970; 49 (3): 508-516.
- Kasper CB, Henton D: Glucuronidation, in Jakoby WB (ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*, New York, Academic Press, 1980, Vol II, pp 3-36.
- Kim BK: *Enzyme Nomenclature*. IUB, New York, Academic Press, 1979, pp 164-165.
- Kim BK: *Enzyme Nomenclature*. IUB, New York, Academic Press, 1984, pp 266-267.
- Lieber CS: Alcohol metabolism, in Hall P (ed): *Alcoholic Liver Disease, Pathobiology, Epidemiology and Clinical Aspects*, Frome and London, Edward Arnold, 1985, pp 1-24.
- Lind S: A comparison between the patterns (GOT, GTP, LD) in serum and tissue extracts in cardiac hepatic disease. *Scand J Clin Lab Invest* 1958; 10 (2): 303-307.
- Liu SJ, Ramsey RK, Fallon HJ: Effect of ethanol on hepatic microsomal drug metabolizing enzymes in the rats. *Biochem Pharmacol* 1975; 24 (3): 369-378.
- Moritz M, Snodgrass PJ: Serum enzymes derived from liver cell fraction. II. Responses to bile duct ligation in rats, *Gastroenterology* 1972; 62 (1): 93-100.
- Reinke LA, Moyer MJ, Notley KA: Diminished rates of glucuronidation and sulfation in perfused rat liver after chronic ethanol administration. *Biochem Pharmacol* 1986; 35 (3): 439-447.
- Righetti ABB, Kaplan MM: Effect of actinomycin D on rat liver alkaline phosphatase. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971; 136 (2): 491-495.
- Segel IH: *Biochemical Calculations*. 2 ed, New York, Wiley and Sons, 1976, pp 214-246.
- Sekura RD, Duffel MW, Jakoby WB: Aryl sulfotransferase, in Jakoby WB (ed): *Method in Enzymology*, New York, Academic Press, 1981, Vol 77, pp 197-206.
- Sherlock DS: *Diseases of the Liver and Biliary System*. 7 ed., Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985a, pp 79-80.
- Sherlock DS: *Diseases of the Liver and Biliary System*. 7 ed., Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985b, pp 346-360.
- Toda G, Ikeda Y, Kako M, Oka H, Oda T: Mechanism of elevation of serum alkaline phosphatase activity in biliary obstruction: An experimental study. *Clin Chim Acta* 1980; 107 (1-2): 85-96.
- Wooddell WJ: Liver disease in alcohol addicted patients, in Davidson SV(ed): *Alcoholism and Health*, Century Boulevar, Aspen System, 1980, pp 125-134.