

에탄올을 투여한 흰쥐 뇌조직의 항산화효소계 활성에 미치는 단백질과 섬유소의 영향

이미경 · 조수열 · 김명주*

영남대학교 식품영양학과, 대구산업정보대학 식품영양과†

Effects of Protein and Fiber on Antioxidant Enzyme Activities of Brain in Ethanol-Treated Rats

Lee, Mi-Kyung · Cho, Soo-Yeul · Kim, Myung-Joo*§

Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyungsan 712-749, Korea

Department of Food Science and Nutrition, * Taegu Polytechnic College, Taegu 706-022, Korea

ABSTRACT

This study was to investigate the effect of dietary protein and fiber on the antioxidant enzyme activities of brain in acute or chronic ethanol-treated rats. Male Sprague-Dawley rats were fed on diets containing two levels of protein(7%, 20%) with two levels of fiber(5%, 10%). Rats were administered 40%(v/v) ethanol(5g/kg body weight) orally 90min before decapitation in acute ethanol-treated groups and 25%(v/v) ethanol(5g/kg body weight) once a day for 5 weeks in chronic ethanol treated-groups. The rats were sacrificed after 5 weeks of feeding periods. Superoxide dismutase and glutathione S-transferase activities were lower in chronic ethanol-treated groups than acute ethanol-treated groups, whereas, catalase and glutathione peroxidase activities were significantly increased by chronic ethanol treatment. Low protein supplement accelerated to changes of their activities, however, dietary fiber levels did not affect antioxidant enzyme activities. Chronic ethanol treatment and/or low protein supplement resulted in increasing the brain lipid peroxide content but in lowering glutathione level. (*Korean J Nutrition* 33(6) 613~618, 2000)

KEY WORDS: ethanol, protein, fiber, antioxidant enzyme activity, brain.

서 론

에탄올의 체내 흡수속도는 에탄올 농도에 따라 차이가 있는데, 에탄올 농도가 낮을수록 흡수가 빠르며 흡수된 에탄올은 체액 및 모든 조직에 균등하게 분포되고 쉽게 순환기 계나 뇌척수액으로 이동되어 중추신경 억제작용을 나타낸다.¹⁻²⁾

에탄올에 의한 뇌손상은 에탄올 대사시 지질과산화물 생성이 촉진되어 일어나거나 에탄올 산화과정의 중간대사산물인 아세트알데히드의 촉적이 독성학적 영향을 미치기 때문이다.³⁾ 이에 대한 방어는 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase 등의 항산화효소와 비타민 E, C 및 글루타티온과 같은 항산화물질에 의하는데 에탄올은 이들 항산화물질의 감소를 유도하여 뇌

의 산화적 스트레스를 가중시킨다.⁴⁾ 특히 신경조직이 지질과산화물로 인한 손상에 민감한 것은 산소소모량이 높고 산화가 용이한 다이불포화지방산 함량이 높은 반면 세포내의 항산화 방어와 관련된 효소활성이 낮기 때문이다.⁵⁾

또한 에탄올은 뇌에서 단백질 합성을 저해하고 세포막의 변화를 일으켜 뇌세포막의 이온수송 과정, 아데닌뉴클레오티드와 아미노산 및 단백질 대사에 영향을 미친다.⁶⁾ 단백질급여수준은 뇌의 아미노산 조성과 아미노산으로부터 합성되는 비단백성 물질 즉, 신경전달물질 합성에 영향을 미치는 것으로 밝혀져 있다.⁷⁾ 그러므로 영양상태 변화에 따른 아미노산의 체내 항상성 기전 및 단백질 대사회전율과 식이의 부분적 변화로 인한 혈장 아미노산 조성 양상이 뇌로 아미노산을 운반하는 과정에 미치는 영향이 중요시 되어 왔다.⁸⁾

한편 섬유소 중 채소류·과실류·감귤류 등의 껍질에 많이 함유되어 있는 페틴은 카르복실기를 함유한 친수성 중합체로서 점성을 지닌다. 이 점성이 단백질 분자와 소화효소의 접촉을 방해하므로써 단백이용률을 감소시키고^{9,10)} 지방의

체택일 · 2000년 7월 22일

*To whom correspondence should be addressed

흡수를 저해하여 혈중의 지질과 콜레스테롤 농도를 저하시키며 콜레스테롤 대사산물인 담즙산·중성 스테로이드 등의 배설량을 증가시킨다.¹⁰

영양성 질환은 체내 여러 경로에서 에탄올 중독과 관련될 수 있으므로 에탄올 성 병변을 치료하는데는 뇌조직 중의 단백질과 지질대사 및 함량에 관한 연구들이 유익할 것으로 보고¹²되어 있다. 또한 에탄올은 필수영양소의 대사·수송·이용·활성·저장능을 변화시키므로 영양결핍은 에탄올 독성으로 인한 신경계 손상을 가중시킨다는 사실은 에탄올 치료시 적정한 식이 공급의 중요성을 의미하고 있다.

따라서 본 실험에서는 단백질과 섬유소 수준을 달리 급여하여 에탄올을 투여한 흰쥐의 뇌조직 중 항산화효소계 활성 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

실험동물은 Sprague Dawley계의 이유한 융성 흰쥐 48마리를 10일간 기본식이로 적응시킨 후 평균체중이 $110 \pm 10\text{g}$ 인 것을 난파법에 의해 8군으로 나누어 한마리씩 분리·사육하였다. 사육실 온도는 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하였으며, 조명은 12시간 주기(08:00~20:00)로 조절하였다.

본 실험에 사용한 기본식이는 AIN-76 식이조성¹³에 준하여 조제하였으며, 실험식이(Table 1)는 단백질 7%(Low protein)와 20%(Normal protein) 수준으로 나누었고, 섬유소는 5%(Normal fiber)와 10%(High fiber)로 달리하여 급여하였다. 에탄올 급성중독은 Kato 등¹⁴의 방법을 응용하여 40%(v/v) 에탄올을 체중 kg당 5g으로 도살 90분 전에 경구투여 하였으며, 에탄올 만성중독은 Fujii 등¹⁵의

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	Content(%)			
	LPNF	LPHF	NPNF	NPHF
Casein	7.0	7.0	20.0	20.0
Corn starch	63.0	58.0	50.0	45.0
Sucrose	15.0	15.0	15.0	15.0
Pectin	5.0	10.0	5.0	10.0
Corn oil	5.0	5.0	5.0	5.0
AIN-mineral mixture ¹⁾	3.5	3.5	3.5	3.5
AIN-vitamin mixture ²⁾	1.0	1.0	1.0	1.0
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2

1) Mineral mixture according to AIN-76.

2) Vitamin mixture according to AIN-76.

LPNF: Low protein, normal fiber diet group

LPHF: Low protein, high fiber diet group

NPNF: Normal protein, normal fiber diet group

NPHF: Normal protein, high fiber diet group

방법에 의해 25%(v/v) 에탄올을 체중 kg당 5g으로 1일 1회 일정시각에 5주간 경구투여 하였다.

체중은 매주 1회 일정 시각에 측정하였으며, 최종 체중에서 실험 개시전의 체중을 감하여 체중증가량으로 나타내었다. 식이섭취량은 매일 일정한 시각에 측정한 후 급여량에서 잔량을 감하여 계산하였고 식이효율은 실험기간 중의 증체량을 식이섭취량으로 나누어 산출하였다.

2. 효소 시료의 조제

적출한 뇌조직 1g당 10배량의 5mM EDTA를 함유한 10mM 인산 완충액(pH 7.4)을 가하여 냉동하에서 균질기로 마쇄하여 얻은 균질액(10%, w/v)을 $600 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 혼 및 미마쇄 부분을 제거한 상등액을 얻었다. 이를 $10,000 \times g$ 에서 20분간 원심분리(Hitachi 20PR-520)하여 미토콘드리아 분획을 취하였으며, 분리된 상등액을 $105,000 \times g$ 에서 1시간 동안 초원심분리하여 시토졸 분획을 취하였다. 미토콘드리아 분획은 catalase(CAT) 활성도 측정의 효소원으로 사용하였으며, 시토졸 분획은 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px) 및 glutathione S-transferase(GST) 활성 측정에 사용하였다. 효소의 활성도는 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 Lowry 등¹⁶의 법에 준해 측정한 단백질 mg당의 고유 활성도로 나타내었다.

3. 효소 활성도 측정

SOD 활성 측정은 피로갈률 자동산화의 억제정도를 관찰하는 Marklund과 Marklund¹⁷의 방법에 의해 측정하여 피로갈률의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1unit로 나타내었으며, CAT 활성도는 Aebi¹⁸의 방법으로 기질인 10mM 과산화수소 용액 및 효소액을 가하여 25°C 에서 반응시켜 240nm에서 소실되는 과산화수소의 양을 측정하였다. 또한 Paglia와 Valentine¹⁹의 방법에 준하여 GSH-Px 활성은 산화형 글루타티온이 NADPH에 의해 환원될 때 흡광도 340nm에서 NADPH 감소량을 측정하였으며, GST 활성은 Habig 등²⁰의 방법에 준하여 2,4-디니트로클로로벤젠(DNCB)과 환원형 글루타티온을 기질로 하여 생성된 GSH-DNCB 공액의 분자 흡광도 계수 9.6 nM⁻¹cm⁻¹를 이용하여 효소활성도를 산출하였다.

4. 뇌조직 중의 글루타티온과 지질과산화물 함량 측정

글루타티온의 함량은 Ellman²¹의 방법에 따라 비단백성 설포히드릴기를 5.5-디티오비스로 발색시켜 412nm에서 비색정량하였다. 그 단위는 뇌조직 1g당 μmole 로 표시하였다. 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등²²의 방법에 의하여 TBA

방법을 이용하여 생성된 말론디알데히드 양을 측정하여 뇌 조직 1g당 생성된 말론디알데히드 nmole로 나타내었다.

5. 통계처리

실험 성적은 SAS package를 이용하여 실험군당 평균±표준편차로 표시하였고 각 군간의 평균치 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test²³⁾에 의해 검정하였으며. 단백질과 섬유소 급여수준 및 에탄올 금·만성 투여에 따른 영향과 각 요인간의 상호작용은 Two-Way ANOVA test로 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

에탄올을 금·만성으로 투여한 흰쥐를 대상으로 단백질과 섬유소 급여수준에 따른 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 Table 2에 나타내었다.

흰쥐의 1일 평균 체중증가량은 에탄올 금·만성투여 및 단백질과 섬유소의 급여수준 각각 1% 수준에서 유의성을 나타내었으며 세 요인간의 상호작용이 관찰되었다. 식이섭취량과 식이효율 역시 각각의 요인은 1% 수준에서는 유의적이었으나 요인간의 상호작용은 관찰되지 않았다.

체중증가량 및 식이섭취량은 에탄올 만성투여시 급성군에 비하여 유의적으로 감소되었는데, 이는 흰쥐의 경우 에탄올 투여시 체중증가가 억제되었다는 Schisler와 Singh의 보고²⁴⁾와 유사한 경향이었다. 단백질 급여수준이 8%인 경우 20% 급여군에 비하여 흰쥐의 체중증가가 낮았다는 Huang과 Fwu²⁵⁾의 보고에서처럼 본 실험에서도 저단백질

급여시 유의적인 체중감소를 볼 수 있었다. 섬유소는 5% 급여군에 비하여 10% 급여군의 체중증가 현상이 둔화되었다. 즉, 섬유소 급여수준이 증가할수록 체중이 감소된 것은 Rotenberg와 Jakobson²⁶⁾의 보고와 유사한 것으로 이는 섬유소 과량급여로 식이의 에너지밀도가 낮아져 성장율이 감소된 때문²⁷⁾으로 생각된다. 반면, 섬유소 급여수준에 따른 식이섭취량의 변화는 관찰되지 않았다.

식이효율은 금·만성 모든 군에서 7% 단백급여군이 20% 급여군에 비해 유의적인 감소를 나타내었으며, 섬유소 10% 급여군이 5% 급여군에 비하여 식이효율이 감소한 것은 페틴 첨가에 의해 식이효율이 저해된다는 Delorme와 Gordon²⁸⁾의 보고와 유사하다.

2. 유해산소의 해독효소 활성

산소를 대사하는 모든 기관은 활성산소종을 생성하므로써 자유기와 다른 활성화합물들은 여러 생화학적 과정에 관여하여 신경세포막의 손상을 초래하며 노화를 촉진한다.²⁹⁾ 뇌에서 SOD와 CAT는 활성산소종에 대응하여 뇌세포의 보호에 중요한 역할³⁰⁾을 하므로 이를 활성을 측정하는 것은 중요한 의미가 있다. 본 실험에서 유해산소 해독에 관여하는 효소인 SOD와 CAT 활성을 측정한 결과는 Table 3과 같다.

SOD 활성은 에탄올 금·만성 투여 및 단백질 급여수준에 따른 영향이 1% 수준에서 유의적이었으며, CAT 활성은 세 요인간의 상호작용이 5% 수준에서 유의적인 것으로 관찰되었다. SOD 활성은 에탄올 만성군이 급성군에 비하여 감소되었는데, 이는 애탄을 만성투여시 SOD 활성감소는 Nordmann 등³¹⁾의 보고와 일치하는 결과로써 만성 애

Table 2. Effect of dietary protein and fiber levels on net weight gain, feed intake and feed efficiency ratio in ethanol-treated rats

Group ¹⁾	Net Weight gain		Feed intake		Feed efficiency ratio	
	g/day	g/day	g/day	g/day	Acute	Chronic
	Acute	Chronic	Acute	Chronic	Acute	Chronic
LPNF	2.51 ± 0.09 ^{cd}	2.01 ± 0.17 ^{ej}	16.26 ± 1.06 ^{a(bj)}	14.91 ± 0.30 ^{de(j)}	0.15 ± 0.02 ^{ci}	0.13 ± 0.01 ^{c(ih)}
LPHF	2.22 ± 0.29 ^{eij}	1.41 ± 0.10 ^b	16.01 ± 0.94 ^{a(bk)}	14.19 ± 0.20 ^{ei}	0.12 ± 0.01 ^{di}	0.10 ± 0.01 ^d
NPNF	4.36 ± 0.15 ^{dj}	3.67 ± 0.06 ^{lk}	16.69 ± 0.11 ^{ai}	15.74 ± 0.60 ^{b(cj)}	0.25 ± 0.01 ^{aj}	0.23 ± 0.02 ^{bj}
NPHF	3.82 ± 0.20 ^{bj}	3.50 ± 0.11 ^{lj}	16.17 ± 0.69 ^{ah}	15.24 ± 0.39 ^{c(j)}	0.24 ± 0.01 ^{abj}	0.21 ± 0.02 ^{bj}
ANOVA	F		F		F	
Ethanol(A)	129.26**		53.14**		14.97**	
Protein(B)	1249.26**		12.70**		354.22**	
Fiber(C)	62.31**		8.30**		13.64**	
A × B	2.17 ^{NS}		3.49 ^{NS}		0.28 ^{NS}	
A × C	0.07 ^{NS}		0.43 ^{NS}		0.03 ^{NS}	
B × C	0.82 ^{NS}		0.01 ^{NS}		0.50 ^{NS}	
A × B × C	11.01**		0.48 ^{NS}		0.00 ^{NS}	

1) see the legend of Table 1

Values are mean ± S.D. (n = 6)

Means with the same letter are not significantly different($p < 0.05$).

*. Significantly at 5% level, ** Significantly at 1% level,

NS: Not significant.

Table 3. Effect of dietary protein and fiber levels on brain SOD and CAT activities in ethanol-treated rats

Group ¹⁾	Superoxide dismutase		Catalase	
	Unit/mg protein		Decreased H ₂ O ₂ n moles/mg protein	
	Acute	Chronic	Acute	Chronic
LPNF	4.12 ± 0.63 ^{bcd}	3.82 ± 0.28 ^c	1.06 ± 0.22 ^c	4.46 ± 0.43 ^b
LPHF	4.06 ± 0.21 ^c	3.68 ± 0.25 ^c	1.30 ± 0.24 ^c	5.82 ± 0.93 ^a
NPNF	4.82 ± 0.43 ^a	4.23 ± 0.71 ^{bcd}	1.39 ± 0.28 ^c	4.84 ± 0.26 ^b
NPHF	4.68 ± 0.22 ^{ab}	4.01 ± 0.26 ^c	1.34 ± 0.14 ^c	4.37 ± 0.61 ^b
ANOVA	F		F	
Ethanol(A)	12.89**		615.45**	
Protein(B)	14.72**		1.51 ^{NS}	
Fiber(C)	1.08 ^{NS}		3.45 ^{NS}	
A × B	1.18 ^{NS}		6.14*	
A × C	0.09 ^{NS}		1.41 ^{NS}	
B × C	0.11 ^{NS}		13.36**	
A × B × C	0.00 ^{NS}		6.98*	

1) see the legend of Table 1 Values are mean ± S.D.(n = 6)

Means with the same letter are not significantly different(p < 0.05).

* Significantly at 5% level, ** Significantly at 1% level,
NS. Not significant.

탄올에 의해 증가된 superoxide 자유기 저거에 SOD가 소모된 때문이며, 항산화계 특히 SOD 활성 감소는 뇌에서의 산화적 스트레스를 가중시킬 것으로 사료된다. 에탄을 급성군에서 저단백질 급여시 뇌조직 중의 SOD 활성이 유의적으로 억제되었으나 섬유소 급여수준은 뇌조직의 SOD 활성이 변화에 영향을 미치는 않는 것으로 관찰되었다.

CAT는 체내에서 지방의 자동산화와 유기물의 산화로 생긴 과산화수소 제거 효소 중의 하나로서, 본실험에서 CAT 활성은 에탄올 만성군이 급성군보다 3.26~4.47배까지 활성이 증가하였다. 특히, 저단백질 및 10% 섬유소 급여시 만성 에탄올로 인해 상승된 CAT 활성 증가를 가중시키는 것으로 나타났다. Sinet 등²²⁾은 에탄올 만성투여시 CAT 활성이 감소된다고 하였으나 본 실험에서 CAT의 활성이 증가됨은 장기간의 에탄올 투여 및 단백질 부족으로 인해 뇌에 축적된 과산화수소를 제거하기 위해 CAT 활성이 촉진된 것으로 사료된다.

3. 뇌조직 중의 GSH-Px 및 GST 활성 변동

Table 4에는 에탄올을 급·만성으로 투여한 흰쥐에게 단백질과 섬유소 급여수준을 달리하여 5주간 급여한 후 뇌조직의 GSH-Px 및 GST 활성을 측정한 결과이다.

GSH-Px 활성은 에탄올 급·만성투여 및 섬유소 급여수준은 1% 수준, 단백질 급여수준은 5% 수준에서 유의성이 나타났으며 에탄올 투여와 섬유소 급여수준간의 상호작용이 관찰되었다. 또한 뇌조직 중의 GST 활성은 에탄올 급·만성 투여와 단백질 급여수준 각각의 유의성은 관찰되었으

Table 4. Effect of dietary protein and fiber levels on brain GSH-Px and GST activities in ethanol-treated rats

Group ¹⁾	Glutathione peroxidase		Glutathione S-transferase	
	Decreased NADPH n moles/mg protein/min		n moles DNCB / mg protein/min	
	Acute	Chronic	Acute	Chronic
LPNF	27.00 ± 3.01 ^{ab}	33.08 ± 2.53 ^b	4.50 ± 0.35 ^{bcd}	3.84 ± 0.55 ^c
LPHF	26.94 ± 5.56 ^a	28.70 ± 2.44 ^b	5.05 ± 0.31 ^{ab}	4.14 ± 0.28 ^c
NPNF	29.40 ± 2.54 ^{bcd}	37.42 ± 2.91 ^a	5.42 ± 0.71 ^a	5.25 ± 0.84 ^{ab}
NPHF	27.94 ± 2.72 ^c	30.38 ± 2.67 ^b	5.46 ± 0.40 ^{ab}	5.34 ± 0.94 ^a
ANOVA	F		F	
Ethanol(A)	22.39**		6.12*	
Protein(B)	5.93*		27.69**	
Fiber(C)	11.19**		1.71 ^{NS}	
A × B	0.46 ^{NS}		2.89 ^{NS}	
A × C	6.55*		0.07 ^{NS}	
B × C	1.10 ^{NS}		0.96 ^{NS}	
A × B × C	0.11 ^{NS}		0.18 ^{NS}	

1) see the legend of Table 1 Values are mean ± S.D.(n = 6)

Means with the same letter are not significantly different(p < 0.05).

*: Significantly at 5% level, **: Significantly at 1% level,
NS. Not significant.

나요인간의 상호작용은 나타나지 않았다.

뇌조직의 GSH-Px는 시토졸과 미토콘드리아내에 존재하는 셀레노효소로서 힘황아미노산, 셀렌 및 비타민 E와 밀접하게 연관되어 항산화작용을 수행하고, 지질과산화물과 과산화수소를 동시에 환원시킴으로써 세포막 보호에 주요한 역할을 한다.²³⁾ GSH-Px 활성은 섬유소 5% 급여시 에탄올 만성군이 급성군에 비하여 유의적으로 높게 나타났다. 이와같이 에탄올 만성투여시 GSH-Px 활성이 높아진 것은 SOD의 활성 감소에 대한 보상 효과이거나, 에탄올 산화·환원 경로의 불균형이 글루타티온 함량 및 GSH/GSSG비가 간 등의 장기에서 감소된 결과로써 뇌조직의 GSH-Px 활성 증가는 에탄올이 환원력 감소를 유도한 때문²⁴⁾으로 생각된다. 에탄올 만성군에서 5% 섬유소 급여시 저단백질군이 정상단백질군에 비하여 GSH-Px 활성은 유의적으로 감소하였다. 이는 저단백식이에 의해 GSH-Px 활성이 감소됨은 영양불량인 흰쥐에서 지질과산화물 증가 및 항산화효소 활성이 낮아진 때문으로 예탄올은 뇌의 셀렌 함량을 감소시키는데²⁵⁾ 이 변화가 GSH-Px와 관련된 셀레노단백에 영향을 미친 때문으로 사료된다.

셀렌 비의존성 효소인 GST는 독성을 질의 친전자성체에 환원형 글루타티온을 포합시키며, 글루타티온 티오에스테로 형성반응을 촉매하여 무독화한다.²⁶⁾ 비록 GST는 과산화수소를 분해할 수 없으나, 셀렌이 결핍된 조직의 과산화물 분해에 이용되므로써 뇌조직 중의 GST 함량이 감소된다.²⁷⁾ 에탄올 만성군이 급성군에 비하여 활성이 감소하는 경향을 나타내었으며, 특히 저단백질 급여시 에탄올 만성군의 활성

Table 5. Effect of dietary protein and fiber levels on brain GSH and LPO contents in ethanol-treated rats

Group ¹⁾	Glutathione		Lipid peroxide	
	$\mu\text{moles/g}$ of tissue		MDA n moles/ g of tissue	
	Acute	Chronic	Acute	Chronic
LPNF	0.48 ± 0.02 ^{abj}	0.40 ± 0.04 ^{cij}	37.12 ± 2.53 ^{bci}	42.64 ± 2.38 ^{ai}
LPHF	0.45 ± 0.06 ^{abcj}	0.38 ± 0.01 ^{dj}	35.37 ± 3.54 ^{ci}	42.25 ± 3.09 ^{ai}
NPNF	0.50 ± 0.05 ^{aj}	0.43 ± 0.02 ^{bcdj}	31.68 ± 3.24 ^{di}	40.66 ± 2.19 ^{abj}
NPHF	0.48 ± 0.05 ^{abj}	0.43 ± 0.02 ^{bcdj}	30.04 ± 3.28 ^{di}	38.94 ± 1.90 ^{abj}
ANOVA	F		F	
Ethanol(A)	30.26**		75.39**	
Protein(B)	6.50*		21.22**	
Fiber(C)	2.03 ^{NS}		2.47 ^{NS}	
A × B	0.26 ^{NS}		2.47 ^{NS}	
A × C	0.40 ^{NS}		0.14 ^{NS}	
B × C	0.26 ^{NS}		0.12 ^{NS}	
A × B × C	0.08 ^{NS}		0.17 ^{NS}	

1) see the legend of Table 1 Values are mean ± S.D.(n = 6)

Means with the same letter are not significantly different($p < 0.05$).*: Significantly at 5% level, **: Significantly at 1% level,
NS. Not significant.

감소는 현저하였다. 반면 에탄올 만성군은 섬유소 급여수준에 관계없이 7% 단백군에 비하여 20% 급여군의 활성이 유의적으로 증가하였다. 7% 단백질 급여시 에탄올 만성군이 급성군에 비해 GST 활성이 감소하는 것으로 보아 저단백질 급여는 장기간의 에탄올 중독을 심화시킬 것으로 생각된다.

4. 뇌조직 중의 글루타티온과 지질과산화물 함량

글루타티온과 지질과산화물 함량변화는 Table 5와 같이 에탄올 급·만성투여 및 단백질 급여수준 각각의 유의성이 관찰되었으나 세 요인간의 상호작용은 나타나지 않았다.

뇌조직 중의 글루타티온 함량은 에탄올 만성군이 급성군보다 유의적으로 낮았으며 저단백질 급여시 그 감소 정도가 현저하게 나타났다. 에탄올 만성중독시 글루타티온 함량 감소가 현저한 것은 에탄올의 장기 투여로 지질과산화물 함량이 증가된 때문으로 사료된다. 글루타티온 함량이 유의적으로 낮다는 것은 뇌조직이 산소유리기와 과산화수소에 의한 손상을 받기 쉽고 에탄올 투여에 의해 뇌에서도 이를 독성이 나타날 수 있음³⁷⁾을 제시하고 있다. 단백 급여수준에 따른 영향은 유의적이지는 않으나 7% 급여군이 20%군에 비하여 글루타티온 함량이 감소하는 경향이었으며, 섬유소 급여수준에 따른 영향은 관찰되지 않았다. 본 실험에서 단백질 풍부한 음식이 조직의 지질과산화물을 증가를 초래한다는 Huang와 Fwu²⁵⁾의 보고로 뒷받침되었다. 본 실험에 의하면 적정량의 단백질 급여가 글루타티온 감소를 저지시켜 지질과산화물을 감소시키고, 이로써 뇌의 글루타티온 함량이 유지되어

에탄올성 뇌손상 진행을 억제할 수 있음을 확인하였다. 에탄올 만성 투여와 저단백질 급여시 뇌의 글루타티온 함량이 감소된 것은 글루타티온 의존호소의 기질 이용률의 감소를 초래하므로써 산화적 손상에 민감한 뇌조직³⁸⁾에 있어서 이 물질의 해독을 가중시킨 것으로 사료된다.

뇌는 다가불포화지방산이 풍부한 인지질을 다량 함유하고 있어 산소유리기 특히, 일중산소, ·OH 자유기에게 의해 과산화되기 쉬운 조직이나 지질과산화물 생성 및 그 기전에 관해서는 등한시 되어 왔다.³⁹⁾ 뇌의 지질과산화물 함량은 에탄올 만성군이 급성군에 비하여 유의적으로 증가되었다. 단백질 급여수준은 에탄올 만성군보다 급성군에서 유의적인 변화를 나타내었으며 저단백질 급여시 지질과산화물 함량이 높게 나타났다. 그러나 섬유소 급여수준에 의한 영향은 관찰되지 않았다. 저단백질 급여시 지질과산화물 함량이 증가한 것은 단백질의 부적절한 섭취는 뇌조직 중의 지질과산화물을 축적을 초래하고 또한 장기간의 에탄올 투여는 지질과산화물로 인한 손상을 가중시키는 것으로 관찰되었다.

요약

단백질과 섬유소의 급여수준이 에탄올 급·만성으로 처리한 흰쥐의 뇌조직에서 항산화효소계 활성에 미치는 상호 작용을 구명하고자 단백질은 7%와 20%, 섬유소는 5% 및 10%로 조제한 실험식이를 5주간 급여하였다. 체중증가량 및 식이섭취량은 에탄올 만성 투여시 단백질 7%와 섬유소 10% 급여할 경우 현저히 감소되었다. Superoxide dismutase(SOD) 활성은 에탄올 만성군이 급성군에 비하여 감소되었으며, 특히 저단백질 급여시 SOD 활성이 억제되는 것으로 나타났다. 반면, catalase 활성과 glutathione peroxidase 활성은 에탄올 만성군이 급성군에 비하여 증가하였으며 저단백질 급여시 그 증가가 현저하였다. Glutathione S-transferase는 만성 에탄올 투여에 의해 감소되는 경향이었다. 본 실험의 조건에서는 섬유소 급여 수준에 따른 항산화효소계의 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. 글루타티온 함량 변화는 에탄올 만성투여시 감소되었으며 저단백질 급여시 감소 정도가 현저하였으나 섬유소 수준에 따른 영향은 관찰되지 않았다. 지질과산화물 함량은 에탄올 만성 투여시 저단백질 급여으로 뇌조직 중의 지질과산화의 축적이 가중되는 것으로 관찰되었다.

Literature cited

- 1) Weiner N, Taylor P. Alcohol. In "The pharmacological basis of ther-

- apeutics", Gilman AG, Goodman LS, Rall TW and Murad F, 7th edition, pp.66, Macmillan publishing Co., New York, 1980
- 2) Klaassen CD, Amdur MO, Doull J. Casareet and doull's toxicology, 3rd edition, pp.556, Macmillan publishing Co., New York, 1986
 - 3) Tabakoff B, Gelpke CC. Alcohol and aldehyde metabolism in brain. *Adv Exp Med Biol* 56: 141-164, 1975
 - 4) Stadtman ER. Covalent modification reactions are marking steps in protein turnover. *Biochem* 29: 6323-6331, 1990
 - 5) Acker W, Aps E, Majumdar SK, Shaw G, Thomson AD. The relationship between brain and liver damage in chronic alcoholic patients. *J Neu Neurosurg Psych* 45: 984-987, 1982
 - 6) Raskin NH, Sokoloff L. Changes in brain alcohol dehydrogenase activity during chronic ethanol ingestion and withdrawal. *J Neurochem* 22: 427-434, 1974
 - 7) Myrtle LB. Present knowledge in nutrition. 6th, pp.475, International Life Science Institute Nutrition Foundation, Washington DC, 1990
 - 8) Jarlstedt J. Effect of acute and chronic ethanol administration on ribosomal protein synthesis in mouse brain and liver. *J Neurochem* 19: 603-608, 1972
 - 9) Chun SY. Function of dietary fiber and relation to protective disease. *J Food & Nutr Hanyang Women's College* 4: 101-105, 1990
 - 10) Slah N, Atallah MT, Mahouney RR, Pellett PL. Effect of dietary fiber components on fecal nitrogen excretion and protein utilization in growing rats. *J Nutr* 112: 658-666, 1982
 - 11) Vahouny GV. Dietary fiber, lipid metabolism and atherosclerosis. *Fed Proc* 41: 2801-2806, 1982
 - 12) Nordberg A, Adolfsson R, Aquilonius SM, Marklund S, Oreland L, Winblad B. Brain enzymes and acetylcholine receptors in dementia of Alzheimer type and chronic alcohol abuse. In A2maducci L, Darisson AN, Antuono P, Aging of the brain and dementia, pp 13, New York, Raven press, 1980
 - 13) Report of American Institute of Nutrition. Ad Hoc committee on standard for nutritional studies. *J Nutr* 107: 1340-1348, 1977
 - 14) Kato S, Kawase T, Alderman J, Inatomi N, Liber CS. Role of xanthine oxidase in ethanol-induced lipid peroxidation in rat. *Gastroenterol* 98: 203-210, 1990
 - 15) Fujii M, Ohnachi T, Sagami I, Watanabe M. Liver microsomal drug metabolism in ethanol-treated hamsters. *Biochem Pharmacol* 34: 3881-3884, 1985
 - 16) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
 - 17) Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol & a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474, 1974
 - 18) Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzy* 10: 121-126, 1988
 - 19) Paglia ED, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70: 158-169, 1967
 - 20) Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139, 1974
 - 21) Ellman GL. Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77, 1959
 - 22) Okawa H, Ohishi N, Yaki K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358, 1979
 - 23) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods, 6th, pp.1, Iowa State University Press, Iowa, 1967
 - 24) Schisler NR, Singh SM. Effect of ethanol in vivo on enzymes which detoxify oxygen free radicals. *Free Radic Biol Med* 7: 117-123, 1989
 - 25) Huang CJ, Fwu ML. Protein insufficiency aggravates the enhanced lipid peroxidation and reduced activities of antioxidative enzymes in rats fed diets high in polyunsaturated fat. *J Nutr* 122: 1182-1189, 1992
 - 26) Rotenberg EL, Jakobson PE. The effect of dietary pectin on lipid composition of blood, skeletal muscle and internal organ of rats. *J Nutr* 108: 1384-1392, 1978
 - 27) Peterson DW, Grau CR, Peek NF. Growth and food consumption in relation to dietary levels of protein and fibrous bulk. *J Nutr* 55: 241-257, 1954
 - 28) Delorme CB, Gordon CI. The effect of pectin on the utilization of marginal levels of dietary protein by weanling rats. *J Nutr* 113: 2432-2441, 1983
 - 29) Semsei I, Rao G, Richardson A. Expression of superoxide dismutase and catalase in rat brain as a function of age. *Mech Ageing Devel* 58: 13-19, 1991
 - 30) Mizuno Y, Ohta K. Regional distribution of thiobarbituric acid-reactive products, activities of enzymes regulation the metabolism of oxygen free radical and some of the related enzymes in adult and aged rat brain. *J Neurochem* 46: 1344-1352, 1986
 - 31) Nordmann R, Ribiere C, Rouach H. Ethanol-induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. *Alcohol & Alcoholism* 25: 231-237, 1990
 - 32) Sinet PM, Heillila RE, Cohen G. Hydrogen peroxide production by rat brain in vivo. *J Neurochem* 34: 1421-1428, 1980
 - 33) O'Brien PS, Little C. Intracellular mechanism for the decomposition of lipid peroxide II, Decomposition of lipid peroxide by subcellular fraction. *Can J Biochem* 47: 493-497, 1969
 - 34) Makar HS, Weiss C, Silides DJ, Cohen G. Coupling of dopamine oxidation via the generation of hydrogen peroxide in rat brain homogenates. *J Neurochem* 36: 1893-1897, 1981
 - 35) Bottiger LE, Sweden S. Alcohol and disease. *Acta Med Scand* 223: 97-99, 1988
 - 36) Spiesky H, Kera Y, Penttila KE, Israel Y, Lindros KO. Depletion of hepatic glutathione by ethanol occurs independently of ethanol metabolism. *Alcohol Clin Exp Res* 12: 224-247, 1988
 - 37) Ravindranath V, Shivakumar BR, Anandatheerthavarada HK. Low glutathione levels in brain regions of aged rats. *Neuroscience Letters* 101: 187-190, 1989