

Ethanol중독 흰쥐에서 총담관결찰이 혈청 및 간의 Alanine Aminotransferase 활성에 미치는 영향*

계명대학교 의과대학 생화학교실

김 여 회 · 광 춘 식

경북대학교 의과대학 비뇨기과학교실

정 성 광

= Abstract =

Effect of Common Bile Duct Ligation on The Serum and Liver Alanine Aminotransferase Activities in Ethanol Intoxicated Rats

You Hee Kim, MD; Chun Sik Kwak, PhD

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

Sung Kwang Chung, MD

*Department of Urology, Kyungpook National University
School of Medicine, Taegu, Korea*

This study was intended to observe the effect of common bile duct ligation on serum and liver alanine aminotransferase(ALT) activities in rats suffering from acute and chronic intoxication of ethanol.

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

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

In terms of rats liver cytosolic and mitochondrial ALT activities, no significant increase was shown in either chronically intoxicated ethanol group or acutely intoxicate ethanol group. The liver cytosolic and mitochondrial ALT activities of the common bile duct ligation groups showed a significant decrease at the 7th and the 14th days of the ligation. And the groups of acute intoxication with ethanol which was done after 14days

* 이 논문은 1989년도 동산의료원 조사연구비로 이루어졌음.

of the common bile duct ligation, the rats showed considerable decrease in the activities. The activities, however, both the groups that recieved the common bile duct ligation after being chronically intoxicated with ethanol which was done after 14days of the common bile duct ligation showed far less decreases on the same time points than the group only with the common bile duct ligation.

The serum ALT activities showed slight increase in acutely intoxicated ethanol group. On the other hand, both the common bile duct ligation groups and the one the received the same ligation after being chronically intoxicated with ethanol showed remakable increase in the activities. But the activity, the groups that received the common bile duct ligation after chronical ethanol intoxication showed far more signitcant increases on the 7th and 14th days than the groups only with the common bile duct ligation, considerable activity increases were also shown when the groups were acutely intoxicated with ethanol after the ligation.

서 론

재료 및 방법

Alanine aminotransferase(L-alanine:2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2. 6. 1. 2, ALT)는 pyridoxal phosphate를 조효소로 사용하는 효소로서 생체 내에서 가역적으로 L-glutamic acid와 pyrurie acid로부터 α-ketoglutaric acid와 L-alanine을 생성하는 아미노기 전이반응을 촉매하는 효소이다^{1,4)}. 이 효소는 포유동물의 거의 모든 세포에 분포되어 있으며 간, 심근, 신, 골격근의 순으로 그 활성이 높다⁵⁾고 한다.

이 효소는 aspartate aminotransferase 및 lactate dehydrogenase와 같이 주로 간세포막의 투과성 항진으로 세포외로 누출되는 것⁶⁾으로 알려져 있다. 그리고 이 효소의 세포의 누출은 간담도계 질환에서 특이적⁷⁾이라 하며, 특히 간세포의 괴사가 있을 때 간조직에서 그 활성이 저하된다^{6, 8)}고 한다.

한편 음주로 인해 지방간, 간염 및 간경변증이 초래된다는 보고⁹⁾가 있고 보면 음주시나 alcohol중독시 간질환이 야기되었을 때는 간조직과 혈청에서 이 효소의 활성변동이 더욱 심할 것으로 생각된다. 또한 일반적으로 간담도 질환시 음주는 해롭다고 하나 아직도 그 학문적 뒷바침은 분명치 않다. 따라서 이에 대한 학문적 해명은 있어야 하겠으며 이 문제에 대한 접근은 먼저 효소학적 연구로부터 시작되어야 한다고 생각된다. 이 연구는 이러한 문제를 해결기 위한 일환으로 시도한 것으로서 만성 etharol중독 흰쥐에게 담즙울체를 야기시키거나 담즙울체가 진행되는 흰쥐에게 급성 ethanol중독을 야기시킨 후 혈청과 간조직에서 이 효소의 활성도를 측정하여 그 성적을 비교한 것이다.

동물 : 동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 280~320g이 되는 Sprague-Dawley 종의 숫흰쥐를 사용하였으며 1군을 5마리로 하여 다음과 같이 총 26군으로 나누었다(도1 참조). 즉 정상군(1군), 총담관결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 총담관결찰군(총 5군), 단순 회복술 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 가수술군(총 5군), Eagon 등의 방법¹⁰⁾에 따라 5%(v/v) ethanol을 60일간 투여한 후 계속 ethanol을 투여하면서 총담관결찰 후 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일에 각각 죽인 만성 alcohol중독후 총담관을 결찰한 군(총 5군), 5%(v/v) ethanol을 60일간 투여한 후 계속 5% ethanol을 투여하면서 가수술을 한 후 1일, 2일, 3일 7일 및 14일에 각각 죽인 만성 alcohol중독후 가수술을 한군(총 5군), Lie닝의 방법¹¹⁾에 따라 체중 Kg당 4g의 ethanol을 투여하고 각각 1.5시간 및 24시간에 죽인 급성 alcohol중독군(총 2군), 총담관결찰 14일 후 체중 kg당 4g의 ethanol을 투여하고 각각 1.5시간 및 24시간에 죽인 총담관결찰후 급성alcohol 중독을 시킨 군(총 2군)등이다.

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 사판되는 진양 사료주식회사의 실험동물사료를 먹게 하였다.

만성 alcohol중독군, 만성 alcohol 중독후 가수술을 한 군 및 만성 alcohol 중독후 총담관결찰을 한 군에서는 물 대신 5%(v/v) ethanol용액을 자유로이 먹게 하였다. 그리고 급성 alcohol중독은 흰쥐 체중 kg 당 4g의 ethanol이 투여되도록 25%(w/v)ethanol 용액을 조제하여 단회 경구투여하였다.

총담관결찰술 및 간적출술은 효소 활성의 일증변

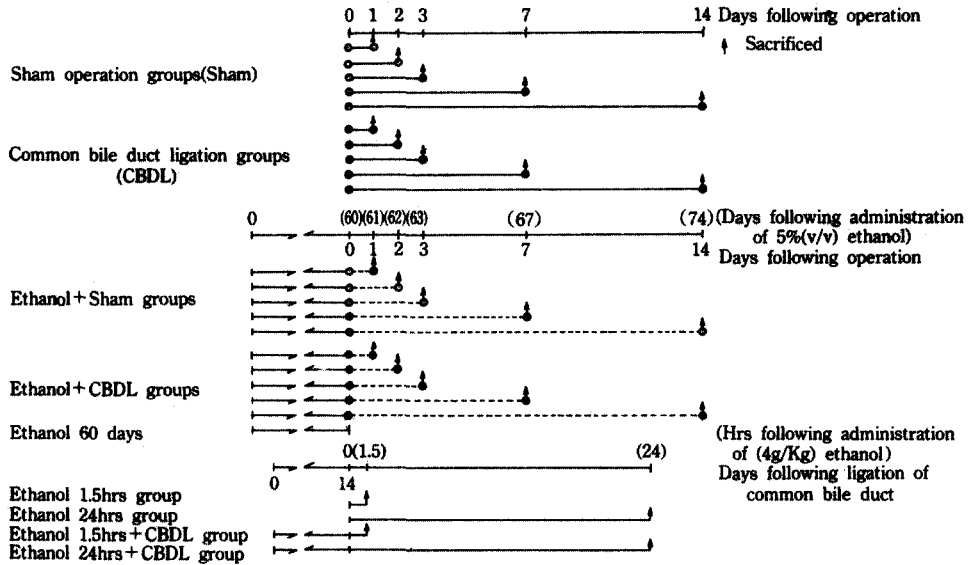


Fig 1. Experimental design

동물 고려하여 일정 시간에 시행하였으며 12시간 금식시킨 후 ether마취 하에서 무균상태를 유지하면서 실시하였다.

담관결찰은 총담관의 간근위부와 원위부를 1cm 간격으로 이중 결찰하여 결찰 중간 부분을 절단하였으며, 간적출은 개복한 흰쥐의 복부대동맥으로부터 채혈하면서 실험사시킨 다음 간문맥으로 canulation하여 4°C의 0.25M sucrose 액으로 관류시킨 후 실시하였다. 그리고 가수술은 단순 개복술만을 시행하였다.

시약 : Sodium deoxycholic acid, L-alanine, α -keto-glutaric acid, lithium pyruvate, 종합표준효소(enzyme control 2-N), 단백표준액(10g/100ml bovine albumin) 등은 Sigma사의 제품을 사용하였으며, sodium phosphate dibasic, potassium phosphate monobasic 및 2, 4-dinitrophenylhydrazine 및 그 외 일반시약들은 시판되는 특급품을 사용하였다.

세포질액 및 mitochondria의 분리 : 적출한 간은 면포로 가볍게 압박하여 관류할 때 남은 sucrose액을 제거한 다음 2~4°C로 유지하면서 절편으로 만들고, 그 중 약 2g을 취하고 여기에 9배량의 0.25M sucrose액을 가하여 teflon glass homogenizer (Thomas 사제품, chamber clearance 0.005~0.007inch)로 역시 2~4°C로 유지하면서 400rpm으로 5회 왕복 마쇄하여 10%(w/v) 간균질액을 만들었다. 이 간균질액을 사용

하여 sucrose linear density gradient 초원심분리법¹²⁾으로 세포질과 mitochondria 분획을 얻었다. 즉, 간균질액을 571xg(average relative centrifugal force, 이하 생략)에서 10분간 원심분리하여 조직의 미마쇄부분, 핵과 원형질막등을 침전시킨 뒤 상청을 취하고 7,796xg에서 20분간 원심분리하여 pellet와 상청으로 나누었다. 이 상청을 104,400xg에서 1시간 초원심분리하여 분리된 상청액을 세포질액으로 사용하였다. 그리고 7,796xg에서 20분간 원심분리한 과정에서 얻은 pellet를 0.25M sucrose액에 현탁시킨 것을 20~45%(w/v) sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심관 상부에 부하시켜 45,200xg에서 20분 초원심분리하여 얻은 침전물을 0.25M sucrose액에 재현탁시켜서 7,796xg에서 20분간 원심분리해서 얻은 pellet를 mitochondria액으로 사용하였다.

이와 같은 세포분획 조작은 2~4°C에서 시행하였으며 사용한 원심분리기는 Du Pont Sorvall사의 RC-5B refrigerated superspeed centrifuge와 OTD-65B ultracentrifuge였다. 그리고 sucrose linear density gradient 용액은 gradient former(ISCO model 570)를 사용하고 제조하였다.

효소액 조제 : 분리한 mitochondria 분획은 단백질량으로 5mg/ml되게 0.25M sucrose액으로 현탁시켰으며 이 현탁액을 1% sodium deoxycholic acid를 함유한 1% sodium bicarbonate액으로 2배로 희석하여 ultra-

sonic dismembrator(Fisher model 300)으로 20±0.4 kcycle/sec의 속도로 2~4°C에서 2분씩 5회 초음파 마쇄한 것을, 그리고 세포질액과 혈청은 아무런 처리를 하지않은 것을 ALT 효소액으로 사용하였으며, 이들 효소액을 다시 효소 활성도 측정시 적절히 희석하여 사용하였다.

효소 활성도 측정 : 혈청과 간조직의 세포질액 및 mitochondria 분획 중의 ALT 활성도의 측정은 L-alanine과 α-ketoglutaric acid를 기질로 사용하여 37°C에서 30분간 반응시키는 동안에 생성된 pyruvate를 2,4-dinitrophenylhydrazine으로 발색시켜 505nm 파장에서 비색정량하는 Reitman-Frankel법¹³⁾에 의하였다. ALT 활성도의 단위는 Reitman-Frankel 단위로 나타내었으며 이의 산출은 Reitman-Frankel법¹³⁾에 의해 표준검량곡선을 작성하여 산출하였다. 특히 간조직의 세포질액 및 mitochondria의 ALT 활성도는 표준검량곡선에서 얻은 성적에서 검체 효소액의 희석배수와 검체 효소액 중의 단백질량으로 부터 환산하여 나타내었다.

이 실험에서 채택한 효소 활성 측정법의 정확도를 높이기 위하여 Sigma사의 표준효소를 사용하여 검정하였으며 같은 시료에 대해 2회 측정하여 그 평균치를 취하였다. 사용한 분광광도계는 Varian Cary 210, computer controlled enzyme spectrophotometer였다.

단백 정량 : 효소액 중의 단백질 정량은 0.5N perchloric acid와 methanol:ether 혼합액(3 : 1)으로 단백을 정제한¹⁴⁾ 다음 biuret법¹⁵⁾으로 정량하였다.

성적들의 평균치 중 상호비교가 필요한 경우는

Student의 t-검정법¹⁶⁾에 의해 검정하였다.

성 적

만성 ethanol중독 흰쥐에서 총담관결찰이 간의 세포질 및 mitochondria 분획의 ALT 활성도에 미치는 영향 : 만성 ethanol중독을 시킨 흰쥐에서 계속5%(v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때의 간 세포질과 mitochondria 분획의 ALT 활성도의 변동은 각각 표 1 및 2과 같다. 간 세포질의 ALT는 만성 ethanol중독만 시켰을 때는 활성 변동이 없었다. 총담관 결찰군의 간 세포질 ALT는 총담관결찰후 7일 및 14일에 가수술군에 비해 각각 약 28%(P<0,05) 및 약 43%(P<0,01)의 활성 감소를 나타내었다. 만성 ethanol중독후 총담관결찰한 군에서 이 효소의 활성도는 총담관결찰 후 7일 및 14일에 감소되었으나 그 감소의 정도는 총담관결찰군에 비해 덜 현저하였다.

Mitochondria 분획의 ALT 활성도도 역시 만성 ethanol중독만 시켰을 때는 활성 변동이 없었으며 총담관을 결찰했을 때는 역시 세포질 분획에서와 같은 경향으로 7일 및 14일에 가수술군에 비해 각각 약 18%(P<0,05) 및 약 46%(P<0,001)의 감소를 나타내었다. 또한 만성 ethanol 중독후 총담관을 결찰한 군에서도 이 시기에 mitochondria 분획의 ALT 활성도는 역시 감소되었으며 그 감소의 경향은 세포질의 그것과 같았다.

총담관을 결찰한 흰쥐에서 급성 ethanol중독이 간 세포질 및 mitochondria분획의 ALT 활성도에 미치는 영향 : 흰쥐에게 총담관결찰 후 14일에 급성 ethanol중독을 시켰을 때 간의 세포질 및 mitochondria

Table 1. Effect of common bile duct ligation on liver cytosolic alanine aminotransferase(ALT) activities in chronic ethanol intoxicated rats.

Day(s) following operation	ALT activities (Reitman-Frankel unit mg protein ⁻¹)			
	Sham	CBDL	Ethanol + Sham	Ethanol + CBDL
		(Normal; 5,891±1,175, Ethanol; 5,848±1,211)		
1	5,882±1,163	5,839±1,061	5,734±1,166	5,871±1,466
2	5,920±1,096	5,146±1,150	5,890±1,185	5,224±1,476
3	5,868±1,121	4,716± 975	5,757±1,232	5,130±1,349
7	5,931±1,075	4,292± 876 ^a	5,883±1,202	4,962±1,372
14	5,893±1,138	3,373± 605 ^b	5,795±1,148	4,547±1,278

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

Table 2. Effect of common bile duct ligation on liver mitochondrial alanine aminotransferase(ALT) activities in chronic ethanol intoxicated rats.

Day(s) following operation	ALT activities (Reitman-Frankel unit <i>mg</i> protein ⁻¹)			
	(Normal; 2,313±226, Ethanol; 2,417±287)			
	Sham	CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+ CBDL
1	2,352±228	2,275±256	2,440±308	2,342±317
2	2,328±234	2,090±322	2,506±302	2,369±286
3	2,371±251	2,034±308	2,492±268	2,248±269
7	2,391±246	1,969±259 ^a	2,433±321	2,243±307
14	2,366±239	1,272±248 ^c	2,511±298	1,804±243 ^{e,h}

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, c;p<0,001 VS. Sham, e;p<0,01 VS. Ethanol+Sham, h;p<0,01 VS. CBDL

분획의 ALT 활성도의 변동은 각각 표 3 및 4와 같다. 간 세포질 및 mitochondria 분획의 ALT는 급성 ethanol중독만 시켰을 때는 활성 변동이 없었다. 총담관 결찰 후 14일에 급성 ethanol중독을 시킨 군에서의 간 세포질 분획의 ALT 활성은 급성 ethanol중독만 시킨 군에 비해 ethanol 투여 후 1.5시간에는 약 35% (P<0,05), ethanol 투여 후 24시간에는 약 31%(P<0,

05)의 활성 감소를 나타내었다. 그러나 총담관만 결찰하고 14일 경과한 군에 비해서는 그 감소의 정도가 덜 현저하였다. 그리고 mitochondria 분획에서도 ALT활성은 급성 ethanol 중독만 시켰을 때는 세포질 분획에서의와 같은 경향으로 변동이 없었으며, 총담관 결찰 후 14일에 급성 ethanol중독을 시킨 군에서는 급성 ethanol중독만 시킨 군에 비해 ethanol투여 후

Table 3. Effect of common bile duct ligation on liver cytosolic alanine aminotransferase(ALT) activities in acute ethanol intoxicated rats.

Normal	ALT activities (Reitman-Frankel unit <i>mg</i> protein ⁻¹)				
	CBDL 14days	Ethanol 1.5hrs	Ethanol 1.5hrs + CBDL	Ethanol 24hrs	Ethanol 24hrs + CBDL
5,891 ±1,175	3,373 ±602	5,776 ±930	3,781 ±1,064 ⁿ	5,851 ±1,217	4,031 ±1,186 ⁿ

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

Animal groups are described in Fig. 1.

n;p<0,05 VS. Ethanol 1.5hrs, q;p<0,05 VS. Ethanol 24hrs

Table 4. Effect of common bile duct ligation on liver mitochondrial alanine aminotransferase(ALT) activities in acute ethanol intoxicated rats.

Normal	ALT activities (Reitman-Frankel unit <i>mg</i> protein ⁻¹)				
	CBDL 14days	Ethanol 1.5hrs	Ethanol 1.5hrs + CBDL	Ethanol 24hrs	Ethanol 24hrs + CBDL
2,313 ±226	1,272 ±248	2,365 ±218	1,306 ±198 ^p	2,478 ±249	1,427 ±171 ^s

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

Animal groups are described in Fig. 1.

p;p<0,001 VS. Ethanol 1.5hrs, s;p<0,001 VS. Ethanol 24hrs

Table 5. Effect of common bile duct ligation on serum alanine aminotransferase(ALT) activities in chronic ethanol intoxicated rats.

Day(s) following operation	ALT activities (Reitman-Frankel unit)			
	Sham	(Normal; 32±9, Ethanol; 40±12) CBDL	Ethanol+Sham	Ethanol+CBDL
1	29±10	1,878±172 ^c	50±14	2,164±255 ^f
2	27±8	1,820±179 ^c	53±16	2,130±294 ^f
3	30±12	1,620±135 ^c	61±9	1,740±210 ^f
7	31±13	390±90 ^c	39±13	1,570±210 ^{f,i}
14	28±9	167±21 ^c	37±11	1,510±178 ^{f,i}

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. Sham, f;p<0.001 VS. Ethanol+Sham, i;p<0.001 VS. CBDL

Table 6. Effect of common bile duct ligation on serum alanine aminotransferase(ALT) activities in acute ethanol intoxicated rats.

Normal	ALT activities (Reitman-Frankel unit)				
	CBDL 14days	Ethanol 1.5hrs	Ethanol 1.5hrs + CBDL	Ethanol 24hrs	Ethanol 24hrs + CBDL
32 ±9	167 ±21	68 ±12 ⁱ	1,670 ±171 ^{p,w}	56 ±15 ^j	1,750 ±141 ^{s,w}

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

Animal groups are described in Fig. 1.

j;p<0.05 VS. Normal, i;p<0.001 VS. Normal, P;p<0.001 VS. Ethanol 1.5hrs,

s;p<0.001 VS. Ethanol 24hrs, w;p<0.001 VS. CBDL 14days

1.5시간에는 약 45%(P<0.001), ethanol 투여 후 24 시간에는 약 42%(P<0.001)의 활성 감소를 나타내었다. 또한 총담관만 결찰하고 14일 경과한 군과 비교했을 때도 역시 그 감소의 정도는 덜 현저하였다.

만성 및 급성 ethanol중독 흰쥐에서 총담관결찰이 혈청 ALT 활성도에 미치는 영향 : 만성 ethanol중독을 시킨 흰쥐에서 계속 5%(v/v) ethanol을 먹이면서 총담관을 결찰했을 때와 총담관결찰 후 14일에 급성 ethanol중독을 시켰을 때의 혈청 ALT의 활성도의 변동은 각각 표 5 및 6과 같다. 혈청 ALT 활성도는 급성 ethanol중독만 시켰을 때는 약간 증가하였다. 그러나 만성 ethanol중독을 시켰을 때는 별다른 증가를 나타내지 않았다. 총담관만 결찰한 군에서 혈청 ALT 활성도는 총담관결찰 후 1일 부터 급격히 증가하여 가수술군에 비해 65배(P<0.001)의 증가를 나타내었으며 이후 3일 까지 계속 현저히 높은 치를 유지하다가 7일후 부터 감소되었으나 14일 까지도 정상으로 회복되지는 않았다. 만성 ethanol중독 후

총담관을 결찰한 군에서의 혈청 ALT 활성도는 총담관결찰만 한 군과 같이 1일부터 급격한 증가를 나타내었다. 그러나 7일 및 14일 후에는 총담관만을 결찰한 군과는 달리 계속 현저히 높은 활성을 유지하였다. 한편 총담관결찰 후 14일에 급성 ethanol중독을 시켰을 때의 혈청 ALT 활성도는 급성 ethanol중독만 시킨군이나 총담관만 결찰하고 14일 경과한 군에 비해 급격한 증가를 나타내었다.

고 찰

간의 배설기능에 장애가 초래되면 간세포의 세포막과 세포소기관막에 편재되어 있는 alkaline phosphatase, 5-nucleotidase, γ-glutamyl transpeptidase 및 leucine aminopeptidase는 간조직에서 그 활성이 증가^{8, 17)}되며 간세포질에 주로 존재하는 ALT, aspartate aminotransferase 및 lactate dehydrogenase는 그 활성이 감소한다^{8, 18)}고 알려져 있다. 담즙울체간에서

활성이 증가되는 alkaline phosphatase, 5'-nucleotidase, γ -glutamyl transpeptidase 및 leucine aminopeptidase의 활성 증가는 주로 담즙울체시에 간에서 그 합성이 증가되어 나타난 결과^{6, 17)}라고 한다. 그리고 담즙울체간에서 그 활성이 감소하는 ALT, aspartate aminotransferase 및 lactate dehydrogenase의 활성 감소는 주로 간세포막의 투과성 항진으로 이들 효소가 간 외로 누출되어 나타난 결과^{6, 8, 18)}라고 하며, 담즙울체시 간조직에서 누출되는 효소들은 혈중에서 그 활성이 현저히 증가된다고^{6, 8, 18, 19)}고 한다. 이와 같이 담즙울체시 혈중에서 그 활성이 변동되는 효소의 혈중 활성 증가는 다음과 같은 세가지 원인에 기인한다⁸⁾고 한다. 즉 첫째는 배설로의 차단으로 혈중에 역류되어 증가되는 것이고, 둘째는 간에서 그 합성이 증가되어 정상보다 많이 혈중으로 유출되는 것이며, 셋째는 간세포의 투과성 항진으로 혈중에 누출되어 증가되는 것이라 한다.

흰쥐의 총담관을 결찰하여 간에 담즙울체를 야기시켰을 때의 조직 소견을 보면 먼저 모든 간엽에서 괴사현상이 나타나며 담즙울체 후 24시간이 경과했을 때는 간 전역에 심한 괴사현상이 나타나면서 염증성 침윤도 함께 나타난다^{20, 21)}고 한다. 그리고 이후 시간이 경과함에 따라 괴사현상은 점차 소실되는 반면에 담도 증식이 활발해지고 2주경 부터는 섬유화가 시작된다^{20, 21)}고 한다.

이 실험에서 총담관만 결찰했을 때 1일 부터 3일까지의 혈청 ALT의 현저한 활성 증가와 7일과 14일 후의 비교적 덜 현저한 활성 증가현상은 간세포의 괴사⁸⁾와 투과성 항진^{6, 8, 19)}이 있을 때 이 효소의 혈중 활성이 증가된다는 설을 뒷받침해주는 결과라 생각되며 아울러 이 성적은 총담관결찰 후 14일까지의 조직 소견에서 나타낸 괴사의 정도와 일치됨을 보여 주고 있다. 그리고 이 실험에서 총담관만 결찰했을 때 간세포질의 ALT는 총담관결찰 후 시간이 경과하면 그 활성이 점차 감소 되었는데 이 성적은 다른 보고자들의 성적^{8, 18, 22, 23)}과도 일치되며, 이 현상은 담즙울체가 계속될 때는 간세포막의 투과성 항진도 계속되어 세포질에 있던 ALT가 계속 혈중으로 누출되어 나타난 결과라고 설명할 수 있다. 또한 이 실험에서 관찰한 바와 같은 담즙울체간의 mitochondria 분획의 ALT 활성의 변동에 대해서는 다른 연구자의 보고는 찾아 볼 수 없었다. 그러나 담즙울체가 계속되면 담즙울체간에서 점차 그 활성이 감소되는 효소로 보인다.

체내에 흡수된 ethanol은 간에서 주로 대사되며²⁴

²⁵⁾ 이 대사과정은 ethanol이 acetaldehyde로 산화되고 다시 acetate로 산화되어 이용되는 것이다. 이러한 대사과정에서 생성된 acetaldehyde는 간세포막의 손상과 간세포의 괴사를 초래하는 물질²⁶⁾로 알려져 있는 만큼 급성 및 만성 ethanol중독시에 다시 간손상을 야기시킨다면 간손상의 정도는 ethanol중독으로 더욱 증폭될 것으로 생각한다. 따라서 이 실험에서와 같이 급성 및 만성 ethanol중독시 간에 담즙울체를 야기시킨다면 혈청과 간조직에서 ALT 활성의 변동은 더욱 심해질 것이다.

이 실험에서 급성 및 만성 ethanol중독만을 시켰을 때 간의 세포질과 mitochondria 분획의 ALT 활성도는 감소되지 않았으며 또한 혈청의 ALT 활성도도 급성 ethanol중독군에서만 약간 증가됨을 볼 때 이 실험과 같이 ethanol중독만 시킨 조건에서는 간세포의 투과성 항진이 뚜렷하게 나타나지는 않는 것으로 생각된다. 그러나 이 실험에서 흰쥐에게 만성 ethanol중독을 시킨 후 총담관결찰 후 7일과 14일에, 그리고 총담관결찰 14일에 급성 ethanol중독을 시켰을 때에, 간의 세포질과 mitochondria 분획에서 ALT 활성이 현저한 감소를 나타내었다. 그리고 총담관결찰 후 14일에 급성 ethanol중독을 시켰을 때에도 간의 세포질과 mitochondria분획에서 ALT 활성이 현저한 감소를 나타내었으며, 만성 ethanol중독후 총담관을 결찰했을 때와 만성 ethanol중독 후 14일에 ethanol중독을 시켰을 때는 실험 전기간 동안 혈청 ALT의 현저한 활성 증가를 나타내었다. 이 성적은 곧 급성 및 만성 ethanol중독시에 간손상을 야기시킨다면 간손상의 정도가 증폭된다는 것을 암시해주는 것이 되겠다.

이상 문헌 상의 지견과 이 실험의 결과를 통해 급성 및 만성 ethanol중독시 담즙울체가 야기되었을 때는 간조직의 ALT가 혈중으로 훨씬 많이 누출되는 것으로 생각되며 아울러 간손상의 정도는 ethanol중독으로 더욱 증폭되는 것이 아닌가 생각된다.

요 약

급성 및 만성 ethanol중독 흰쥐에서 담즙울체가 혈청과 간의 ALT 활성 변동에 미치는 영향을 알아보기 위하여 이 연구를 하였다.

만성 ethanol중독은 흰쥐에게 물대신 5%(v/v) ethanol을 60일간 섭취시킴으로써 야기했으며 60일간 ethanol을 섭취한 흰쥐에게 총담관을 결찰한 후 ethanol을 섭취시키면서 1일, 2일, 3일, 7일 및 14일 후

흰쥐를 죽여 혈청과 간의 세포질 및 mitochondria 분획에서 ALT 활성도를 측정하였다. 급성 ethanol 중독은 흰쥐의 체중 Kg 당 4g의 ethanol을 단회 경구투여한 후 1.5시간 및 24시간에 흰쥐를 죽여 혈청과 간의 세포질 및 mitochondria 분획에서 ALT 활성도를 측정하였다. 한편 총담관결찰 후 14일 경과한 흰쥐에게 급성 ethanol 중독을 시킨 후 1.5시간 24시간에 흰쥐를 죽여 실험에 제공하였다.

만성 및 급성 ethanol 중독만 시켰을 때는 간의 세포질 및 mitochondria 분획에서 ALT의 활성 변동은 없었다. 만성 ethanol 중독 후 총담관을 결찰한 군에서 수술 후 7일 및 14일에 간의 세포질과 mitochondria 분획에서 ALT의 활성도는 현저한 감소를 나타내었다. 그러나 총담관결찰만 한 군에 비해서는 그 활성이 훨씬 높았다. 그리고 총담관결찰 후 14일에 급성 ethanol 중독을 시키고 1.5시간 및 24시간 경과했을 때 이들 분획 중의 ALT 활성도는 현저한 감소를 나타내었다. 그러나 총담관결찰만 하고 14일 경과한 군에 비해서는 그 활성이 높았다.

혈청 ALT 활성도는 급성 ethanol 중독을 시켰을 때는 약간 증가하였다. 만성 ethanol 중독 후 총담관을 결찰한 군에서의 혈청 ALT 활성도는 총담관결찰만 한 군과 마찬가지로 술후 1일 부터 급격한 증가를 나타내었다. 그러나 7일 및 14일 후에는 총담관결찰만 한 군에서의 변동과는 달리 현저히 높은 활성을 유지하였다. 총담관결찰 후 14일에 급성 ethanol 중독을 시켰을 때의 혈청 ALT는 급성 ethanol 중독만 시킨 군과 총담관결찰만 한 군 모두에 비해 훨씬 높은 활성을 나타내었다.

참 고 문 헌

1. Cohen pp: Kinetics of transaminase activity. *J Biol Chem* 1940; 136: 585.
2. Cohen pp, Hekhius GL: Rate of transaminase in normal tissues. *J Biol Chem* 1941; 140: 711.
3. Wilkinson JH: The Principles and Practice of Diagnostic Enzymology, *Great Britain, Edward Arnold Publishers*, 1976, p 87.
4. Kim BK: Enzyme Nomenclature, IUB, New York, Academic Press, 1979, p 188.
5. Wröblewski F, LaDue JS: Serum glutamic oxaloacetic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Med* 1956; 91: 569.
6. Linde S: A comparison between the patters (GOT, GPT, LDH) in serum and tissue extracts in cardiac hepatic disease. *Scand J Clin Lab Invest* 1958; 10: 3-3.
7. 北村元仕: 血清酵素의 異常(日文) 東京, 醫學書院, 1985, p 15.
8. 광춘식, 장억규: 흰쥐 담즙울체 간장의 5-Nucleotidase와 Gamma-Glutamyl Transpeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1985; 4: 1.
9. Wooddell WJ: Liver disease in alcohol addicted patients, in Davidson sv(ed): Alcoholism and Health, *Century Boulevard, Aspen system Co*, 1980, p 125.
10. Eagon PK, Willet JE, Seguiti SM: Androgen responsive functions of male rat liver. Effect of chronic alcohol ingestion. *Gastroenterology* 1987; 93: 1162.
11. Liu SJ, Ramsey PK, Fallon HJ: Effect of ethanol on hepatic microsomal drug metabolizing enzymes in the rat. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 369.
12. 광춘식, 광정식: 흰쥐간 세포분획법. I. Mitochondria 및 Microsome의 분리. 계명의대논문집 1986; 5: 45.
13. Reitman S, Frankel S: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Path* 1957; 28: 56.
14. Greenberg DM, Rothstein M: Method for isolation and degradation of labeled compounds, in Colowick SP, Kaplan NO(eds): *Method in Enzymology*. New York, Academic Press, 1957, vol 4, P 708.
15. Gornall AG, Bardawill CJ, David MM: Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J Biol Chem* 1949; 177: 751.
16. Scheffler WC: Statistics for the biological sciences, eds. USA Menlo Park, 1980, p 84.
17. 광춘식: 총수담관을 결찰한 흰쥐의 혈청 및 간장의 Leucine Aminopeptidase에 미치는 Actinomycin-D의 영향. 경북의대잡지 1980; 21: 126.
18. 광춘식, 이상일: 흰쥐 담즙울체간의 Malate Dehydrogenase의 활성치. 계명의대논문집 1985; 4: 131.
19. 김여희, 문교철, 광춘식: 총담관을 결찰한 흰쥐 혈청의 Mitochondrial Aspartate Aminotransferase의 활성치. 계명의대논문집 1987; 6: 271.
20. Moritz M, Snodgrass PJ: Serum enzymes derived from liver cell fraction. II. Responses to bile duct ligation in rats. *Gastroenterology* 1972; 62: 93.

21. 장대성, 곽정식, 손태중: 총담관 결찰에 의한 담관증식성 변화의 초미형태학적 연구. 경북의대지 1987; 28: 113.
22. 정상호, 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Leucine Aminopeptidase의 활성치. 계명의대논문집 1987; 6: 210.
23. 곽춘식: 흰쥐 담즙울체간의 Xanthine Oxidase의 활성치. 계명의대논문집 1985; 4: 125.
24. Kai LT: Enzymology of human alcohol metabolism. *Adv Enzymol* 1977; 45: 427.
25. Winkler K, Lundquist F, Tygstrup N: The hepatic metabolism of ethanol in patients with cirrhosis of the liver. *J Clin Lab Invest* 1969; 23: 59.
26. Bosron WF, Li TK: Alcohol dehydrogenase, in Jakoby WB(ed): *Enzymatic Basis of Detoxication*. New York, Academic Press, 1980, vol, p 231.
27. Roach M: Microsomal ethanol oxidation: Activity in vitro and in vivo, in Majchrowicz E(ed): *Biochemical Pharmacology of Ethanol*. New York, Plenum Press, 1975, p 33.
28. Chance B, Oshino N, Sugano T, Jamieson D: Role of catalase in ethanol metabolism, in Thurman RG, Yonetani T, Williamson JR, Chance B(eds): *Alcohol and Aldehyde Metabolizing System*. New York, Academic Press, 1974, p 169.
29. Sherlock DS: *Diseases of the liver and biliary system*, ed 7. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985, p 348.