

지질과산화 반응과 Free Radical 생성계 효소활성에 미치는 Testosterone의 영향

허 근# · 신억섭 · 박종민*
*영남대학교 약학대학, *영남의료원 약제과
(Received December 23, 1993)

Effect of Testosterone on Free Radical Generating Enzyme and Lipid Peroxidation

Keun Huh#, Uk Seob Shin and *Jong Min Park

*Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 713-749

*Department of Pharmacy, Yeungnam Medical center, Taegu 705-035

Abstract—Sex hormones not only regulate external sexual characteristics but several internal biochemical processes. It is well accepted that life-span of female is longer than that of male. Life-span is closely related with aging process in which free radicals are known to be involved. We investigated the effect of testosterone on free radical generating systems and lipid peroxidation based on the sexual difference. Lipid peroxide levels of male and female mouse were increased proportionately with age, especially in male mouse. Increase in enzyme activity of aldehyde oxidase with age was observed in male mouse, while no significant change in enzyme activity was found in female mouse. Enzyme activity of xanthine oxidase also showed similar results. It, however, was not significant statistically. Lipid peroxide level and xanthine oxidase type conversion ratio of male and female mouse liver homogenate incubated at 37°C, increased remarkably in proportion to incubation time, especially in male mouse. Lipid peroxide level and aldehyde oxidase activity were measured in normal male mouse, castrated mouse and testosterone treated-castrated mouse. Castrated mouse group showed decrease in lipid peroxide level and aldehyde oxidase activity compared with normal group. Treatment of castrated mouse with testosterone, however turned the level of lipid peroxide and aldehyde oxidase activity back to normal. From the above results, it might be concluded that testosterone could increase the activities of free radical generating enzymes which would result in the formation of lipid peroxide, consequently leading to aging.

Keywords □ Free Radical, Testosterone, Xanthine oxidase, Aldehyde oxidase, Lipid Peroxide.

성 호르몬의 생리 작용은 외형적인 암수의 특징 뿐만 아니라 여러가지 내인성 인자가 관여하는 생화학적 반응에도 암수 특성에 따른 현저한 차이를 나타내고 있다. 남녀간의 수명을 비교할 때 여성의 수명이 남성보다 길다는 사실은 일반적인 상식으로 인식되어지고 있다. 수명은 노화 현상과도 밀접하게 관계되는 생명현상이므로 노화과정 및 이에 따른 제반 생리 현상은 수명과 연관지어 검토되어지고 있다.

노화 과정이 어떤 원인에 의해서 어떤 과정으로

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

이루어지는 생명현상인가에 대해서 아직 확실하게 설명할 수 없는 단계이지만 free radical¹⁻⁵⁾에 의해서 유도되어지는 지질의 과산화 반응⁶⁻⁹⁾이 노화 현상과 밀접한 관계가 있다는 사실이 여러 연구진에 의해서 보고되어지고 있으며 상당한 호소력을 갖고 있다. Yagi 등¹⁰⁾은 나이별로 성차에 따라 혈중 과산화지질의 함량 변화를 관찰하였을 때 남녀 모두 나이 증가에 따라 과산화지질의 함량도 비례하여 증가하였으며 30세 이후에서는 남자의 혈중 과산화지질의 함량이 여성의 경우보다 유의성있게 높은 수치를 나타낸다고

하였다. 한편, 과산화지질 생성의 생화학적 반응은 첫 단계인 initiation에서 시작되어 전파과정인 propagation을 거쳐 이를 제거하는 기구에 의한 termination의 3단계로 이루어진다. 이와 같은 지질의 과산화 반응에 활성산소가 initiation 단계와 propagation 과정을 촉진시키는 작용을 하고 있음이 여러 연구전에 의해서 증명되어지고 있다.¹¹⁻¹³⁾ 그러므로 이 연구에서는 과산화지질의 생성 및 생성과정에 관계되는 생화학적 반응에 성별 차이가 어떤 영향을 주는가를 검토하는 한편 고환절제 mouse 를 대상으로 testosterone의 영향을 비교 관찰하고자 하였다.

실험재료 및 방법

시약—Thiobarbituric acid, bovine serum albumin, xanthine sodium salt, nicotinamide adenine dinucleotide(NAD) 및 N'-methyl nicotinamide 등은 Sigma사로 부터, 2-pyridone은 아래의 방법¹⁴⁾으로 합성하였으며, testosterone propionate는 동산의료원으로 부터 순품을 공급받아 실험에 사용하였고 기타 실험에 사용된 모든 시약은 시중에서 특급품 내지는 일급품을 구입하여 사용하였다.

실험 동물—실험 동물은 본 대학 동물사에서 점등 및 소등시간과 온도, 습도가 일정하게 유지되는 조건에서 사육된 외관상 건강한 암, 수 mouse를 사용하였으며 출산직후 부터 실험조건을 일정하게 유지시키면서 주령별에 따라 실험을 실시 하였다.

Castration—Castration 실험은 생후 20일된 숫 mouse를 수술하여 고환을 제거한 후 다시봉합하여 10일간 둔 다음 실험에 사용하였다. 한편 testosterone의 투여는 수술 15일 경과 후 kg당 0.15 mg을 15일간 피하주사 하였다.

2-pyridone(N-methyl-2-pyridone-5-carboxylic acid amide)의 합성—Holman 등의 방법¹⁴⁾에 따라 nicotinic acid를 출발물질로 하여 methyl sulfate와 potassium ferricyanide 및 염산을 처리하여 N-methyl-2-pyridone-5-carboxylic acid를 합성한 다음 이것을 thionyl chloride와 같이 서서히 가온하여 끓인 다음 과량의 thionyl chloride를 제거하고 감압농축하여 N-methyl-2-pyridone-5-carboxylic acid amide를 합성하였다. 이것을 재결정하여 원소분석으로 확인하고 실험에 사용하였다.

효소원의 조제—실험동물을 ether로 마취시킨 다음 개복하여 간장을 적출하고 4배량의 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)로 조직을 마쇄하였다. 이 마쇄균질액을 과산화지질 함량 측정에 사용하였으며, 마쇄균질액을 다시 600 xg, 10,000 xg, 105,000 xg로 원심분리한 후 상정액을 취하여 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase 활성 측정 효소원으로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 빙냉상태와 4°C에서 각각 행하였다.

과산화지질 함량 측정—과산화지질의 함량은 Ohkawa 등의 방법¹⁵⁾에 준해 간 마쇄균질액 일정량에 8.1% sodium dodesyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid를 가해 95°C에서 1시간 반응시키고 실온으로 냉각한 다음 생성된 반응산물을 1-butanol : pyridine(15 : 1 혼합액)용액으로 이행시킨 후 532 nm에서 흡광도를 측정하여 조직 1 g당 생성된 malondialdehyde량을 산정하였다.

Xanthine oxidase-dehydrogenase 활성—Stirpe 등의 방법¹⁶⁾에 따라 xanthine oxidase(type O)의 활성은 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 기질인 xanthine 60 μM 및 효소액(2~4 mg protein)을 첨가하여 37°C에서 반응시킨 다음 20% trichloroacetic acid(TCA)를 가해 제단백시켜 원심분리하였다. 여기서 얻어진 상정액으로부터 생성된 uric acid를 파장 292 nm에서 흡광도의 변화를 측정해 활성도를 계산하였다. 한편 xanthine dehydrogenase(type D)의 활성은 type O의 활성측정 반응액에 coenzyme인 NAD⁺ 100 mM을 첨가해 동일하게 반응시킨 다음 측정하여 나온 활성도(type D+O)에서 type O의 활성을 감한 값으로 하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 uric acid의 양을 nmole로서 나타내었다.

Xanthine oxidase 형전환 측정—Xanthine dehydrogenase 및 xanthine oxidase 반응에서 얻어진 효소 활성도를 이용하여 xanthine dehydrogenase(type D)에서 xanthine oxidase(type O)로의 형전환 비율을 O/(D+O) (O: type O의 활성, D: type D의 활성)의 비로 산출하였다.

Aldehyde oxidase 활성—Rajagopalan 등의 방법¹⁷⁾에 준해 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 일정량에 기질인 N'-methyl nicotinamide 1.5 mM과 효소액(4~10 mg protein)을 가하여 37°C에서 반응

시킨 후 20% TCA를 가해 제단백 시킨다음 생성된 2-pyridone을 파장 300 nm에서 흡광도를 읽고 효소의 활성을 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 2-pyridone의 양을 nmole로서 나타내었다.

단백질의 정량—Lowry 등의 방법¹⁸⁾에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 정량하였다. 한편 실험결과와 통계처리는 student's t-test를 이용하였다.

결과 및 고찰

Mouse 나이에 따른 과산화지질 함량변화—Mouse에서 과산화지질의 함량이 나이에 따라 어떻게 변화되는가를 관찰하기 위하여 비교적 세포 분열이 활발하게 이루어지며 생화학적 반응을 가장 많이 수행하고 있는 간 조직을 대상으로 관찰한 실험 성적은 Table I과 같다. Table I에서 볼 수 있는 것처럼 암수 mouse 모두에서 나이가 들에 따라 비례하여 간 조직 중의 과산화지질 함량도 점차 증가하고 있음을 관찰할 수 있었으며 생후 8주령의 나이에서는 수컷의 과산화지질 함량이 18.94 nmole인데 비해 암컷의 간조직에서는 14.89 nmole로서 암수간에 유의성있는 차이가 있음을 관찰할 수 있었다. 이와 같은 암수간의 과산화지질 함량의 차이가 생후 4주령의 나이에서는 관찰되지 않았으나 생후 8주령의 나이에서 간조직 중의 과산화지질 함량에 대한 성차가 나타나는 현상에 대해 mouse의 경우 성숙(mature)되는 나이가 대개 5주령일 것이라는 점을 고려할 때 성에 따른 과산화지질함량 변화의 차이는 성징이 발현되는 성숙기 이후에서 나타나므로 이 때 분비가 왕성해지는 성 호르몬과 관계가 있을 것이라는 것이 예상되어진다.

Mouse 나이에 따른 간 aldehyde oxidase 활성 변화—간장 중의 aldehyde oxidase는 세포질 분획에 존재하는 molybden 함유 flavoprotein 효소로서 pyridoxal 등 많은 xenobiotics와 내인성 물질을 대사시키는 반응을 촉매하는 기질 비특이성 산화효소¹⁹⁾이다. 이 효소가 촉매하는 산화반응이 진행되는 과정에 분자상태의 산소에 기질의 전자를 전달하는 생화학적 반응으로 superoxide anion 을 생성하는 기능을 수행하게 된다.²⁰⁾ 이 효소 활성 상태가 성장 과정에 따라 어떻게 변화되는가를 관찰한 실험 성적이 Table II이다. Table II에서 알 수 있는 것처럼 수 mouse의

Table I—Changes of hepatic lipid peroxide level as days in male and female mice

Sex	days	MDA nmole/g of tissue
Male	15	13.36± 1.53
	30	14.48± 1.65
	45	15.47± 2.23
	60	18.94± 1.19*
Female	15	13.00± 1.12
	30	13.99± 1.49
	45	14.08± 1.25
	60	14.89± 1.39

Mice were sacrificed 15, 30, 45 and 60 days after born. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are means± S.E. for 5 animals. Significantly different from 15 days group(*:p<0.05).

Table II—Changes of hepatic aldehyde oxidase activity as days in male and female mice

Sex	days	Specific Activity (2-pyridone nmole/mg protein/min)
Male	15	13.36± 1.53
	30	14.48± 1.65
	45	15.47± 2.23***a)
	60	18.94± 1.19***a)
Female	15	13.00± 1.12
	30	13.99± 1.49
	45	14.08± 1.25***b)
	60	14.89± 1.39***b)

Mice were sacrificed 15, 30, 45 and 60 days after born. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are means± S.E. for 5 animals. a) Significantly different from 15 days group, b) significantly different from male mice(***:p<0.001).

경우는 나이에 비례하여 그 활성이 증가되었으며 8주령 나이에서의 효소 활성은 2주령나이 때의 효소 활성보다 무려 2배에 가까운 활성 증가양상을 보였다. 그러나, 암 mouse의 경우에는 8주령 에서도 2주령 때의 간 aldehyde oxidase(AO) 활성과 별다른 차이가 관찰되지 않았으므로 성숙기 이후의 수 mouse에서만 AO활성이 증가되어 짐을 알 수 있었다. 이 실험 결과는 estradiol이 in vitro 실험에서 AO 활성을 억제하는 작용²¹⁾과 연관지어 검토할 때 흥미있는 실험 성적이라고 생각되며 또한 AO가 활성산소 생성반응에 관여²⁰⁾하므로 지질의 과산화 반응에도 영향을 줄

Table III—Changes of hepatic xanthine oxidase and type conversion as days in male and female mice

Sex	Days	XO(type O)	XOD(type D+O)	Type Conversion Ratio(%)
		Specific Activity#		
Male	15	0.25± 0.02	1.53± 0.11	16.3± 2.44
	30	0.29± 0.03	1.83± 0.09	15.8± 4.74
	45	0.32± 0.03	1.60± 0.08	20.0± 1.29
	60	0.35± 0.04	1.63± 0.12	21.5± 1.76
Female	15	0.20± 0.02	1.36± 0.08	14.8± 2.10
	30	0.21± 0.02	1.42± 0.10	14.8± 2.23
	45	0.25± 0.04	1.58± 0.11	15.8± 2.57
	60	0.27± 0.03	1.57± 0.10	17.2± 1.63

Mice were sacrificed 15, 30, 45 and 60 days after born. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are means± S.E. for 5 animals. #: Uric acid nmoles/mg protein/min.

것이라는 점을 고려하면 과산화지질의 함량변화에서 나타나는 성차는 AO활성과 관계있을 것이라는 것을 시사해주고 있다.

Mouse나이에 따른 간 xanthine oxidase 활성 및 형전환 변화—Xanthine oxidase (XO)는 AO와 마찬가지로 세포질에 존재하는 효소^{22,23})로서 물리화학적 성상과 생물화학적 기능이 대단히 유사하다. 이 효소가 생체내에서 free radical을 생성하는 생화학적 산화반응을 촉매하는 중요한 효소라는 것이 Fridovich²⁴)에 의해 superoxide dismutase의 발견과 더불어 소개된 이래 산소 radical 생성 model 실험에 널리 이용되어지고 있다.

Mouse의 주령 증가에 따라 간 XO활성 증가와 형전환율의 변화를 관찰한 실험 성적을 Table III에 나타내었다. 2주령의 경우 숫 mouse에서는 효소활성이 0.25 nmoles이던 것이 8주령에서는 0.35 nmoles로 약 40%의 증가가 관찰되어 주령 증가에 비례하여 XO활성도 증가되어지고 있음을 알 수 있었다. 암 mouse에서도 생후 2주 정도에서 0.20 nmoles이던 것이 생후 8주령에서는 0.27 nmoles로 수컷에서와 비슷한 경향으로 증가되었음이 관찰되어 성에 따른 특별한 차이는 나타나지 않는 것으로 생각된다.

Xanthine dehydrogenase로 부터 XO로의 형전환은 생체가 병태생리조건이 부여될 때 급진적으로 촉진된다는 사실이 많은 연구진에 의해서 증명되어졌다.^{25,26}) 나이에 따른 XO의 형전환율을 암수별로 관찰하였을 때 Table III에서 볼 수 있는 것처럼 암수 mouse 모두에서 나이가 들에 따라 XO 형전환율도 증가하고 있음이 관찰되었으며 숫 mouse 2주령에서 XO 형전

환율이 16%이던 것이 8주령나이에서는 21%로 2주령에 비해 약 30%정도의 증가현상이 관찰되었으나 암 mouse의 경우는 2주령에서 약 15%, 8주령에서는 약 17%로 암mouse의 경우는 별다른 차이가 관찰되지 않았다. XO의 형전환은 병태생리학적 원인을 제공하는 중요한 인자²⁵⁻²⁷)로 지목되어지고 있는 점을 생각할 때 생후 6주령에서 보다 현저하게 증가되어진 점과 이 나이에서 과산화지질의 함량에서도 현저한 성차이가 나타나고 있음을 연관지어 검토하면 어떤 상관성이 있으리란 것을 예상하게 하고있다.

37°C 가온 배양처리가 과산화지질 생성에 미치는 영향—이상의 실험 결과로 알 수 있는 것처럼 숫 mouse 간장중의 과산화지질 함량이 암mouse의 것보다 높은 수치를 나타내었다. 37°C로 배양처리하여 과산화지질 생성을 증진시킨 조건을 부여하고 간 조직의 과산화지질 생성능을 비교 관찰한 것이 Fig. 1이다.

간 homogenate를 37°C에서 30분간 배양 전처리 하였을 때 생성되는 malondialdehyde(MDA)의 생성 정도를 관찰하였을 때 숫mouse에서는 배양처리를 하지않은 대조군에서 18.4 nmoles이었으나 30분간 배양처리 한 실험군에서는 25.6 nmoles로서, 30분간 배양 처리과정을 거치므로써 약 40%에 가까운 정도의 MDA 생성 증가 현상이 관찰되었다. 그러나 암 mouse에서는 대조군이 14.3 nmoles이었으나 30분간 배양처리한 경우에는 과산화지질 생성이 15.1 nmoles로서 약 10% 정도의 증가 현상이 관찰되었다. 숫 mouse와 암 mouse의 경우를 비교할 때 수컷에서는 40% 정도의 증가를 나타나는데 비해 암컷에서는 10

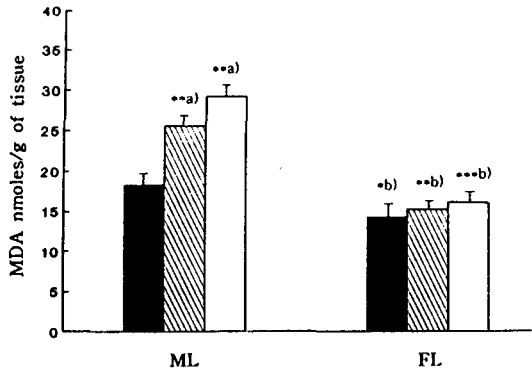


Fig. 1—Comparison of incubation time dependent lipid peroxidation in male and female mouse liver in vitro

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are means±S.E. for 4 separated experiments. ■: none incubation, ▨: incubation for 30 minutes at 37°C, □: incubation for 60 minutes at 37°C. a) significantly different from none incubation, b) significantly different from male liver(*; p<0.05, **; p<0.01, ***; p<0.001).

%정도의 증가만이 관찰되어 현저한 성별차가 있음을 알 수 있었다.

생체내에서의 지질의 과산화반응은 주로 세포막성분인 인지질의 불포화지방산에서 일어나는 연쇄적인 반응²⁸⁾으로 결과적으로 막손상을 주게 되어 여러 종류의 질병의 병태 생리 조건 형성을 유도하게 된다. 이와 같은 현상과 과산화지질 생성 과정을 촉진시키는 37°C 배양처리 조건을 주었을 때 암수 mouse에서 현저한 차이가 나타나는 현상은 매우 흥미있는 실험 결과로서 관심있게 검토되어야 할 것이다.

37°C 배양 처리가 xanthine oxidase 형전환에 미치는 영향—수컷과 암컷 mouse의 간 homogenate를 37°C에서 30분간 가온 처리한 다음 XO의 형전환율을 비교관찰한 실험 성적을 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2에서 볼 수 있는 것처럼 수컷 mouse의 간을 가온 처리하고 관찰한 실험에서 대조군의 XO 형전환율이 약 20% 인데 비해 37°C 가온 처리 군에서는 약 30%로 나타나 대조군에 비해 약 50%의 증가 현상이 관찰되었다. 암 mouse 간 homogenate를 37°C에서 30분간 가온 처리하고 실험하였을 때는 대조군에서 약 17%

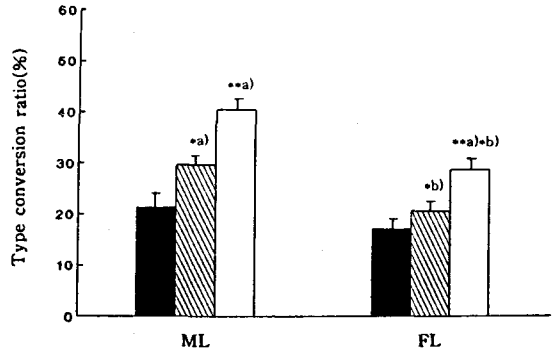


Fig. 2—Comparison of hepatic xanthine oxidase type conversion by incubation time in male and female mouse liver in vitro

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are means±S.E. for 4 separated experiments. ■: none incubation, ▨: incubation for 30 minutes at 37°C, □: incubation for 60 minutes at 37°C. a) significantly different from none incubation, b) significantly different from male liver(*; p<0.05, **; p<0.01).

정도의 XO 형전환이 나타나는데 비해 가온 처리 실험군에서는 20%정도로 약 10%정도의 형전환을 증가 현상이 관찰되어 가온 처리 조건을 가하였을 때 XO 형전환에서도 유의성있는 성별 차이가 나타남이 관찰되었으며, 이와 같은 현상은 Fig. 1에서 나타난 과산화지질 생성 정도에서 관찰된 성별에 따른 차이와 유사한 실험 성적으로 매우 흥미있는 실험 결과라고 생각되며 XO 형전환이 과산화지질 생성 과정에 어떤 영향을 줄 것이라는 것을 시사하고 있다. XO 형전환 현상은 허혈성 병리 조건이나 기타 여러가지 병태생리 조건 형성 과정에서 나타나는 생화학적 현상이라고 알려지고 있으며 XOD에서 XO로 형전환이 이루어져야만 활성산소의 생성기구에 참여할 수 있게 되며^{29,30)} free radical들은 지질의 과산화반응을 개시할 뿐만 아니라 연쇄적으로 전파시킨다는 점 등을 연관시켜 검토할 때 위에서 관찰된 실험 성적들은 상당한 흥미를 갖게 하고 있다.

고환 절제 mouse에서 과산화지질 생성에 미치는 testosterone의 영향—앞에서 설명한 것처럼 과산화지질의 생성과정에 testosterone이 촉진적으로 관여하고 있을 가능성을 보여 주고 있으므로 출생 후 20

일이 지난 mouse의 고환을 절제한 후 일정 기간 경과한 다음 testosterone을 피하로 15일간 주사하고 과산화지질의 함량을 관찰한 실험 성적이 Fig. 3이다. Fig. 3에서 볼 수 있는 것처럼 정상 mouse 간조직의 과산화지질의 함량이 18.4 nmoles를 나타내는데 비해 허위수술군과 고환을 제거한 실험군에서는 16.7 nmoles와 11.5 nmoles를 각각 나타내어 고환절제 실험군에서 현저하게 과산화지질의 함량이 감소하고 있음을 관찰할 수 있었다. 고환을 절제하고 15일이 지난 후부터 매일 0.15 mg/kg 용량을 15일간 피하 주사하고 mouse 간 과산화지질 함량을 측정하였을 때 정상 mouse간의 과산화지질 함량 수준으로 나타나 고환절제에 의해 나타나는 과산화지질 함량 감소는 testosterone의 생체 농도와 밀접한 관련이 있음을 예측할 수 있었다. 또한 고환 절제 때의 과산화지질의 함량이 암 mouse의 수준 정도로 감소하고 있음을 고려 할 때 암수 mouse의 간 조직 과산화지질의 함량 차이는 testosterone이 깊이 관계하고 있음을 시사해주고 있다.

고환절제 mouse에서 간 AO 활성에 미치는 testosterone의 영향— 정상적인 숫 mouse의 간장중 AO 활성이 암 mouse의 것보다 현저하게 높게 나타났으므로 이와 같은 현상을 testosterone의 작용과 연관 지어 검토한 실험 성적이 Fig. 4이다. 고환을 절제하고 간 AO활성을 비교관찰하였을 때 대조군과 허위수술군에서는 간 AO 활성이 2.2 nmoles, 2.0 nmoles인데 비해 고환절제 실험군에서 간 AO 활성이 1.3 nmoles으로 대조군보다 약 절반 정도의 현저한 활성 감소가 관찰 되었다. 고환 절제 mouse에 testosterone propionate 0.15 mg/kg을 15일간 피하주사하고 도살하여 실험하였을 때는 간 AO 활성은 testosterone에 의해 유도되어진다는 것을 증명한 실험성적이라고 생각된다. 또한 대조군과 허위수술군에 testosterone을 주사하였을 때도 모두 각각의 대조군보다 약간 AO 활성이 증가되는 경향이 관찰되었는데 이와 같은 사실은 testosterone propionate를 용해한 용제인 corn oil과 testosterone의 복합적인 효과에 기인될 것으로 생각되어진다. 이와 같은 실험성적을 앞에서 설명한 과산화지질 함량 변화와 연관지어 검토할 때 정확하게 일치되지는 않지만 유의성있는 상관관계가 관찰되었으므로 과산화지질 생성과정에 AO가 관여하고 있을 가능성이 시사되었다. 고환절제 mouse의 간 XO 형

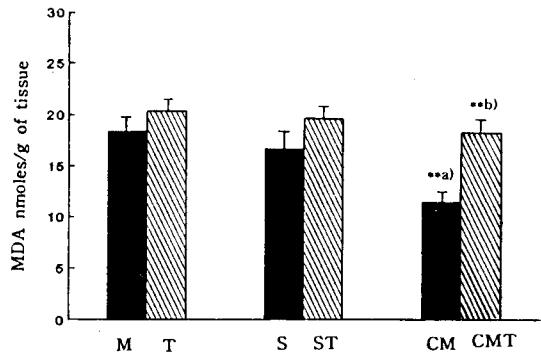


Fig. 3—Changes of hepatic lipid peroxide level in male and castrated male mice

Mice were decapitated 15 days after castration. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are means±S.E. for 5 animals. M: adult normal male mice, T: testosterone-treated normal mice, S: sharm operation, ST: testosterone-treated sharm operation, CM: castrated mice, CMT: testosterone-treated castration mice. a) significantly different from normal mice, b) significantly different from castrated mice(**; p<0.01).

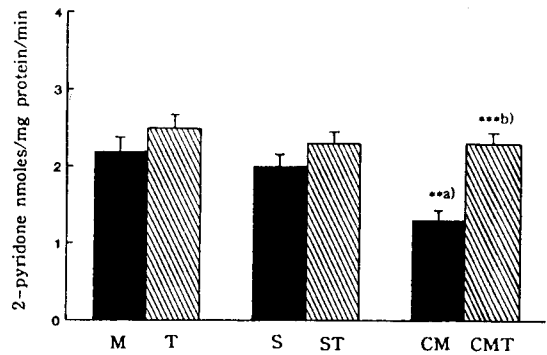


Fig. 4—Changes of hepatic aldehyde oxidase activity in male and castrated male mice

Mice were decapitated 15 days after castration. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are means±S.E. for 5 animals. M: adult normal male mice, T: testosterone-treated normal mice, S: sharm operation, ST: testosterone-treated sharm operation, CM: castrated mice, CMT: testosterone-treated castration mice. a) significantly different from normal mice, b) significantly different from castrated mice(**; p<0.01, ***; p<0.001).

전환과 testosterone의 영향도 관찰할 목적으로 고환 절제 mouse의 간에서 XOD가 XO로 전환되는 정도를 측정된 실험 결과는 제시하지 않았지만 이 실험 조건에서는 유의성있는 변화가 관찰되지 않았다.

이상의 실험성적들을 종합하여 볼 때 지질의 과산화반응은 free radical 생성 효소인 XO와 AO활성과 밀접한 관계를 갖고 있으며 이들 효소는 testosterone에 의해서 조절되어지고 있음을 알 수 있었다.

감사의 말씀

이 연구는 과학재단 연구비 지원(과제번호: 911-0408-071-2)에 의한 결과이며 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) Harman, D.: Free radical theory of aging: Role of free radicals in the organization and evolution of life, aging, and disease processes. *Free Radicals, Aging, and Degenerative Diseases*.(ed. Johnson, J.E. et al.), Alan R. Liss, Inc., New York, p. 3-49, (1986).
- 2) Feher, J., Csomos, G. and Vereckei, A.: The free radical theory of aging. *Free Radical Reactions in Medicine*. Springer-Verlag, Berlin, p. 57-79 (1987).
- 3) Cutler, R. G.: Antioxidants, aging and longevity. *Free Radicals in Biology*.(ed. Pryor, W), Academic Press, Vol. 6, 371-424 (1984).
- 4) Bartosz, G., Soszynski, M. and Retelewska, W.: Aging of the erythrocyte. X. Immunoelectrophoretic studies on the denaturation of superoxide dismutase. *Mechanisms Aging Develop.*, 17: 237-251 (1981).
- 5) ZsNagy, I. and Floyd, R. A.: Electron spin resonance spectroscopic demonstration of the hydroxyl free radical scavenger properties of dimethylaminoethanol in spin trapping experiments confirming the molecular basis for the biological effects of centrophenoxine. *Arch. Gerontol. Geriatr.*, 3: 297-310 (1984).
- 6) Yoshikawa, M. and Hirai, S.: Lipid peroxide formation in the brain of aging rats. *J. Gerontol.*, 22: 162-165 (1967).
- 7) Sagai, M. and Ichinose, T.: Age-related changes in lipid peroxidation as measured by ethane, ethylene, butane and pentane in respired gases of rats. *Life Sci.*, 27: 731-738 (1980).
- 8) Hughes, B. A., Roth, G. S. and Pitha, J.: Age-related decrease in repair of oxidative damage to surface sulfhydryl groups on rat adipocytes. *J. Cellul. Physiol.*, 103: 349-353 (1980).
- 9) Yagi, K.: *Lipid peroxides in Biology and Medicine*. (ed. Yagi, K.), Academic Press, New York (1982).
- 10) Yagi, K.: Lipid peroxides and diseases. *Chem. and Phys. of Lipid*, 45: 337 (1987).
- 11) Tappel, A.: Lipid peroxidation and fluorescent molecular damage to membranes. in *Pathology of Cell Membranes*.(B. F. Trump and A. Arstila eds.), Vol. 1, p.145, Academic Press, N. Y. (1975).
- 12) Kappus, H.: A survey of chemicals inducing lipid peroxidation in biological systems. *Chem. Phys. Lipids*, 45: 105 (1987).
- 13) Fridovich, I.: The biology of oxygen radicals. *Science*, 201: 875-879 (1978).
- 14) Holman, W. I. M. and Weigand, C.: The chemical conversion of nicotinic acid an nicotinamide to derivatives of N-methyl-2-pyridone by methylation and oxidation *Biochem. J.*, 43: 423 (1948).
- 15) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K.: Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 95: 351 (1979).
- 16) Stirpe, F. and Della Corte, E.: The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, 244(14): 3855 (1969).
- 17) Rajagopalan, K. V., Fridovich, I. and Handler, P.: Hepatic aldehyde oxidase. I. Purification and properties. *J. Biol. Chem.*, 237: 922-928 (1962).
- 18) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265 (1951).
- 19) Bell, R. R., Blanchard, C. A. and Haskell, B. E.: Metabolism of vitamin B₆ in the I-strain mouse. *Arch. Biochem. Biophys.*, 147: 602 (1971).
- 20) Badwey, J. A., Robinson, J. M., Karnovsky, M. J. and Karnovsky, M. L.: Superoxide production by an unusual aldehyde oxidase in guinea pig granulocytes. Characterization and cytochemical localization, *J. Biol. Chem.*, 256(7), 3479-3486 (1981).

- 21) Huh, K., Shin, U. S., Choi, J. W. and Lee, S. I.: Effect of sex hormone on lipid peroxidation in rat liver. *Arch. Pharm. Res.*, in press (1993).
- 22) Wolpert, M. K., Althaus, J. R. and Johns, D. G.: Nitroreductase activity of mammalian liver aldehyde oxidase. *J. Pharm. Exp. Ther.*, **185**: 202 (1973).
- 23) Krenitsky, T. A., Neil, S. M., Elion, G. B. and Hitching, G. H.: A comparison of the specificities of xanthine oxidase and aldehyde oxidase: *Arch. Biochem. Biophys.*, **150**: 585-599 (1972).
- 24) Fridovich, I. and McCord, J. M.: Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, **244**(22), 6049-6055 (1969).
- 25) Granger, D. N., Rutili, G. and McCord, J. M.: Role of superoxide radicals in intestinal ischemia. *Gastroenterol.*, **81**: 22 (1981).
- 26) Hearse, D. N., Manning, A. S., Downey, J. M. and Yellon, D. M.: Xanthine oxidase.: A critical mediator of myocardio injury during ischemia and reperfusion. *Acta. Physiol. Scand.*(suppl.), **548**: 65 (1986).
- 27) Adkison, D., Hollwarth, M. E., Benoit, J. N., Parks, D. A., McCord, J. M. and Granger, D. N.: Role of free radicals in ischemia-reperfusion injury to the liver. *Acta. Physiol. Scand.*(Suppl.), **548**: 101 (1986).
- 28) Pryor, W. A., Stanley, T. P., Blair, E.: Autoxidation of polyunsaturated fatty acids(II). *Lipids*. **11**: 370-379 (1976).
- 29) Battelli, M. G.: Enzymatic conversion of rat liver xanthine oxidase from dehydrogenase to oxidase. *FEBS Letters*, **113**: 47-51 (1980).
- 30) Clare, D. A., Blakistone, B. A., Swaisgood, H. E. and Horton, R. H.: Sulfhydryl oxidase-catalyzed conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. *Arch. Biochem. Biophys.*, **211**: 44 (1981).