

흰쥐에서 내독소의 비경구 투여가 혈청 및 간의 Monoamine Oxidase 및 Xanthine Oxidase 활성 변동에 미치는 영향*

계명대학교 의과대학 생화학교실

곽 춘 식

경상북도 보건환경연구원 미생물과

문교철 · 김상철

서 론

Gram 음성균의 감염으로 초래되는 내독소 혈증은 전신 장기에 손상(Toba 등, 1982)을 유발하며 특히 간에 많은 영향을 미친다(Hirata 등, 1980. Sato 등, 1982)고 한다. 내독소에 의한 간 손상은 간의 mitochondria에서 adenosine triphosphate(ATP) 생성감소(Schumer 등, 1970. Mela 등, 1971. White 등, 1973)와 당대사에 관여하는 효소의 기능 저하로 초래되는 당대사 장애(Berry 등, 1968. Berry와 Rippe, 1973. Shackelford, 1986), 파종성 혈관내 응고증으로 인한 저용량성 손상(Bals 등, 1978. Bals 등, 1979) 및 간세포의 손상으로 간세포질내 유리되는 lysosome의 분해 효소에 의한 자가용해(Janoff 등, 1962. Filkins, 1971. Hirata 등, 1980) 등을 들 수 있다.

간은 물질대사의 중추기관으로서 대단히 복잡하고 다채로운 기능을 가진 장기이며(Sherlock, 1985) 체외로부터 흡수되거나 체내에서 생성된 유해물질을 해독하여 배설시키는 해독기구를 가짐으로서 생체를 보호하고 있다(Jackoby 등, 1982) 특히 내독소의 해독에 있어서는 간은 비장과 함께 내독소 제거에 가장 큰 기능을 하는 것으로 알려져 있으며 내독소에 대한 간의 해독 능력에 대한 연구(Trapani 등, 1962. Palmerio 등, 1963. Fine 등, 1968. Bjorneboe와 Prytz, 1972. Triger 등, 1972)가 많

이 이루어지고 있다.

이렇게 간은 내독소의 해독에 중심되는 장기일 뿐만 아니라 내독소에 의해 간조직 자체가 손상을 받는 양면성을 가지고 있다. 따라서 내독소 투여시 간의 내독소에 의한 손상 및 내독소 해독에 간에서 해독에 관여하는 효소들이 어떤 활성화도 변동을 보이는지를 알아 보는 것은 내독소 혈증의 이해에 도움이 될 것이다.

한편 Monoamine oxidase(amine oxygen oxidoreductase(flavin containing, deaminating), EC 1.4.3.4, MAO)는 간에서 많은량 합성(Greenawalt와 Schnaitman, 1970. Houslay와 Tipton, 1974. Ekstedt, 1976. Corte와 Tipton, 1980)되는 해독효소의 일종(Tipton, 1980)으로 monoamine, 분사산소 및 물로부터 aldehyde, ammonia 및 과산화수소를 생성하는 효소(Kim, 1979)로서 생체에서 주로 신경전달 물질인 생체 amine들을 분해하여 생체 amine들의 체내농도를 조절하는 역할을 담당하는 효소이다(Bardesley 등, 1974) 이 효소는 세포내에서 mitochondria와 microsome분획에서 발견(Greenawalt와 Schnaitman, 1970)되며 특히 mitochondria의 표지 효소로 사용되고 있다(Schnaitman 등, 1967. Greenawalt와 Schnaitman 1970) 그리고 기질특이성과 억제제에 대한 감수성에 따라 tyramine-MAO, 5-hydroxytryptamine-MAO(MAO-A) 및 benzylamine-MAO(MAO-B)로 구분하고 있다(Corte와 Tipton, 1980). 이 효

* 이 논문은 1991년도 계명대학교 을중연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어졌음

소는 간경변증(MeEwen과 Castell, 1967. Ito등, 1971. Kirchner와 Castell, 1972. Ono등, 1975. Gressner와 Roebruck. 1983), 간암(McEwen과 Castell, 1967. Costa와 Breakefeed, 1979), 만성간염(McEwen과 Castell, 1967)시 혈중에서 그 활성이 증가되고 특히 간의 섬유화가 진행될 때 혈중에서 그 활성도가 증가된다(Kirchner와 Castell, 1972)고 하며 흰쥐에서는 담즙울체가 야기되었을 때 간조직에서 그 활성이 감소하는 것(문교철과 박춘식, 1989)으로 알려져 있다

Xanthine oxidase(xanthine oxyn oxidoreductase, EC 1.2.3.2, XO)도 간에서 많은량 합성(Bray, 1963. Al-Khalidi와 Chaglassian, 1965)되는 해독 효소(Rajagoplan, 1980)로서 aldehyde, epinephrine, purines, pyrimidine들과 특히 hypoxanthine과 xanthine을 기질로 하며 분자 산소와 물과 더불어 이들 기질을 산화시켜 기질 산화물과 superoxide를 생성하는 효소이다(Al-Khalidi와 Chaglassian, 1965. Krenitsky 등, 1972. Krenitsky, 1973. Younes, 1980). 그리고 이 효소는 세포내에서 cytosol에 주로 존재하며 담즙울체를 수반하는 간염시 혈중에 그 활성이 증가(Giler등, 1975)되며 또한 흰쥐에서는 담즙울체가 야기되었을 때 혈액과 간조직에서 그 활성이 증가되는 것(박춘식, 1985)으로 밝혀졌다

최근 내독소에 의한 간 손상 기전과 관련하여 내독소 투여시에 유발되는 간 mitochondria의 형태학적 변화 및 기능적 변화에 대해 많은 보고(Schumer등, 1970. Mela 등, 1971. White 등, 1973. Yoder 등, 1985)가 있었다. 박춘식 등(1991)은 mitochondria에서 내독소에 의한 ATP 생성 장애는 구연산 회로 반응의 억제에 의해서가 아닌 직접 산화적 인산화 반응에 영향을 줌으로서 나타난다고 하였으며 또한 내독소에 의해 mitochondria 막이 손상을 받아 malate dehydrogenase, alanine aminotransferase가 혈중으로 다량 유리된다고 하였다

이 연구는 내독소 투여시 간의 mitochondria에서 일어나는 형태학적 변화 및 기능적 변화(Schumer 등, 1970. Mela 등, 1971. White 등, 1973. Yoder 등, 1985)와 관련하여 mitochondria의 표지 효소이며 phase I 해독 효소인 MAO의 활성도 변동을 혈청과 간에서 알아봄으로써 간의 mitochon-

dria의 변화를 효소학적으로 규명하고 동시에 같은 phase I 해독 효소인 XO의 활성도도 혈청과 간에서 측정하여 내독소 혈중에서 이들 효소의 동태를 파악코자 하였다

재료 및 방법

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

각 실험군은 개별 분리 수용하였으며 실험 선후에 인정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 신양 사료 주식회사의 제품을 먹도록 하였다. 대조군은 생리 식염수를 체중 kg당 125ml를 주입하였으며 내독소 주입군은 김정희 등(1987)의 방법에 따라 Sigma사의 내독소 (E. coli, 026 B6, lipopolysaccharide, Sigma, USA)를 생리 식염수에 4mg/ml의 농도로 녹여 체중 kg당 5mg이 되도록 우경정맥으로 주입하였다

시약 Benzylamine hydrochloride, 5-hydroxytryptamine hydrochloride(serotonin), xanthine sodium, nicotinamide adenine dinucleotide(yeast grade III, disodium salt), uric acid, monoamine oxidase(from bovine plasma, M4636), xanthine oxidase(grade III, from butter milk, X4500) 및 단백질준액(10g/100ml, bovine albumin)등은 Sigma사의 제품을 사용하였으며 그외 시약들은 특급 또는 일급품을 사용하였다

간적출 및 세포분획 간의 적출은 ether 마취하에서 실시하였으며 복부 대동맥으로부터 채혈하여 쥐를 실험사 시킨 후 간문맥에 삽관한 다음 4℃의 생리 식염수로 관류하여 간에 남아 있던 혈액을 제거한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간은 면포로 균등히 압박하여 간에 남아 있는 생리 식염수를 가능한 한 모두 제거하였다. 이렇게 적출한 간은 잘게 썰어서 절편으로 만들고 혼합한 다음 그중 5g을 취하여 9배량의 0.25M sucrose액을 넣어 teflon glass homogenizer(Thomas사 제품 chamber clearance 0.005-0.007 inch)로 2~4℃를 유지하면서 400

rpm의 속도로 조심스럽게 5회 왕복 마쇄하여 10w/v%의 간조직 균질액을 만들었다 그리고는 이 간조직 균질액 40ml를 귀하여 sucrose linear density gradient 원심분리법(곽춘식과 곽정식, 1986)으로 cytosol, mitochondria 및 microsome을 분리하였다. 즉 간 조직의 마쇄 균질액을 571×g (average relative centrifugal force, 이하 생략함)에서 10분간 원심 분리하여 조직의 미마쇄 부분, 핵 및 세포막 부분을 제거한 다음, 그 상청액을 7,796×g에서 20분간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었으며 이 과정에서 얻은 상청액을 다시 10,400×g에서 1시간 원심분리하여 pellet과 상청액을 얻었다 이때 얻어진 상청액을 cytosol 분획으로 사용하였다 그리고 이 과정에서 얻어진 pellet은 0.25M sucrose액에 재현탁시키고 이 액을 10~35 w/v% sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심분리관 상부에 부하시켜 88,500×g에서 15분간 원심분리하여 원심관 중앙 부위와 상부에 형성된 pellet을 모아서 88,500×g에서 1시간 원심분리하여 pellet을 얻고 이것을 다시 0.25M sucrose액에 재현탁시켜 88,500×g에서 1시간 재원심분리하여 pellet을 얻었다 이 pellet을 microsome 분획으로 사용하였다 한편 위의 7,796×g에서 20분간 원심분리하는 과정에서 얻은 pellet을 0.25M sucrose액에 현탁시키고 이 액을 20~45 w/v% sucrose linear density gradient 용액을 넣은 원심관 상부에 부하시켜 45,200×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 침전물을 0.25M sucrose액에 재현탁시켜 7,796×g에서 20분간 원심분리하여 pellet을 얻었으며 이것을 mitochondria분획으로 사용하였다

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

효소시료 조제 분리한 microsome 및 mitochondria는 ultrasonic dismembrator (Fisher model 300)로 2~4℃를 유지하면서 20±4 k cycle의 조건으로 2분씩 5회 초음파 마쇄를 한 다음 단백질량으로 5mg/ml가 되도록 0.25M sucrose 액에 현탁시켜

효소 시료로 사용하였다

XO 효소 시료는 분리한 cytosol분획을 -20℃에 보관한 후 녹여서 사용(Sturpe와 Della Corte, 1969. Battelli, 1980)하였다

효소활성도 측정 간의 mitochondria와 microsome의 MAO활성도 측정은 5-hydroxytryptamine 및 benzylamine을 각각 기질로 사용하여 효소액과 37℃에서 20분간 반응시키는 동안에 생성된 ammonia의 양을 측정하는 Nagatsu 및 Yagi(1966)법에 의하였으며 단위는 1분간에 1mg의 단백질이 생성한 ammonia의 양을 pmol로 나타내었다

혈청 MAO활성도 측정은 benzylamine을 기질로 사용하여 37℃에서 3시간 반응 시키는 동안 생성한 benzaldehyde를 비색하는 McEwen 및 Cohen(1963)의 방법에 준하였으며 단위는 혈청 1ml가 1시간 반응하여 변동된 absorbance값을 100배 곱하여 나타내었다.

혈청 및 간 XO의 활성도 측정은 xanthine을 기질로 사용하여 37℃에서 5분간 반응시키는 동안에 생성되는 요산을 292 nm에서 비색하여 정량하는 Rowe 및 Wyngaarden(1966)의 법에 의하였으며 단위는 1분간에 1ml의 혈청 또는 1mg의 단백질이 반응하여 생성한 요산을 nmol로 나타내었다

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

단백정량 효소액 중의 단백질정량은 0.5N perchloric acid와 methanol-ether 혼합액(3:1)으로 단백을 정제(Greenberg 와 Rothstein, 1957)한 다음 biuret법(Gornall, 1949)으로 정량하였다.

성적검정 얻어진 각종 성적들의 유의성 검정은 Student's t-test(Scheffler, 1980)에 의하였다

성 적

내독소 투여가 쥐간의 mitochondrial MAO 활성도에 미치는 영향 체중 kg당 5mg의 내독소를 투여했을 때 흰쥐 간의 mitochondria 분획의 MAO-A와

B의 활성도 변동은 표1과 같다. 내독소 투여군의 mitochondrial MAO-A의 활성도는 내독소 투여 후 8시간에 생리 식염수를 투여한 대조군에 비해 약 21%(P<0.05)의 활성 감소를 나타내었다. 그리고 내독소 투여군의 MAO-B도 내독소 투여 후 8시간에 대조군에 비해 약 26%(P<0.01)의 활성 감소를

나타내었다. 내독소 투여가 쥐간의 microsomal MAO 활성도에 미치는 영향 체중 kg당 5mg의 내독소를 투여했을 때 흰쥐 간의 microsome 분획의 MAO-A와 B의 활성도 변동은 표2와 같다. 내독소 투여군의 microsomal MAO-A는 내독소 투여후 3시간에 대조군

Table 1 Effect of endotoxin on the liver mitochondrial monoamine oxidase(MAO) A and B activities in rats

| Hours after endotoxin injection | MAO activities | | | |
|---------------------------------|---|----------------------|----------------------|-----------------------|
| | MAO A | | MAO B | |
| | (pmol ammonia mg protein ⁻¹ min ⁻¹) | | | |
| | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) |
| 3 | 1,320±326 (100) | 1,126±278 (85) | 1,679±354 (100) | 1,612±325 (96) |
| 8 | 1,311±317 (100) | 1,032±257* (79) | 1,652±347 (100) | 1,224±312** (74) |
| 24 | 1,309±323 (100) | 1,293±272 (99) | 1,648±358 (100) | 1,663±346 (101) |

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

For control group, the rats were injected physiologic saline solution, and endotoxin group, a single does of 5 mg of lipopolysaccharide (E ooh 026 B6 from Sigma Chemical Co USA) was injected per kg body weight

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

Table 2 Effect of endotoxin on the liver microsomal monoamine oxidase(MAO) A and B activities in rats

| Hours after endotoxin injection | MAO activities | | | |
|---------------------------------|---|---------------------|--------------------|---------------------|
| | MAO A | | MAO B | |
| | (pmol ammonia mg protein ⁻¹ min ⁻¹) | | | |
| | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) |
| 3 | 626±152 (100) | 490±112* (78) | 546±152 (100) | 514±132 (94) |
| 8 | 620±146 (100) | 346±96*** (56) | 541±147 (100) | 292±92*** (54) |
| 24 | 617±142 (100) | 465±116* (75) | 538±144 (100) | 489±121 (91) |

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

Endotoxin was given as described in table 1

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

에 비해 약 22%(P<0.05)의 활성 감소를 나타내었으며 8시간에는 약 44%(P<0.001)의 활성 감소를 나타내었다. 그리고 24시간에는 대조군에 비해 약 25%(P<0.05)의 활성 감소를 나타내었다 내독소 투여군의 microsomal MAO-B는 내독소 투여 후 8시간에 대조군에 비해 약 46%(P<0.001)의 활성 감소를 나타내었다.

내독소 투여가 혈청 MAO 활성도에 미치는 영향
 체중 kg당 5mg의 내독소를 투여했을 때 혈청 MAO 활성도의 변동은 표3과 같다 혈청 MAO는 대조군 및 내독소 투여 후3시간과 24시간 경과한 군 모두에서 그 활성이 측정되지 않았으나 내독소 투여 후 8시간 군에서는 280±1.06(ΔA×100ml⁻¹hr⁻¹)의 활성도를 나타내었다

Table 3 Effect of endotoxin on the serum monoamine oxidase(MAO) activities in rats

| Hours after endotoxin injection | MAO activities (ΔA×100 ml ⁻¹ hr ⁻¹) | |
|---------------------------------|---|-----------------------|
| | Control | Endotoxin |
| 3 | Undetectable (n=10) | Undetectable (n=10) |
| 8 | Undetectable (n=10) | 280±1.06 (n=10) |
| 24 | Undetectable (n=10) | Undetectable (n=10) |

Endotoxin was given as described in table 1

Table 4. Effect of endotoxin on the serum and liver xanthine oxidase(XO) activities in rats

| Hours after endotoxin injection | XO activities | | | |
|---------------------------------|--|-----------------------|--|-------------------|
| | Serum (nmol uric acid ml ⁻¹ min ⁻¹) | | Cytosol (nmol uric acid mg protein ⁻¹ min ⁻¹) | |
| | Control (%) | Endotoxin (%) | Control (%) | Endotoxin (%) |
| 3 | 42.5±8.22 (100) | 46.1±9.26 (108) | 8.9±1.91 (100) | 8.0±1.83 (90) |
| 8 | 41.3±7.96 (100) | 67.8±13.42*** (164) | 8.6±1.88 (100) | 6.2±1.28** (72) |
| 24 | 40.9±7.87 (100) | 97.2±20.60*** (238) | 8.5±1.84 (100) | 7.0±1.12* (84) |

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

Endotoxin was given as described in table 1

Signifioant difference from control (*. P<0.05, **. P<0.01, ***, P<0.001).

내독소 투여가 혈청 및 쥐간의 XO 활성도에 미치는 영향
 체중kg당 5mg의 내독소를 투여했을 때 혈청 및 흰쥐 간의 cytosol 분획의 XO 활성도의 변동은 표4와 같다. 혈청 XO는 내독소 투여후 8시간에 대조군에 비해 약 64%(P<0.001)의 활성 증가를 나타내었으며 24시간에는 약138%(P<0.001)의 활성 증가를 나타내었다. 내독소 투여군의 간 cytosol 분획의 XO는 내독소 투여 후 8시간에는 대조군에 비해 약 28%(P<0.01)의 활성 감소를 나타내었으며 24시간에는 약 26%(P<0.05)의 활성 감소를 나타내었다.

고 찰

내독소 혈증으로 인한 간 손상시에는 먼저 4~6시간 부터 간에는 괴사 현상이 일어나 8시간에 최고에 달하며 24시간까지 지속된다(Onda 등, 1986. 김정희 등, 1987) 또한 내독소 혈증시 간 mitochondria는 종창, 확장, 내부 구조의 분해, 내외막의 분리, 모양의 불규칙화, cristae의 팽창 및 소실

등의 변화(Schumer 등, 1970, White 등, 1973, Yoder 등, 1985, 김성희 등, 1987)가 일어나고 endoplasmic reticulum은 증식 및 확장이 된다(Rangel 등, 1970, Yoder 등, 1985 김성희 등, 1987)

이 실험에서 간 mitochondria의 MAO-A 및 B는 모두 형태학적으로 간 괴사가 가장 심한 내독소 투여 후 8시간에 의의있는 활성 감소를 나타내었으며 24시간에는 회복되는 경향을 보였다 이 실험 성적은 Natanzon과 Galaev(1989)의 성적과도 일치되며 특히 간에서 MAO 활성이 감소된 시기에 혈중에서 MAO 활성이 측정되는 점으로 미루어 보아 이는 이들의 주장처럼 MAO가 mitochondria에서 혈중으로 유출됨으로서 나타난 현상이라 생각 된다 그러나 MAO-A 및 B의 감소 정도가 거의 같고 감소 시기가 일치하는 점으로 보아 내독소 주입으로 인한 MAO-A 및 B의 기질에 대한 특이성의 변화는 없다고 생각된다 또한 MAO-A 및 B 어느 한쪽에 치우침 없이 같은 정도로 내독소의 영향을 받는다고 생각 된다

그리고 이 실험에서 microsomal MAO-A 및 B도 간 괴사가 가장 심한 시기에 활성 감소를 나타내었다 이는 mitochondria에서처럼 microsome에서도 MAO가 microsome의 손상으로 혈중으로 유출된 때문이라 생각된다 또한 microsome(endoplasmic reticulum)이 난백 합성 장소이며 내독소 투여시 endoplasmic reticulum에서 심한 형태학적인 변화가 일어난다는 보고(Rangel 등, 1970, Yoder 등, 1985, 김성희 등, 1987)와 내독소가 다른 몇가지 효소에서 이들 효소의 합성을 감소시킨다는 보고(Berry 등, 1966, Berry와 Rippe, 1973)로 본때 microsome에서의 MAO의 활성 감소는 내독소에 의해 endoplasmic reticulum에서의 MAO 합성이 감소된 때문이라 생각된다

따라서 간에서의 MAO의 활성도 감소는 간에서 mitochondria 및 microsome의 상애로 MAO합성 감소와 아울러 혈중으로 유출되어 나타난 결과라 생각된다

이 실험에서 간의 XO의 활성이 감소되는 시기에 바로 혈중에서 그 활성이 증가 되는 점으로 미루어 볼때 이는 간 세포막의 상애로 인한 XO의 유출에 기인된 것으로 생각된다 또한 간조직은 내독소에 의해 상해를 받으므로써 간 재생을 위해 purine체와

pyrimidine체의 합성이 증가되고 이와 반대로 이와 반응은 감소가 될것으로 예상되며 XO가 purine체의 이와 반응에 관여하는 주된 효소(Al-Khalidi와 Chaglassian, 1965, Krenitsky 등, 1972, Krenitsky, 1973, Younes, 1980)이며 또한 내독소 투여로 이 효소의 간의 유출이 증가되기 때문에 간에서의 이 효소의 감소는 더욱 조장되리라 생각된다

한편 세균 감염으로 인한 shock때 각종 혈관 수축성 물질에 의한 혈관 수축으로 조직의 혈액량이 감소되어 조직 장애가 오는 것으로 이해되고 있다(Braunwald 등, 1987) 따라서 MAO와 XO가 내독소 투여로 간에서 그 활성이 감소됨으로서 생체 amine 등의 분해가 감소되어 내독소에 의한 shock가 더욱 조장되리라 생각된다 즉 이들 효소는 해독 효소 이면시도 내독소의 해독에는 거의 관여하지 못함으로 해서 오히려 내독소에 의한 독작용을 더욱 증폭시키는 것이 아닌가 생각되나 분명하지는 않다 따라서 이 문제를 해결하기 위해서는 계속적인 연구가 필요하다고 생각된다

요 약

이 연구는 내독소 투여시 간의 mitochondria에서 일어나는 기능적 변화를 mitochondria의 표지 효소이며 Phase I 해독 효소인 monoamine oxidase (MAO)의 활성도 변동을 혈청과 간에서 알아봄으로써 효소학적으로 규명하고 아울러 간은 phase I 해독 효소인 xanthine oxidase(XO)의 활성도도 혈청과 간에서 함께 측정하여 그 성적을 상호 비교 검토 하였다

내독소 투여군의 간의 mitochondrial MAO-A 및 B의 활성도는 내독소 투여 후 8시간에 유의한 활성 감소를 나타내었다

내독소 투여군의 간의 microsomal MAO-A는 실험 전기간 활성 감소를 나타내었으며 간의 microsomal MAO-B는 내독소 투여 후 8시간에만 유의한 활성 감소를 나타내었다

혈청 MAO는 내독소 투여 후 8시간 군에서는 활성을 나타내었으나 다른 모든 군에서는 활성이 측정되지 않았다

내독소 투여군의 간의 cytosol 분획의 XO는 내독소 투여 후 8시간 및 24시간에 활성 감소를 나타

내었다 그러나 혈청 XO는 내독소 투여후 8시간 및 24시간에 활성 증가를 나타내었다

이상 성적으로 보아 간에서의 MAO의 활성도 감소는 간에서 MAO가 혈중으로 유출되면서 일어난 결과라 생각되며 또한 간에서 합성 감소도 한가지 요인이라 생각된다 그리고 XO도 간에서 그 활성이 감소되는 시기에 바로 혈중에서 증가되는 점으로 미루어 보아 이는 간 세포막의 손상으로 인한 XO의 유출에 기인된 것으로 생각된다

참 고 문 헌

- Al-Khalidi UAS, Chaglassian TH The species distribution of xanthine oxidase *Biochem J* 1965. 91 222-233
- Balis JU, Paterson ES, Gerber L, et al Glucocorticoid and antibiotic effects on hepatic microcirculation and associated host responses in lethal gram-negative bacteremia. *Lab Invest* 1979. 40 55-65
- Balis JU, Rappaport ES, Gerber L, et al A primate model for prolonged endotoxin shock. Blood-vascular reactions and effects of glucocorticoid treatment *Lab Invest* 1978. 38 511-523
- Bardsley WG, Crabbe MJ, Scott N The amine oxidases of human placenta and pregnancy plasma. *Biochem J* 1974. 139 169-181
- Battelli MG Enzymic conversion of rat liver xanthine oxidase from dehydrogenase(D form) to oxidase(O form). *FEBS Lett* 1980. 113 47-51
- Berry LJ, Rippe DF Effect of endotoxin on induced liver enzymes *J Infect Dis* 1973. 128 S118-S121
- Berry LJ, Smythe DS, Colwell LS Inhibition of hepatic enzyme induction as a sensitive assay for endotoxin. *J Bacteriol* 1968. 96 1191-1199
- Berry LJ, Smythe DS, Colwell LS Inhibition of inducible liver enzymes by endotoxin and actinomycin D *J Bacteriol* 1966. 92 107-115
- Bjorneboe M, Prytz H Antibodies to intestinal microbes in serum of patients with cirrhosis of the liver *Lancet* 1972. 8 58-60.
- Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, et al *Harrison's Principles of Internal Medicine*, ed 11 USA, McGraw-Hill Book Company, 1987, pp474-478
- Bray RC Xanthine oxidase, in Boyer PP, Lardy H, Myrback K(eds) *The Enzymes* ed2, New York, Academic Press, 1963, Vol 7, pp 533-555
- Corte LD, Tipton KF The turnover of A- and B-forms of monoamine oxidase in rat liver *Biochem Pharmacol* 1980. 29 891-895
- Costa MRC, Breakefield XO Short communications. Distinct forms of monoamine oxidase expressed in hepatoma and HeLa cells in culture *Biochem Pharmacol* 1979. 28 525-528.
- Ekstedt B Substrate specificity of the different forms of monoamine oxidase in rats liver mitochondria. *Biochem Pharmacol* 1976. 25 1133-1138
- Filkins JP Hepatic lysosomes and the inactivation of endotoxin *J Reticuloendothel Soc* 1971. 9 480-488.
- Fine J, Palmerio C, Rutenberg S New developments in therapy of refractory traumatic shock *Arch Surg* 1968. 96 163-175
- Giler S, Sperling O, Brosh S, et al Serum xanthine oxidase in jaundice. *Clin Chim Acta* 1975 63 37-40
- Gornall AG, Barawill CJ, David MM Determination of serum protein by means of biuret reaction *J Biol Chem* 1949. 177 751-766
- Greenawalt JW, Schnaitman C An appraisal of the use of monoamine oxidase as an enzyme marker for the outer membrane of rat liver mitochondria *J Cell Biol* 1970. 46 173-179
- Greenberg DM, Rothstein Method for isolation and degradation of labeled protein in Colowick SP, Kaplan NO (eds) *Method in Enzymology*, New York, Academic Press, 1957, Vol

4, pp 708-731

Gressner AM, Roebruck P The diagnostic potential of the combined determination of serum monoamine oxidase and N-acetyl-β-glucosaminase for fibroproliferative liver disease *J Clin Chem Biochem* 1983, 21 19-23

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

Houslay MD, Tipton KF A kinetic evaluation of monoamine oxidase activity in rat liver mitochondrial outer membranes *Biochem J* 1974, 139 645-652

Ito K, Nakagawa J, Minakuchi C, et al A clinical evaluation of serum monoamine oxidase, with special reference to hepatic fibrosis *Diagnosis* 1971, 4 49-58

Jakoby WB, Bend JR, Caldwell J *Metabolic Basis of Detoxication Metabolism of Functional Groups*, New York, Academic press, 1982, pp 5-317

Janoff A, Weissmann G, Zweifach BW, et al Pathogenesis of experimental shock IV Studies on lysosomes in normal and tolerant animals subjected to lethal trauma and endotoxemia *J Exp Med* 1962, 116 451-466

Kim BK *Enzyme Nomenclature* IUB, New York, Academic Press, 1979, pp 82-83

김정희, 정재홍, 서인수 내독소 투여로 인한 급성 간괴사의 초미형태학적 연구 계명의대논문집 1987, 6 177-202

Kirchner JP, Castell DO Serum monoamine oxidase An index of hepatic fibrosis *Gastroenterology* 1972, 62 771

Krenitsky TA, Shamon MN, Elion GB, et al A comparison of the specificities of xanthine oxidase and aldehyde oxidase *Arch Biochem Biophys* 1972, 150 585-599

Krenitsky TA Xanthine oxidase and aldehyde oxidase in purine and purine analogue metabolism *Adv Exp Med Biol* 1973, 41 57-64

곽춘식, 흰쥐 담즙울체간의 Xanthine Oxidase의 활성치 계명의대논문집 1985, 4 125-130

곽춘식, 곽정식 흰쥐간 세포분획법 I Mitochondria 및 Microsome의 분리, 계명의대논문집 1986, 5 45-53

곽춘식, 문교철, 김상철, 이도영 흰쥐에서 내독소의 비경구 투여가 혈청 및 간의 Lactate Dehydrogenase, Malate Dehydrogenase 및 Isocitrate Dehydrogenase 활성 변동에 미치는 영향 계명의대논문집 1991, 10 57-68

McEwen CM Jr, Castell DO Abnormalities of serum monoamine oxidase in chronic liver disease *J Lab Clin Med* 1967, 70 36-47

McEwen CM Jr, Cohen JD An amine oxidase in normal human serum *J Lab Clin Med* 1963, 62 766-776

Mela L, Bacloz LV Jr, Miller LD Defective oxidation metabolism of rat liver mitochondria in hemorrhagic and endotoxin shock *Am J Physiol* 1971, 220 571-577

문교철, 곽춘식 흰쥐 담즙울체간의 Monoamine Oxidase의 활성치, 계명의대논문집 1989, 8 69-77

Nagatsu T, Yaki K A simple assay of monoamine oxidase and D-amino acid oxidase by measuring ammonia *J Biochem(Japan)* 1966, 60 219-221

Natanzon LV, Galaev YV Effects of bacterial endotoxin on activity of liver mitochondrial monoamine oxidase *Vopr Med Khim* 1989, 35 58-59

Onda M, Toba M, Andoh T, et al Ultrastructural studies of experimental endotoxin shock in the liver and spleen Therapeutic effects of low-dose heparin on reticuloendothelial disturbances *Circulatory Shock* 1986, 18 11-19

One T, Eto K, Sakata Y, et al Laboratory methods A new colorimetric assay for monoamine oxidase in serum and its clinical application *J Lab Clin Med* 1975, 85 1022-1031

- Palmerio C, Setterstrom B, Shammash J, et al Denervation of the abdominal visera for the treatment of traumatic shock *N Engl J Med* 1963. 269 709-716.
- Rajagoplan KV Xanthine oxidase and aldehyde oxidase, in Jakoby WB(ed) *Enzymatic Basis of Detoxication*, Oriando, Florida, Academic Press, Inc, 1980, Vol 1, pp 295-309
- Rangel DM, Byfield JE, Adomian GE, et al Hepatic ultrastructural response to endotoxin shock. *Surgery* 1970. 68 503-511
- Rowe PB, Wyngaarden JB The mechanism of dietary alterations in rat hepatic xanthine oxidase levels. *J Biol Chem* 1966. 241 5571-5576
- Sato T, Tanaka J, Kono Y, et al Hepatic cellular injury following lethal *Escherchia coli* bacteremia in rats. *Lab Invest* 1982 47 304-310
- Scheffler WC. *Statistics for the Biological Sciences*, ed 2 USA Menlo Park, Addison-Wesley Publishing Company 1980, pp 84-89.
- Schnaitman C, Erwin VG, Greenawalt JW. The Submitochondrial localization of monoamine oxidase. An enzymatic marker for the outer membrane of rat liver mitochondria. *J Cell Biol* 1967. 32 719-735.
- Schumer W, Das Gupta TK, Moss GS, et al Effect of endotoxin on liver cell mitochondria in man. *Ann Surg* 1970. 171 875-882.
- Shackleford GM, Hart SF, Berry LJ Endotoxin treatment inhibits glucocorticoid induction of hepatic enzymes at a late induction step. *Am J Physiol* 1986. 250 E218-E225
- Sherolock DS *Diseases of the Liver Biliary System*, ed 7 Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1985, pp 1-14
- Stirpe F, Della Corte E The regulation of rat liver xanthine oxidase conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O) *J Biol Chem* 1969. 244 3855-3863.
- Tipton KF Monoamine oxidase, in Jakoby WB (ed) *Enzymatic Basis of Detoxication*. Oriando, Florida, Academic Press, Inc, 1980, Vol 1, pp 355-370
- Toba M, Ando T, Miyashita M, et al Ultrastructural changes of spleen in endotoxin administration. *J Clin Electron Microsc* 1982. 15 5-6
- Trapani RJ, Waravdekar VS, Landy M, et al In vitro inactivation of endotoxin by an intracellular agent from rabbit liver. *J Infect Dis* 1962. 110 135-142
- Triger DR, Apl MH, Wright R Bacterial and dietary antibodies in liver disease. *Lancet* 1972. 1 60-66
- White RR, Mela L, Bacalzo LV Jr, et al Hepatic ultrastructure in endotoxemia, hemorrhage and hypoxia Emphasis on mitochondrial changes. *Surgery* 1973. 73 525-534
- Yoder MC, Egler JM, Yudkoff M, et al Metabolic and mitochondrial morphological changes that mimic Reye syndrome after endotoxin administration to rats. *Infect Immun* 1985. 47 329-331
- Younes M Concerning the determination of xanthine oxidase in biological material via its ability to produce superoxide. *Biochem Pharmacol* 1980. 30 673

= Abstract =

Effect of Parenteral Administration of Endotoxin on the Changes of the Serum and Hepatic Monoamine Oxidase and Xanthine Oxidase Activities in Rats

Chun Sik Kwak, PhD

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

Kyo Cheol Mun, MD, Sang Chul Kim, MS

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

The activities of the serum and hepatic monoamine oxidase (MAO), a mitochondrial marker and phase I detoxifying enzyme, were measured in order to manifest the enzymologic background of the functional changes of the hepatic mitochondria in endotoxaemia. And the activities of the serum and hepatic xanthine oxidase(XO), the same phase I detoxifying enzyme, were also measured.

For administration of endotoxin, a dose of 5mg of endotoxin(lipopolysaccharide E coli 026 B6, from Sigma chemical company, USA) per kg of body weight was administered through a right external jugular vein. Then the rats were killed after 3, 8 and 24 hours of injection with endotoxin to measure the activities of the above enzymes in serum and their liver.

The activities of the liver mitochondrial MAO-A and B showed a significant decrease at 8 hours after endotoxin administration. Microsomal MAO-A activity of the liver showed a significant decrease between 3 and 24 hours and microsomal MAO-B activity of the liver showed a significant decrease only at 8 hours after endotoxin administration. Serum MAO activity was not detected in control and endotoxin-administered groups except the group of 8 hours after endotoxin administration.

Cytosolic XO activity in the liver showed a significant decrease between 8 and 24 hours, but serum XO activity showed a significant increase at the same time.

According to results, MAO activity in the liver shows a significant decrease due to leak of this enzyme into the blood and decreased biosynthesis of the liver. XO activity decreased in the liver but its activity increased in the serum at the same time. This result is due to the leak of XO into the blood through the damaged membrane of hepatocyte.

Key Words Endotoxaemia, Monoamine oxidase, Xanthine oxidase