

## β-Carotene의 수준별 공급에 따른 흰쥐의 항산화 물질과 간조직의 형태적 변화

최은미 · 박정룡 · 서정숙  
영남대학교 가정대학 식품영양학과

### Effect of Dietary Level of β-Carotene on Antioxidants Contents and Hepatic Morphology in Rats

Choi, Eun Mee, Park, Jyung Rewng and Seo, Jung Sook  
*Department of Food and Nutrition, College of Home Economics,  
Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea*

#### Abstract

This study was designed to investigate the effect of dietary level of β-carotene on level of antioxidant nutrients of rat tissues. Male Sprague Dawley rats at the age of 30 days were fed on diets containing different levels of β-carotene(0, 10, 120, 1,200, 12,000mg per kg diet). Body weight gain of rats fed with 12,000mg β-carotene diet was significantly decreased, but liver and heart weights were not significantly different among groups. The content of total glutathione tended to decrease significantly in 12,000mg β-carotene diet group when compared to β-carotene restriction group(BC O). However, total vitamin C content of liver showed the tendency to increase by β-carotene supply up to 1,200mg. But this tendency was not found in plasma. The content of zinc in liver and plasma was significantly decreased by β-carotene restriction. Alkaline phosphatase activity was significantly higher in 12,000mg diet group. In case of β-carotene restriction group, fibroblasts were proliferated in portal endothelium, and the vacuolar size was enlarged more than the nuclear. In 12,000mg diet group, hepatic vacuoles were extended, but their size was regular and the lysis of hepatocytes was observed. Also, fibroblasts were proliferated in portal endothelium and the regular vacuolar size was extended.

Key words : β-carotene, antioxidant, hepatic morphology.

#### 서 론

항산화 작용을 가진 영양소에 의한 만성질환의 예방효과가 보고되면서 이들 영양소의 섭취에 대한 관심이 점점 높아지고 있다. 이들 중 β-carotene은 역학적 조사 연구에서 여러 종류의 암

발생과 진행에 저해효과를 나타낸다고 보고되고 있으며, 이 효과는 발암의 하나의 가설로서 제기되고 있는 지질과산화 반응이 β-carotene에 의해 억제되기 때문이라고 설명하였다.<sup>1)</sup> Gey등<sup>2)</sup>은 암 발생과 항산화 영양소와의 관계에 대한 연구에서 retinol이 항산화적 기능보다는 세포

분화와 더 관련된 것으로 보고한 것에 비해  $\beta$ -carotene은 항산화 기능 뿐 아니라 면역능 강화에도 효과가 있다고 설명하였다. Berens등<sup>31)</sup>은  $\beta$ -carotene이 retinol에 비해 체내에서의 흡수율이 낮고 조직내에서의 농도가 낮기 때문에 항산화 능력이 뒤떨어진다고 보고하였다. 그러나 활성 산소를 포획하는 능력면에 있어서는  $\beta$ -carotene이 더 우수하다는 Seiter등의 보고<sup>4)</sup>를 비롯한 상반된 보고<sup>5,6)</sup>도 있으며 그들은 그 이유를  $\beta$ -carotene과 retinol의 구조적 차이 때문이라고 설명하였다. 이러한 보고들에서는  $\beta$ -carotene의 항산화 역할을 비교적 분명하게 밝혀주고 있으나 이것이 활성형인 retinol이나 retinoic acid로 전환되어 나타나는 현상인지 아니면  $\beta$ -carotene 자체에 의해 나타나는 현상인지에 대해서는 아직까지 논란이 많은 실정이다. 그리고 Bendich의 보고<sup>7)</sup>에 따르면  $\beta$ -carotene의 과잉 섭취는 암 발생과 돌연변이 혹은 과비타민 A증의 유발을 나타내지 않는다고 함으로써 과잉공급에 의한 조직의 손상에 있어서도  $\beta$ -carotene은 비교적 안전한 것으로 여겨지고 있다.

항산화 영양소들은 상호 협력효과를 통하여 하나의 항산화 영양소의 섭취에 따라 다른 영양소의 필요량이 증가 혹은 감소할 수도 있는 유기적 관계를 가지고 있다. Bowry등<sup>8)</sup>은 항산화 영양소로 널리 알려진 비타민 E가 생체막에서 유리기를 제거시켜서 과산화 반응을 억제시킨다고 했고 Arad등<sup>9)</sup>을 비롯한 여러 연구자들의 보고<sup>10)</sup>에 의하면 이때 형성된 산화형 비타민 E를 비타민 C가 환원제로 작용하여 다시 환원형의 비타민 E로 재생시켜서 항산화 기능을 원활히 수행할 수 있도록 도와준다고 보고했다.

또한 Vile과 Christine<sup>11)</sup>은  $\beta$ -carotene과 vitamin E가 부분적인 산소압 하에서 상보적 효과를 나타낸다고 하였다. 다시 말해서 150 torr 이하의 낮은 산소압에서는  $\beta$ -carotene의 항산화 효과가 뛰어난 반면에 750 torr 이상의 높은 산소압에서는 항산화 활성을 잃고 자가촉매적 산화촉진제 작용을 나타내지만 비타민 E는 750 torr 이상의 높은 산소압하에서 항산화력의 증가를 나타낸다는 것이다. 그리고 -SH기를 함유하고 있는

항산화제인 glutathione 역시 비타민 E의 절약 효과를 통해 항산화력을 증진시킨다는 의견<sup>12)</sup>이 제기되고 있다.

그러므로 이상의 연구를 토대로 볼 때 생체내 항산화 영양소들은 상호작용이나 주변 환경에 따라서 항산화력이 다르게 나타날 수도 있으며 이로 인해 조직내 다른 항산화 영양소들의 농도도 변화될 수 있을 것으로 추측된다.  $\beta$ -carotene은 생체내 항산화 기전에 있어서 특히 반응성이 강한 singlet oxygen의 강력한 포획제로 알려져 있고<sup>7)</sup>, 과잉공급으로 인한 조직의 손상이 거의 없는 영양소로 보고되고 있지만 다른 항산화 영양소와의 관계에 있어서는 효과적인 공급수준이 명확하게 제시되어 있지 않으므로 본 논문은  $\beta$ -carotene의 공급수준에 따른 항산화 효과를 규명하기 위해 지질과산화 유도물질이나 발암물질을 투여하지 않은 상태에서  $\beta$ -carotene을 수준별로 공급하여 체내에서의 다른 항산화 영양소 함량과 조직의 형태적 변화에 대한 영향과 과잉섭취에 따른 문제를 검토하고자 계획되었다.

## 재료 및 방법

### 실험동물 및 식이

이유한 지 10일된 Sprague-Dawley종 음성 흰쥐 50마리를 2주 동안 기본식으로 적응시킨 후 체중에 따른 난피법으로 10 마리씩 분리하여 5군으로 나누어 stainless-steel cage에 분리하여 사육하였다. 실험 동물 사육실의 온도는  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 채광은 12시간 주기(8:00~20:00)로 조절하였으며 각 처리별 실험 식이로 7주간 사육한 후 희생시켰다. 실험기간 중 물과 식이는 임의로 섭취토록 하였으며 각 실험군에 대한 식이조성은 Table 1과 2에 나타나 있다<sup>13)</sup>. 지방공급원으로는 대두유를 사용하였고, 모든 처리군에 대해 vitamin-free casein을 단백질 공급원으로 이용하였으며  $\beta$ -carotene (Sigma Co.)분말을 식이와 혼합하여 공급하였다. 조제한 식이는 매일 새로운 식이로 교화하여 공급해 주었다.

Table 1. Experimental group (mg/kg diet)

Groups	Amount of $\beta$ -carotene added
BC 0	0
BC 1	10
BC 2	120
BC 3	1200
BC 4	12000

Table 2. Composition of basal diet

Ingredients	Content (%)
Vitamin-free casein	20.0
Corn starch	41.9
Glucose	12.5
Sucrose	6.8
Soybean oil	10.0
$\alpha$ -cellulose	4.0
Mineral mixture <sup>1)</sup>	3.5
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	1.0
DL-Methionine	0.3

<sup>1)</sup> Mineral mixture was prepared according to the pattern of Rogers and Harper (1965) and contained the following (g/kg diet) :

CaCO<sub>3</sub> 10.1815, CaHPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.1505, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 12.0085, NaCl 8.7701, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 3.4930, Fe(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>) · 6H<sub>2</sub>O 0.21805, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.0546, MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O · 0.04235, ZnCl<sub>2</sub> 0.007, KI 0.000175, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>2</sub> (4H<sub>2</sub>O) 0.000875, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.000525.

<sup>2)</sup> Vitamin mixture contained the following (mg/kg diet) : vitamin D<sub>3</sub> 1,000 I.U, vitamin E acetate 50, vitamin K<sub>3</sub> 50, thiamin · HCl 12, pyridoxin · HCl 80, cyanocobalamin 0.005, ascorbic acid 300, D-biotin 0.2, folic acid 2, calcium pantothenate 50, para-aminobenzoic acid 60, nicotinic acid 60, meso-inositol 60, riboflavin 40, choline chloride 2,000.

## 시료의 준비

실험 식이로 7주간 사육한 흰쥐를 12시간 절

식시킨 후, ether로 마취하여 개복한 즉시 heparin을 처리한 주사기로 채혈한 다음 -4°C에서 10분간 원심분리(3,000rpm)하여 혈장을 얻었고 간 조직은 채혈 후 즉시 0.25M sucrose buffer로 perfusion시켜 적출하였고 여과지로 수분을 완전히 제거시켜 생조직 무게를 평량하였다.

## Glutathione의 함량

간에서의 총 glutathione (GSH+GSSG)의 함량은 Theodorus와 Helmut의 방법<sup>14)</sup>에 따라서 glutathione reductase-DTNB [5, 5-di-thio-bis-(2-nitrobenzoic acid)] recirculation assay법을 사용하여 412nm에서 흡광도를 측정하였다. 산화형 glutathione 함량은 NADPH 존재하에서 glutathione reductase와 산화형 glutathione이 환원형 glutathione으로 변화됨에 따라 340nm에서 감소 되는 NADPH량으로 계산하였다.

## Vitamin C의 정량

혈장과 간에 함유된 비타민 C 정량은 Shan과 Nath의 방법<sup>15)</sup>을 보완하여 이용하였다. 간의 경우는 시료 일정량을 취한 다음 0.2% metaphosphoric acid를 첨가하여 마쇄한 후 측정하였으며 혈장은 회석한 후 시료로 이용하였다. 시료용액 2.0ml에 0.2% indophenol용액 50ml를 넣은후 2,4-dinitro phenylhydrazin 용액을 넣어 발색시킨 후 37°C의 항온수조에서 3시간 동안 반응시켰다. 반응후 85% 황산용액 5ml를 첨가하여 잘 혼합하고 35분간 상온에서 방치시켰다가 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

## Zinc의 정량

간과 혈장에서의 Zn 함량은 Tompson과 Blanchflower<sup>16)</sup>의 방법을 보완하여 측정하였다. 간에서의 정량은 간 조직 1g을 잘게 썰어 c-HNO<sub>3</sub> 20.0ml를 첨가하여 가열한 후 냉각시켜 일정량의 물을 첨가하고 다시 가열하여 증발 건조시켰다. 흰 연기와 회색침전이 생겼을 때 냉각시켜 HCl 10.0ml를 넣어 내용물을 잘 용해시켜 100ml 증

류수를 채워 시료로 이용하였다. 혈장의 경우 시료 1.0ml를 사용하여 간에서와 동일한 방법으로 처리하였다. 처리한 시료는 atomic absorption spectrophotometer(Thermo Jarell Ash 12, USA)를 이용하여 파장 213.9nm에서 측정하였다.

### 단백질의 정량

각 조직분획의 단백질 정량은 bovine serum albumin 표준단백질 용액을 사용하여 Lowry의 방법<sup>17)</sup>으로 측정하였다.

### Alkaline phosphatase 활성

혈장 내 alkaline phosphatase의 활성은 Kind와 King<sup>18)</sup>의 방법에 준한 효소법으로 alkaline phosphatase 측정용 kit(Eiken Co.)를 사용하여 측정하였으며 효소의 활성도는 1시간동안 1mM의 p-nitrophenol을 생성시키는 능력을 1 unit로 하여 나타내었다.

### 형태학적 관찰

광학현미경 관찰은 신선한 간 조직을 적출 즉시 10% neutral buffered formalin에 고정하고, alcohol 탈수를 거쳐 paraffin에 포매한 다음 microtome (Lipshaw Model-45)으로 3 $\mu$ m의 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색하여 관찰하였다.<sup>19)</sup>

### 통계 처리

본 실험에 의해 얻은 data는 각 실험군마다 평균과 표준편차를 계산하였고 SAS package를 이용하여  $\beta$ -carotene의 수준별 공급이 생체내 항산화 영양소에 미치는 영향을 Tukey test를 이용하여 분석하였고 5% 수준에서 유의성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 체중 증가량, 사료 섭취량 및 사료효율

일일 평균 체중 증가량은 Table 3에서와 같이  $\beta$ -carotene 과잉 공급군인 BC 4 군이 결핍군에 비하여 감소되었으나  $\beta$ -carotene 공급군들 사이에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 사료 섭취량은 BC 1 군에서  $\beta$ -carotene 결핍군인 BC 0군에 비해 유의적으로 감소하였다. 이러한 결과는 Aksoy와 Berger의 보고<sup>20)</sup>와 일치하였고,  $\beta$ -carotene과 canthaxanthin의 효과를 비교하기 위한 Bendich와 Stanley<sup>21)</sup>의 실험에서도 0.2%  $\beta$ -carotene을 17주간 급여한 흰쥐의 체중이 대조군에 비해 별다른 차이를 나타내지 않았다. 본 실험에서  $\beta$ -carotene 과잉공급군인 BC 4군의 체중증가량이 결핍군에 비해 증가한 것은 다량의  $\beta$ -carotene 첨가로 식이의 energy density가 다소 떨어진 것 과도 관련이 되리라 여겨진다. 식이효

Table 3. Effect of dietary  $\beta$ -carotene level on growth performance and organ weights of rats during the experimental period

Groups	B. W. G	Feed Intake g/day	F. E. R	Heart		Liver	
				g/100g B.W.		g/100g B.W.	
BC 0	4.42 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	21.70 $\pm$ 1.04 <sup>a</sup>	0.20 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	2.83 $\pm$ 0.34 <sup>ns</sup>	0.28 $\pm$ 0.01 <sup>ns</sup>		
BC 1	4.27 $\pm$ 0.34 <sup>ab</sup>	19.34 $\pm$ 0.71 <sup>a</sup>	0.22 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	2.65 $\pm$ 0.08	0.28 $\pm$ 0.02		
BC 2	4.29 $\pm$ 0.36 <sup>ab</sup>	20.65 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.21 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	2.65 $\pm$ 0.17	0.28 $\pm$ 0.01		
BC 3	4.21 $\pm$ 0.16 <sup>ab</sup>	20.41 $\pm$ 0.80 <sup>ab</sup>	0.21 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	2.62 $\pm$ 0.08	0.28 $\pm$ 0.01		
BC 4	4.04 $\pm$ 0.34 <sup>b</sup>	20.75 $\pm$ 0.80 <sup>ab</sup>	0.20 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	2.63 $\pm$ 0.08	0.27 $\pm$ 0.01		

1) Values shown are means  $\pm$  S.D.

2) Values with different superscripts within the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ).

3) B. W. G : Body Weight Gain.

4) F. E. R : Feed Efficiency Ratio.

5) n.s : not significant among 5 groups at  $p < 0.05$ .

율은 결핍군에 비해  $\beta$ -carotene 공급군에서 증가되는 경향을 보여  $\beta$ -carotene공급이 성장에 영향을 미치는 것으로 나타났으나 과잉공급시에는 오히려 결핍군 수준으로 감소하였다. 따라서 체중 증가량, 사료 섭취량 그리고 사료효율의 결과에서는  $\beta$ -carotene의 과잉 공급이  $\beta$ -carotene의 생체내 이용능력을 떨어뜨리는 것으로 사료된다. 간과 심장의 무게는  $\beta$ -carotene 제한과 공급에 의한 유의적인 차는 보이지 않았으나  $\beta$ -carotene-공급량이 증가할수록 체중에 대한 간과 심장의 상대적 무게가 다소 감소하는 경향을 보여주었다(Table 3).

**항산화 물질의 함량**

Table 4에 나타낸 바와 같이 간에서의 총 glutathione의 함량은  $\beta$ -carotene 공급량이 증가함에 따라 점차 감소하는 경향이었으며 결핍군에 비해 과잉공급군에서 유의적으로 감소되는 것으로 나타났다. 그리고 본 실험에서는 항산화적 소모의 결과로 생성된 산화형 glutathione의 농도에 있어서는 뚜렷한 변화가 보이지 않아서 Parker<sup>22</sup>의 보고와 일치하였는데 이것은 생성된 산화형 glutathione이 담즙산과 혈액으로 계속 유출되

었기 때문일 수 있으며<sup>23</sup>, 환원형 glutathione으로의 전환이 증가되었다고도 생각된다.  $\beta$ -carotene은 많은 유리기중 특히 반응성이 강한 singlet oxygen과 반응을 하기 때문에 'selective scavenger'로서의 작용이 인정되고 있다.<sup>24</sup> 그러나 결과적으로  $\beta$ -carotene을 제한시킨 BC 0 군에서의 총 glutathione 함량의 증가는  $\beta$ -carotene 제한에 대한 보상작용으로 생각되며, 과잉 공급군에 있어서의 총 glutathione 함량의 감소현상은  $\beta$ -carotene의 자동산화가 다른 과산화 반응에 기질로 사용됨<sup>24</sup>에 따라서 GSH가 스스로 유리기의 포획제로 이용된 결과라고 생각된다.

간과 혈장에서의 비타민 C 함량의 변화는 Table 5에서와 같이  $\beta$ -carotene 공급량이 증가될수록 그 함량이 증가하는 경향을 보였으나 혈장에서는 전 군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 간의 경우 총 비타민 C 함량은 모든 실험군에 있어서 유의적인 차는 보이지 않았으나, 과잉공급군인 BC 4 군을 제외한 다른 군들에 있어서  $\beta$ -carotene 공급이 증가함에 따라 간장중의 총 비타민 C와 산화형 비타민 C의 증가가 비례적으로 나타났다. 간과 혈장에서의 Zn 함량은 결핍군에 비하여  $\beta$ -carotene공급군들에서

Table 4. Effect of dietary  $\beta$ -carotene level on glutathione contents of rat liver

Group	( $\mu$ M g liver)		
	Total glutathione	Oxidized glutathione	reduced glutathione
BC 0	4.62 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	0.39 $\pm$ 0.10 <sup>n.s</sup>	4.14 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>
BC 1	3.54 $\pm$ 1.58 <sup>ab</sup>	0.40 $\pm$ 0.07	2.88 $\pm$ 0.96 <sup>b</sup>
BC 2	3.13 $\pm$ 1.65 <sup>ab</sup>	0.38 $\pm$ 0.09	2.31 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>
BC 3	3.27 $\pm$ 1.53 <sup>ab</sup>	0.48 $\pm$ 0.10	2.41 $\pm$ 0.45 <sup>b</sup>
BC 4	2.28 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	0.39 $\pm$ 0.04	1.78 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>

1) Values shown are means  $\pm$ S.D.

2) Values with different superscripts within the same column are significantly different(p<0.05).

3) n.s.: not significant among 5 groups at p<0.05.

증가되는 경향이었으나  $\beta$ -carotene 공급군들 사이에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그러나 혈장의 경우 BC 1군에서 유의적인 증가를 보여주었다. Dash등<sup>25)</sup>은 Zn가 단백질의 thilo기와 함께 mercaptide를 형성하여 인지질의 인성분과 융합하거나 sialic acid의 carboxyl기나 단백질과 상호작용하여 세포막을 안정화시키는 기능을

가졌다고 보고하였다(Table 8). 뿐만아니라 Zn은 세포막에서 확산작용과 분포화지방의 과산화방지에 관여하고, 유리기 방어효소의 활성증가에 중요한 역할을 한다는 사실이 최근 보도되고 있다.<sup>26)</sup> 그러나 간의 Zn농도는 비타민 A와 Zn의 공급수준에 관계없이 거의 일정하게 유지되었다는 보고도 있다.<sup>27)</sup>

Table 5. Effect of dietary  $\beta$ -carotene level on vitamin C contents of rat liver and plasma

Group	Total vit.C	Oxidized vit.C	Reduced vit.C
Liver(mg/g liver)			
BC 0	178.23 $\pm$ 24.11 <sup>ab</sup>	138.51 $\pm$ 15.75 <sup>ab</sup>	41.42 $\pm$ 12.43 <sup>n.s</sup>
BC 1	172.78 $\pm$ 40.53 <sup>ab</sup>	129.90 $\pm$ 29.65 <sup>b</sup>	47.07 $\pm$ 5.55 <sup>n.s</sup>
BC 2	201.85 $\pm$ 27.33 <sup>ab</sup>	145.50 $\pm$ 28.82 <sup>ab</sup>	48.46 $\pm$ 18.35 <sup>n.s</sup>
BC 3	210.45 $\pm$ 38.09 <sup>a</sup>	167.34 $\pm$ 29.27 <sup>a</sup>	41.80 $\pm$ 18.30 <sup>n.s</sup>
BC 4	164.21 $\pm$ 34.40 <sup>b</sup>	132.07 $\pm$ 34.30 <sup>ab</sup>	41.93 $\pm$ 13.55 <sup>n.s</sup>
Plasma(mg/ml plasma)			
BC 0	47.95 $\pm$ 4.14 <sup>n.s</sup>	32.50 $\pm$ 1.98 <sup>n.s</sup>	17.35 $\pm$ 1.90 <sup>n.s</sup>
BC 1	47.15 $\pm$ 5.63 <sup>n.s</sup>	33.19 $\pm$ 4.00 <sup>n.s</sup>	15.35 $\pm$ 3.60 <sup>n.s</sup>
BC 2	47.69 $\pm$ 3.69 <sup>n.s</sup>	32.68 $\pm$ 2.89 <sup>n.s</sup>	15.80 $\pm$ 2.08 <sup>n.s</sup>
BC 3	46.65 $\pm$ 2.26 <sup>n.s</sup>	30.96 $\pm$ 2.90 <sup>n.s</sup>	16.28 $\pm$ 2.83 <sup>n.s</sup>
BC 4	48.62 $\pm$ 6.15 <sup>n.s</sup>	32.52 $\pm$ 3.72 <sup>n.s</sup>	17.51 $\pm$ 3.95 <sup>n.s</sup>

1) Values shown are means  $\pm$ S.D.

2) Values with different superscripts within the same column are significantly different( $p < 0.05$ ).

3) n.s : not significant among 5 groups at  $p < 0.05$ .

Table 6. Effect of dietary  $\beta$ -carotene level on Zn contents of rat

Group	Zn	
	Plasma(mg/100ml)	Liver(mg/100g)
BC 0	0.51 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	2.59 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>
BC 1	1.20 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	3.20 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
BC 2	0.95 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	2.30 $\pm$ 0.52 <sup>bc</sup>
BC 3	0.95 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	3.00 $\pm$ 0.75 <sup>ab</sup>
BC 4	0.95 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	3.00 $\pm$ 0.61 <sup>ab</sup>

1) Values shown are means  $\pm$ S.D.

2) Values with different superscripts within the same column are significantly different( $p < 0.05$ ).

### Alkaline phosphatase의 활성도와 조직학적 소견

Table 7에 나타낸 바와 같이 alkaline phosphatase의 활성은  $\beta$ -carotene 과잉공급군인 BC 4군에서 유의적으로 높은 경향을 보였고, 나머지 처리군들 사이에서는 차이를 나타내지 않았다. 그러나  $\beta$ -carotene 제한군인 대조군에서는 비교적 상승하는 경향을 보임으로써 제한군과 과잉공급군의 간조직 관찰에서 나타난 변성현상과 일치된 경향을 나타내었다. 광학현미경을 이용한 간조직의 형태학적 변화양상은 Fig. 1에서와 같이 모든 처리군에서 간정맥(portal vein)을 중심으로 정도의 차이는 있으나 관찰되었다. BC 2군과 BC 3군은 유사한 형태로 나타났으며 대조군과 비교할 때 구조적 차이를 발견할 수 없었다. BC

1군에서는 간정맥 주위로 심한 공포변성이 관찰되어 중심정맥(central vein)을 중심으로 한 간세포삭(hepatic cell cord)과 뚜렷이 이분되어 관찰되었다. BC 0군은 BC 1군과 비교할 때 공포변성이 보다 넓은 영역에서 공포의 크기가 더 커진 형태로 관찰되었고 BC 1, BC 2, BC 3군에서는 관찰할 수 없었던 간정맥 내막의 섬유모세포(fibroblast)의 증가가 관찰되었다. BC 4군의 공포변성은 전반적으로 BC 0군과 유사하게 관찰되었으나 부분적으로는 BC 0군에 비해 심한 변성도 관찰되었다. 그러나 간 정맥 주위의 섬유모세포 증식으로 BC 0군에서는 관찰되지 않은 간세포의 용해(lysis)가 나타났으며 간세포내의 섬유모세포 증식이 뚜렷하였고 공포도 더 커진 형태로 균질하게 관찰되었다.

Table 7. Effect of dietary  $\beta$ -carotene level on plasma alkaline phosphatase of rats  
(unit/ml plasma)

Group	Alkaline phosphatase
BC 0	4.58±0.93 <sup>ab</sup>
BC 1	4.13±0.39 <sup>b</sup>
BC 2	3.86±0.85 <sup>b</sup>
BC 3	4.21±0.46 <sup>b</sup>
BC 4	5.49±1.24 <sup>a</sup>

1) Values shown are means  $\pm$ S.D.

2) Values with different superscripts within the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ).

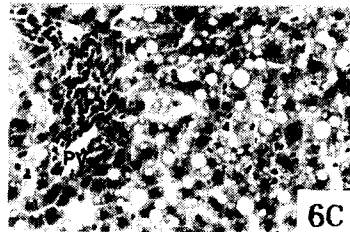
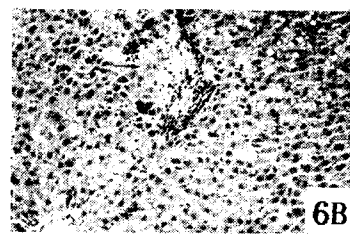
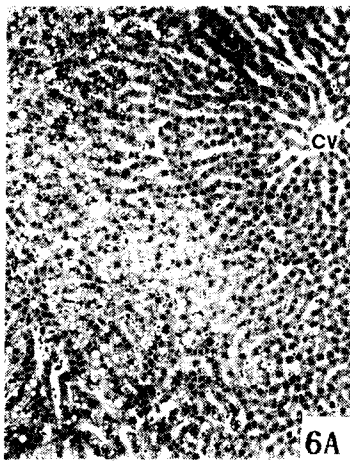
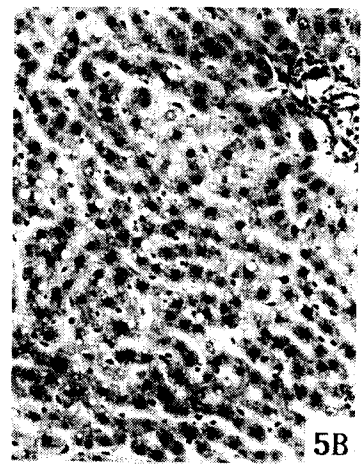
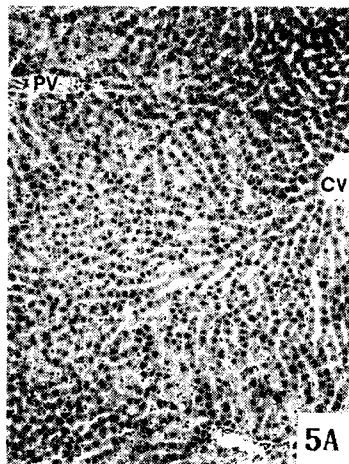
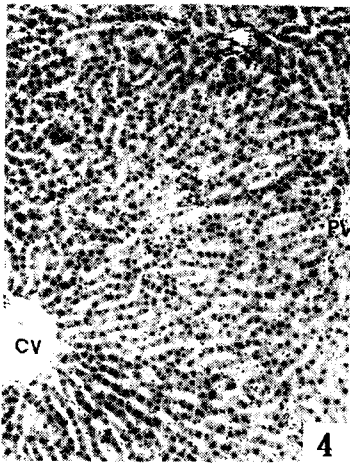
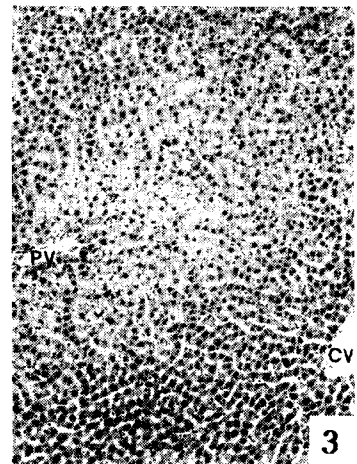
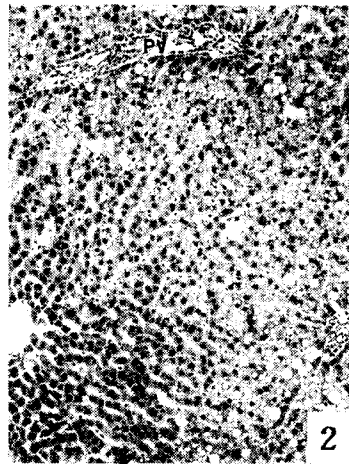
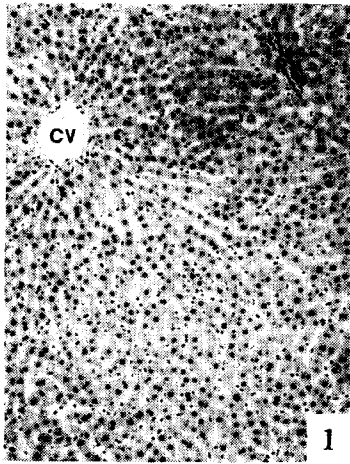




Fig 1. Photographs of hepatic tissue in rats (hematoxylin-Eosin stain)

1. Liver section from control group  
The tissue structure is essentially normal.  
CV : central vein, PV : portal vein.(x 100)
2. Liver section from  $\beta$ -carotene restricted rat(BC 0 group)  
Fibroblasts are proliferated in portal endothelium, and the vacuolar size is enlarged than the nuclear.(x 100)
3. Liver section from rat treated with 10 mg/kg  $\beta$ -carotene(BC 1 group)  
The tissue is divided two areas.  
Vacuolated area surrounded portal vein is observed clearly.(x 100)
4. Liver section from rat treated with 120 mg/kg  $\beta$ -carotene(BC 2 group)  
The tissue structure is preserved well, but mild hepatic vacuolation is observed.(x 100)
5. Liver section from rat treated with 1,200 mg/kg  $\beta$ -carotene(BC 3 group)
  - A. Mild hepatic vacuolation is observed.(x 100)
  - B. The vacuolar size is smaller than the nuclear.(x 200)
6. Liver section from rat treated with 12,000 mg/kg  $\beta$ -carotene(BC 4 group)
  - A. Hepatic vacuoles are extended and their size is regular.(x 100)
  - B. Lysis of hepatocytes are observed(arrow). (x 100)
  - C. Fibroblasts are proliferated in portal endothelium, and the regular vacuolar size is extended.(x 200)

## 요약 및 결론

$\beta$ -carotene의 수준별 공급이 체내의 항산화 영양소로 알려진 물질들과 간조직 형태에 미치는 영향을 살펴보기 위해 이유한 지 10일 된 Sprague-Dawley종 웅성 흰쥐를 7주간 사육하여 관찰하였으며 얻어진 결과는 다음과 같다.  $\beta$ -carotene의 공급으로 인한 체중 증가량은 과잉공급군에서 감소를 보여주었으나 다른 군들에서는 차이가 나타나지 않았고, 식이효율은 제한군과 과잉 공급군에서 낮은 경향을 보였으며 간과 심장의 무게에서는 별다른 변화가 나타나지 않았다. 총 glutathione의 함량은 제한군에 비해 과잉공급군에서 유의적인 감소를 보였고 비타민 C 함량은 간에서  $\beta$ -carotene 공급 증가에 따라 그 함량이 증가하는 경향을 나타내었으며 Zn의 함량은  $\beta$ -carotene 제한군에서 유의적으로 낮게 나타났다. 조직학적 검사의 결과는 BC 1, BC 2, BC 3군에서는 관찰할 수 없었던 간정맥 내막의

섬유모세포(fibroblast)의 증가가 BC 0군과 BC 4군에서 관찰되었고 BC 4군은 전반적으로 BC 0군과 유사한 정도의 공포변성이 나타났으며 부분적으로는 BC 0군에 비해 심한 변성도 관찰되었다. 그리고 간 정맥 주위의 섬유모세포 증식으로 BC 0군에서는 관찰되지 않았던 간세포의 용해(lysis)와 간세포내의 섬유모세포 증식이 뚜렷하였고 공포도 더 커진 형태로 균질하게 관찰되었다. 간조직의 변성현상을 반영하는 alkaline phosphatase의 활성은 과잉공급군의 경우에 유의적으로 높게 나타나 조직검사의 결과와 같은 경향이였다. 이상의 결과를 살펴볼 때 12,000mg의  $\beta$ -carotene을 급여한 군에서는 다른 항산화물질의 생체내 변동과 간조직의 변성을 나타냈으나 10~1,200mg을 급여한 실험군에서는 뚜렷한 차이를 보이지 않아  $\beta$ -carotene의 정량적 평가를 위해서는 생체내  $\beta$ -carotene과 retinol 수준등을 기준으로 한 관련연구가 더 필요하리라고 본다.

## 인 용 문 헌

1. Shapiro, S. S., Dante, J. M. and Lawrence, J. M. Kinetic characteristics of  $\beta$ -carotene uptake and depletion in rat tissue, *J. Nutr.*, 114, 1924, 1984.
2. Gey, K. F., Brubacher, G. B. and Stahelin H. B. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer, *Am. J. Clin. Nutr.*, 45, 1368, 1987.
3. Berens, W. A., Thompson, J. N., and Madere, R. Distribution of  $\alpha$ -tocopherol in human plasma lipoproteins, *Am. J. Clin. Nutr.*, 35, 691, 1982.
4. Seiter, E., Mendeki, J., Holtzman, S., Kanofsky, J. D., Davis, L. and Jeffrey, W. Role of vitamin A and  $\beta$ -carotene in radiation protection : relation to antioxidant properties, *J. Natl. Can. Inst.*, 7, 409, 1983.
5. Willett, W. G., Pork, B. F., Underwood, B. A. Stampfer, M. J., Pressel, S., Rosner, B., Taylor, J. O., Schneider, K. and Hames, C. G. Relation of serum vitamin A and E and carotenoids to the risk of cancer, *N. Engl. J. Med.*, 310, 430, 1984.
6. Olson, J. A. The pathophysiological basis of vitamin A toxicity, *Nutr. Rev.*, 40(9) : 272, 1982.
7. Bendich, A. The safety of  $\beta$ -carotene, *Nutr. Can.*, 11, 207, 1988.
8. Bowry, V. W., Ingold, K. U. and Stoker, R. Vitamin E in human low-density lipoprotein : When and how this antioxidant becomes a prooxidant, *Biochem. J.*, 288, 341, 1992.
9. Arad, I. D., Dgani, Y. and Eyal, F. G. Vitamin E and vitamin C plasma levels in premature infants following supplementation of vitamin C, *Inter. J. Vit. Nutr. Res.*, 55, 3950, 1985.
10. Freeman, B. A. and James, D. C. Biology of Disease : Free radical and tissue injury, *Lab. Invest.*, 47(5) : 412, 1982.
11. Vile, G. F. and Christine, C. W. Inhibition of adriamycin promoted microsomal lipid peroxidation by  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -tocopherol and retinol at high and low oxygen partial pressures, *FEBS Letter*, 238(2) : 353, 1988.
12. Atroshi, F., Tyopponen, J., Sankary, S., Kangasniemi, R. and Parantainen, J. Possible roles of vitamin E and glutathione metabolism in bovine mastitis, *Inter. J. Vit. Nutr. Res.*, 57, 37, 1986.
13. AIN Standard : Report of the America institute of nutrition Ad Hoc committee on standards for nutritional studies, *J. Nutr.*, 107, 1340, 1976.
14. Theodorus, P. M. A. and Helmut, S. Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfide in biological sample, *Met. Enz.*, 77, 373, 1981.
15. Shan, S. and Nath, N. Effect of castration on the metabolism of L-ascorbic acid in rat prostate, *J. Nutr. Sci. Vit.*, 31, 107, 1985.
16. Tompson, R. H. and Blanchflower. Wet-ashing apparatus to prepare biological materials for atomic absorption spectrophotometry, *Lab. Prac.*, 20(11) : 859, 1972.
17. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. Protein measurement with the folin-phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1981.
18. Kind, P. P. N. and King, E. J. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed phenol with amino antipyrine, *Am. J. Clin. Pathol.*, 7, 322, 1954.
19. Ambrogi, L. P. Manual in histologic and special staining techniques. Armed Forces Institute of Pathology, Washington D. C., 1975.
20. Aksoy, M. and Berger, M.R. Differential relationship vitamin A and E levels in methylnitrosourea-induced Sprague-Dawley rats following prolonged feeding of fatty acid diets

- enriched with the vitamins, *J. Can. Clin. Oncol*, 116, 470, 1990.
21. Bendich, A. and Stanley, S. S. Effect of  $\beta$ -carotene and canthaxanthin on the immune responses of the rat, *J. Nutr*, 116, 2254, 1986.
  22. Parker, R. S. Carotenoids in human blood and tissues, *J. Nutr*, 119, 101, 1989.
  23. Fajardo, L. F., Eltringham, J. R. and J. R. Stewart. Combined cardiotoxicity of adriamycin and X-radiation, *Lab. Invest*, 34, 86, 1976.
  24. Krinsky, N. I. The transport of vitamin A and carotenoids in human plasma, *Arch. Biochem. Biophys*, 73, 233, 1958.
  25. Dash, S. G., Brewer, J. and Oelsbege, F. J. Effect of zinc on hemoglobin binding by red blood cell membrane. *Nature*, 250, 251, 1974.
  26. Bray, J. M. and Bettger, W. J. The physiological role of zinc as an antioxidant, *J. Free Rad. Biol. Med.*, 8, 281, 1990.
  27. Peter, A. J., Keen, C. L., Lonnerdal, B. and Hurley, L. S. Zinc-vitamin A interaction in pregnant and fetal rats. : Supplemental vitamin A does not prevent zinc-deficient-induced teratogenesis, *J. Nutr*, 116, 1765, 1986.