

## 흰쥐 관류간 모델에서 저산소 및 산소재도입시 vitamin C가 간장기능에 미치는 영향

고준일 · 조태순 · 이선미\*  
성균관대학교 약학대학

### The Effect of Vitamin C on Hypoxia/Reoxygenation Induced Hepatic Injury in Isolated Perfused Rat Liver

Jun-Il KO, Tai-Soon CHO, Sun-Mee LEE\*

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

(Received December 3, 1996; accepted February 4, 1997)

**Abstract** - This study was done to investigate the effect of vitamin C on hypoxia/reoxygenation-induced hepatic injury in isolated perfused rat liver. Isolated livers from rats fasted 18 hours were subjected to 45 min of hypoxia followed by reoxygenation for 45 min. The perfusion medium used was Krebs-Henseleit bicarbonate buffer (pH 7.4) and 0.5 mmol/L of vitamin C was added to the perfusate. Alanine aminotransferase (ALT) and lactate dehydrogenase (LDH) levels were significantly increased by hypoxia/reoxygenation. These increases were augmented by vitamin C. Glucose output and bile flow were markedly decreased by hypoxia/reoxygenation. Vitamin C aggravated the decrease of glucose output but had little effect on bile flow. Our findings suggest that hypoxia/reoxygenation diminishes hepatic metabolic and secretory functions, and vitamin C significantly aggravates these changes.

**Keywords** □ vitamin C, hepatic function, hypoxia/reoxygenation, perfused rat liver

최근 장기이식 및 심장재관류와 같은 새로운 치료법이 증가하면서 조직의 허혈 및 재관류시 나타나는 세포독성에 관심이 모아지고 있다. 여러 연구에 따르면 활성산소가 허혈 및 재관류시 일어나는 세포조직 및 모세혈관손상의 주요 원 인이며(Granger 등, 1986) 이런 활성산소의 원천은 주로 xanthine oxidase반응에 의한다고 한다(Mayumi 등, 1993).

간은 체내에서 가장 대사율이 높은 장기로서 몸 전체 산소 소모율의 20%를 차지하며 담즙을 생성하고 호르몬 및 약물을 대사시키는 주된 장소이다. 또한 간장은 당분해 작용이 일어나 에너지가 공급되는한 저산소상태에서 잘 견딘다고 하나(Anundi 와 DeGroot, 1989) glycogen이 고갈된 경우 저산소자체 혹은 저산소 및 산소재도입으로 인한 조직 손상에 더욱 민감하다고 한다(Younes 등, 1989).

Vitamin은 생명유지와 체내 대사 활성을 조절하는데 없어서는 안되는 것으로 전에는 비타민 결핍시 보충하는 소극적 의미로 사용하였으나 근래에는 성인병 예방이나 질병 치료의 보조제로서의 역할이 발표되고 있다.

Vitamin C는 널리 알려진 수용성 항산화제로 작용발현도 빠르고 체내에 축적되지 않으나, Fe<sup>2+</sup>이나 Cu<sup>2+</sup>와 같은 전이 원소 존재하에서나(Borg와 Schaich, 1989) 만성으로 vitamin C를 과량으로 투여하였을 경우, 만성으로 vitamin C를 저용량으로 투여하였을 경우(Holloway와 Kivers, 1991), 생체의 실험에서 vitamin C 투여시 허혈시 ferritin으로 부터 유리된 철이 과산화수소를 hydroxyl radical이나 hydroxyl-like radical로 변화시켜 세포막을 공격하여 전산화제(pro-oxidant)로 작용한다고 한다(Wu 등, 1991).

실제로 본 연구실에서도 흰쥐 생체내 실험에서 간장 허혈 및 재관류로 인한 약물대사효소계의 활성저하가 상용량의 vitamin C 투여로는 완화되었으나 고용량의 vitamin C 투여 시는 오히려 악화시켰다(Kim 등, 1995). 그러나 아직까지도 그의 정확한 작용기전은 알려져있지 않고 특히 약물대사에 다른 간장의 기능에 대한 연구도 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 간장의 기본골격을 그대로 유지시키며 약물의 작용기전을 관찰할 수 있는 적출관류간 모델을 이용하여 저산소 상태(N<sub>2</sub> gas주입 및 부분허혈)와 산소 재도입후 시간에 따른 간장기능 변화에 대한 vitamin C의

\* To whom correspondence should be addressed.

영향을 알아보고자 하였다.

## 실험재료 및 방법

### 실험 동물

실험 동물로는 체중 260 g 내외의 웅성 Sprague-Dawley 계 흰쥐를 제일상사로 부터 공급받아 항온, 항습이 유지되는 본 연구실 동물 사육실에서 일주일 이상 적응시킨 후, 일반상태를 관찰하여 외관상 건강한 동물을 선별하여 실험에 사용하였다. 동물사육 환경은 12시간 간격의 인공조명(오전 8시부터 오후 8시까지), 조도 300-500 Lux,  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , 배기 10-18회/hr, 습도  $55 \pm 5\%$ 의 조건하에서 polycarbonate 사육상자( $W280 \times L400 \times H170$  mm)에 5마리씩 넣어 사육하였다. 모든 실험 동물은 실험전 18시간 동안 절식시켰으며 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

### 적출 관류간 실험

Pentobarbital sodium(40 mg/kg)을 흰쥐 복강내에 주사하여 마취시킨 후 복부 정중선을 U자모양으로 절개하여 관상정맥(coronary vein)을 결찰하고 담관에 polyethylene catheter(PE-20)를 삽입하여 일정시간 간격으로 담즙을 취하였다. 간문맥에 polyethylene catheter(PE-190)를 삽입하여 관류액을 일정속도(3-4 ml/g liver/min)로 관류시키면서 관류액에 의한 간의 팽창을 방지하기 위하여 바로 하대정맥을 잘라주고, 신장 윗부분의 하대정맥을 결찰한 뒤에 주변조직으로부터 간조직이 손상되지 않도록 적출하여 perfusion block에 옮겼다. 이때 사용하는 관류용액은 Krebs Henseleit bicarbonate buffer(KHBB, pH 7.4)로서 담즙분비를 촉진시키기 위해 sodium taurocholate(26.7 g/L)를 섞었으며 관류하는 동안 혼합기체( $\text{O}_2: 95\%$ ,  $\text{CO}_2: 5\%$ )를 KHBB에 지속적으로 주입하여 간세포에 산소를 공급하였고 모든 관류액은  $37^\circ\text{C}$ 로 유지시켰다. 이러한 관류실험은 관류액을 간조직으로 한번만 통과시키는 방법(nonrecirculating system)을 사용하였다. 적출한 간조직의 안정된 생리적 조건을 유지하기 위해 간을 perfusion block에 옮긴다음 처음 20분간은 KHBB만을 관류시켜 간을 평형화시키고 다음으로 2가지 형태의 저산소상태를 유발하였다. 즉 간장에 nitrogen-carbon dioxide mixture(95:5)를 산소 혼합 기체 대신 30분간 주입하거나( $\text{N}_2$  hypoxia), 혹은 관류속도를 3-4 ml/g liver/min에서 0.8-1.2 ml/g liver/min로 낮추어(low flow hypoxia)관류시켰다(Bradford 등, 1986). 45분간의 저산소 상태 후에 산소 혼합기체를 45분간 재주입하여 관류실험을 마쳤다. Ascorbic acid는 간장평형끝에 최종농도가 0.5 mmol/L가 되도록 관류액에 넣어 대조군과 동일한 방법으로 관류시켰다. 또한 당신생작용에 있어서는 KHBB만을 흘려준 군과 KHBB에 당신생기질인 lactate(4 mM)와 pyruvate(0.4 mM)을 첨가한 실험군으로 나누어 실험을 시행하였다. 평형기간과 저산소

및 산소재도입기간 동안 매 15분마다 관류액을 받아 이화학적 검사를 실시하였고 산소소비량을 계산하였으며 담즙을 받아 담즙 분비량을 측정하였다.

### 분석 방법

관류액내 alanine aminotransferase(ALT)는 Sigma kit #59-UV(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를, lactic acid dehydrogenase는 Sigma kit #228-50를 각각 사용하여 표준흡광법으로 측정하였다. 산소 소비량은 유출되는 관류액에 Clark type oxygen electrode를 놓고 주입되는 관류액내의 산소농도와 유출되는 관류액내의 산소 농도의 차이를 계산하였다. 관류액내 당농도는 Sigma kit #510-A를, 요소농도는 Sigma kit #535-B를 각각 사용하여 표준 흡광법으로 측정하였다. 담즙량은 eppendorf tube 자체의 무게를 미리 측정한 후, 총담관에서 받은 tube무게와의 차이값을 담즙량으로 하여  $\mu\text{g/g liver/min}$ 으로 표시하였다.

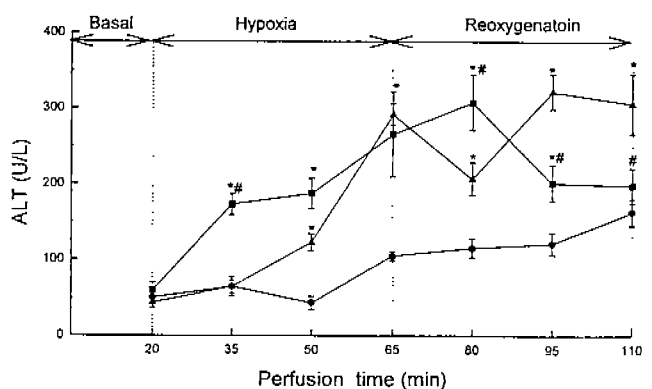
### 통계처리

모든 실험결과는 평균 $\pm$ 표준오차로 나타내었으며 자료 분석은 one-way analysis of variance(ANOVA)를 이용하여  $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

## 실험 결과

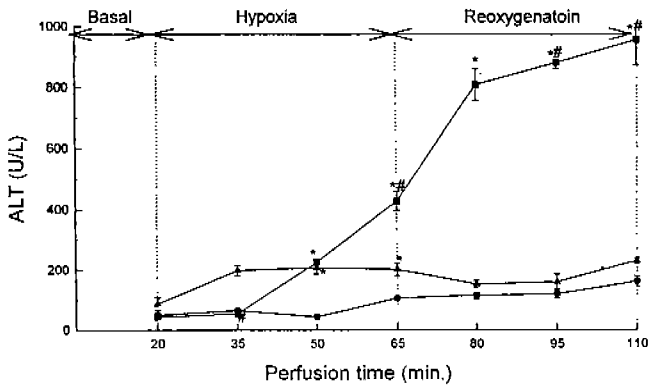
### 관류액내 ALT 활성도

산소를 계속 공급한 대조군의 ALT치는 50-120(U/L)으로 정상흰쥐와 별다른 차이를 보이지 않았으며 시간이 경과함에 따라 다소 증가하는 경향을 나타내었다.  $\text{N}_2$  hypoxia 모델에서 저산소 및 산소재도입군에서는 저산소시 30분, 45분과 산소재도입 후 전기간에서 대조군에 비해 유의성있게 증가하였다. Vitamin C투여군에서도 저산소 15분, 30분



**Fig. 1.** Time-dependent release of alanine aminotransferase by isolated perfused livers from fasted rats in  $\text{N}_2$  hypoxia model. \* = Significantly different ( $p < 0.05$ ) from control. # = Significantly different ( $p < 0.05$ ) from hypoxia/reoxygenation. Values are means  $\pm$  S.E.M. from 6 rats per group. ●-●: control, no hypoxia, ▲-▲: hypoxia+reoxygenation, ■-■: hypoxia+reoxygenation+vitamin C.

및 산소재도입 15분, 30분에 대조군에 비해 유의성있게 증가하였고 특히 산소재도입 직후에 이 증가는 더욱 현저하

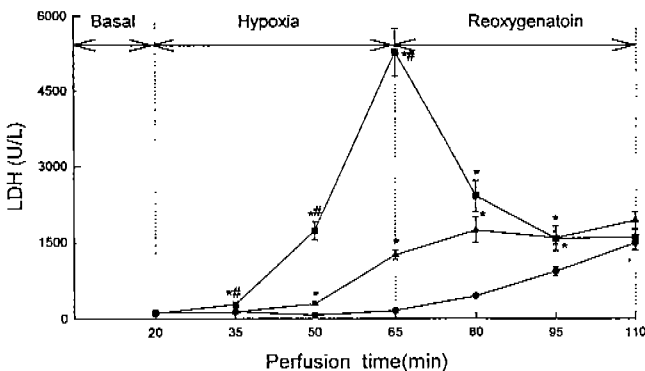


**Fig. 2.** Time-dependent release of alanine aminotransferase by isolated perfused livers from fasted rats in low flow model. \* = Significantly different ( $p < 0.05$ ) from control. # = Significantly different ( $p < 0.05$ ) from low flow/reoxygenation. Values are means  $\pm$  S.E.M. from 6 rats per group. ●-●: control, no hypoxia, ▲-▲: low flow(hypoxia)+reoxygenation, ■-■: hypoxia+reoxygenation+vitamin C.

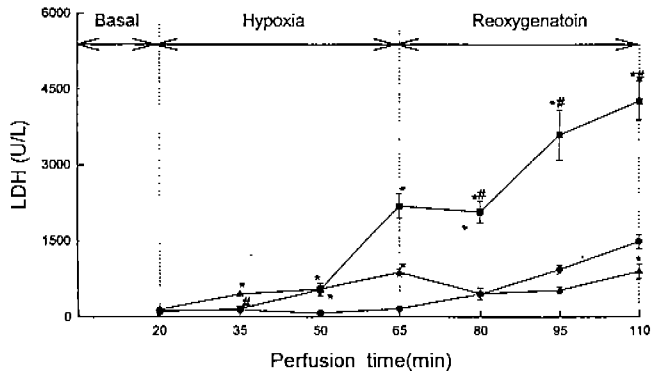
였다(Fig. 1). Low flow 모델에서 ALT치는 저관류 및 재관류군에서 저관류 30분, 45분에 대조군에 비해 유의성있게 증가하였다. Vitamin C투여군에서는 저관류 15분, 30분에 대조군에 비해 유의성있게 증가하였고 재관류 30분, 45분에는 더욱 증가하였다(Fig. 2).

**관류액내 LDH 활성도**

산소를 계속 공급한 대조군의 LDH치는 낮은 수치를 보이며 ALT치와 같이 시간이 경과함에 따라 다소 증가하는 경향을 나타내었다. N<sub>2</sub> hypoxia 모델에서 저산소 및 산소재도입군과 vitamin C투여군 모두에서 저산소시 및 산소재도입시 LDH 활성도는 대조군에 비해 유의성있게 증가하였고 특히 vitamin C 투여군에서 저산소시에 저산소 및 산소재도입군에 비해서도 더욱 현저하게 증가하였다(Fig. 3). Low flow 모델에서 저관류 및 재관류군은 저관류기간에는 대조군에 비해 유의성있게 증가하였으나 재관류기간에는 대조군과 차이가 없었다. Vitamin C투여군은 저관류 30분, 45분에 대조군에 비해 유의성있게 증가하였으며 재관류 기간 전반에 걸쳐 대조군과 저관류 및 재관류군 모두에 비해



**Fig. 3.** Time-dependent release of lactate dehydrogenase by isolated perfused livers from fasted rats in N<sub>2</sub> hypoxia model. \* = Significantly different ( $p < 0.05$ ) from control. # = Significantly different ( $p < 0.05$ ) from hypoxia/reoxygenation. Values are means  $\pm$  S.E.M. from 6 rats per group. ●-●: control, no hypoxia, ▲-▲: hypoxia+reoxygenation, ■-■: hypoxia+reoxygenation+vitamin C.

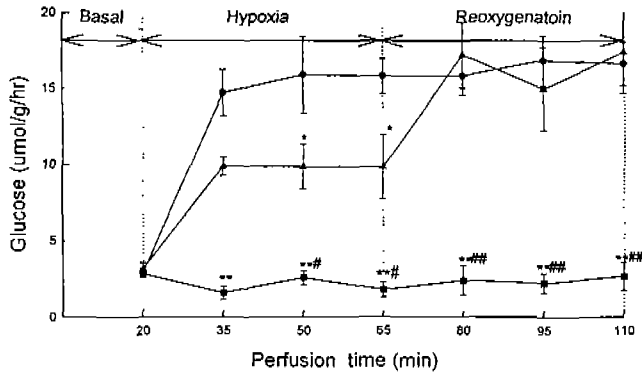


**Fig. 4.** Time-dependent release of lactate dehydrogenase by isolated perfused livers from fasted rats in low flow model. \* = Significantly different ( $p < 0.05$ ) from control. # = Significantly different ( $p < 0.05$ ) from low flow/reoxygenation. Values are means  $\pm$  S.E.M. from 6 rats per group. ●-●: control, no hypoxia, ▲-▲: low flow(hypoxia)+reoxygenation, ■-■: hypoxia+reoxygenation+vitamin C.

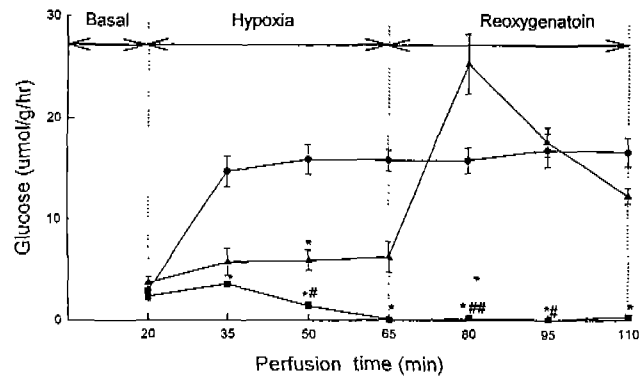
**Table I.** Effect of hypoxia and reoxygenation on oxygen consumption in isolated perfused livers

	Basal	N <sub>2</sub> hypoxia-Reoxygenation			Low flow-Reoxygenation		
	20 min	80 min	95 min	110 min	80 min	95 min	110 min
Control	1.14 $\pm$ 0.18	1.45 $\pm$ 0.44	1.33 $\pm$ 0.09	1.33 $\pm$ 0.11	1.44 $\pm$ 0.15	1.33 $\pm$ 0.34	1.33 $\pm$ 0.34
Hypoxia+ Reoxygenation	1.81 $\pm$ 0.24	1.67 $\pm$ 0.04	1.58 $\pm$ 0.04	1.58 $\pm$ 0.01	1.11 $\pm$ 0.05	1.05 $\pm$ 0.04	1.06 $\pm$ 0.04
Hypoxia+ Reoxygenation+ vitamin C	1.46 $\pm$ 0.11	1.59 $\pm$ 0.07	1.69 $\pm$ 0.15	1.70 $\pm$ 0.18	1.39 $\pm$ 0.10	1.47 $\pm$ 0.10	1.48 $\pm$ 0.10

Values given are means and their standard errors(means  $\pm$  S.E., n=5-6). After a 20 min equilibration period, hypoxia was induced from 20 to 65 min. followed by reoxygenation from 65min to 110 min.



**Fig. 5.** Time-dependent release of glucose release by isolated perfused livers from fasted rats in N<sub>2</sub> hypoxia model. \* = Significantly different (p<0.05) from control. \*\* = Significantly different (p<0.05, p<0.01) from hypoxia/reoxygenation. Values are means ± S.E.M. from 6 rats per group. ●-●: control, no hypoxia, ▲-▲: hypoxia+reoxygenation, ■-■: hypoxia+reoxygenation+vitamin C.



**Fig. 6.** Time-dependent release of glucose release by isolated perfused livers from fasted rats in low flow model. \* = Significantly different (p<0.05) from control. \*\* = Significantly different (p<0.05, p<0.01) from low flow/reoxygenation. Values are means ± S.E.M. from 6 rats per group. ●-●: control, no hypoxia, ▲-▲: low flow (hypoxia)+reoxygenation, ■-■: hypoxia+reoxygenation+vitamin C.

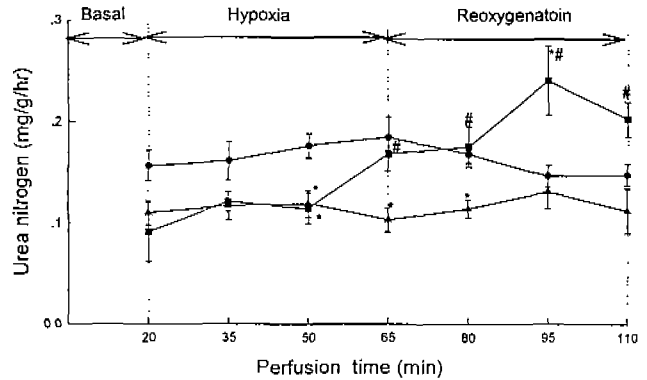
현저하게 증가하였다(Fig. 4).

**산소 소비량**

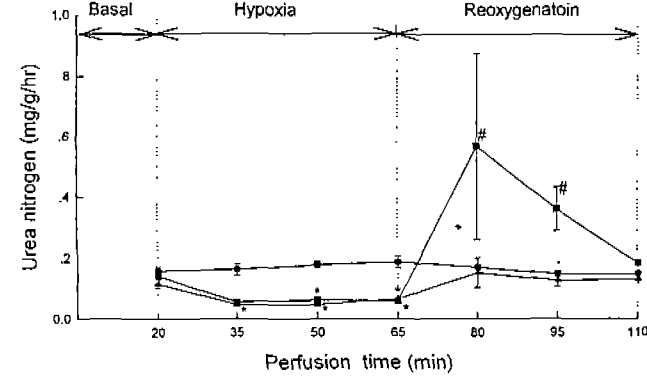
N<sub>2</sub> hypoxia 및 low flow 모델 모두에서 모든 실험기간동안 대조군과 차이를 보이지 않았다(Table I).

**당신생작용**

N<sub>2</sub> hypoxia 및 Low flow 모델 모두에서 기초관류액인 KHBB실험의 대조군의 glucose생성량은 거의 일정하게 낮은 수치를 나타내었으나 저산소 및 산소재도입군에서 산소재도입 30분에서 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다. Vitamin C투여군에서는 저산소 및 산소재도입 전반에 걸쳐 대조군과 저산소 및 산소재도입군에 비해 유의성있는 감소를 나타내었다(data not shown). 기질관류액 실험군에서 대조군은 기질관류액이 주입되면서 glucose 생성량이 크게



**Fig. 7.** Time-dependent release of urea nitrogen by isolated perfused livers from fasted rats in N<sub>2</sub> hypoxia model. \* = Significantly different (p<0.05) from control. # = Significantly different (p<0.05) from hypoxia/reoxygenation. Values are means ± S.E.M. from 6 rats per group. ●-●: control, no hypoxia, ▲-▲: hypoxia+reoxygenation, ■-■: hypoxia+reoxygenation+vitamin C.

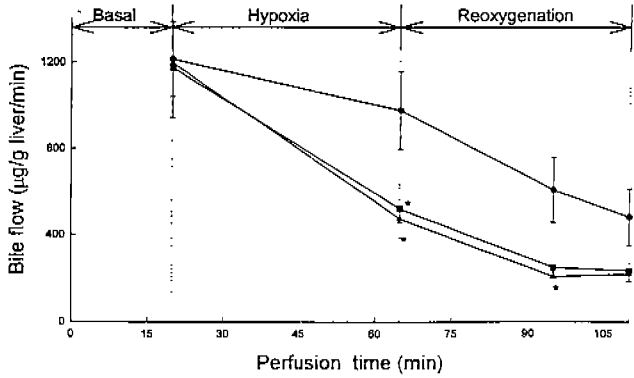


**Fig. 8.** Time-dependent release of urea nitrogen by isolated perfused livers from fasted rats in low flow model. \* = Significantly different (p<0.05) from control. # = Significantly different (p<0.05) from low flow/reoxygenation. Values are means ± S.E.M. from 6 rats per group. ●-●: control, no hypoxia, ▲-▲: low flow (hypoxia)+reoxygenation, ■-■: hypoxia+reoxygenation+vitamin C.

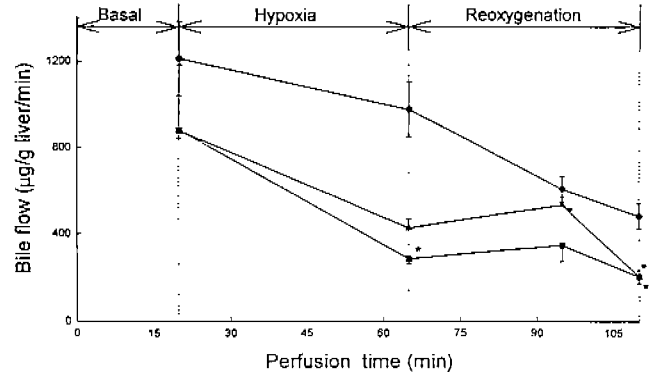
증가하여 실험 전 기간중에 일정한 높은 농도를 유지하였다. 저산소 및 산소재도입군에서 저산소 30분, 45분에 대조군에 비해 유의성있게 감소하였으며 vitamin C투여군에서는 기초관류액에서와 마찬가지로 저산소 및 산소재도입 전반에 걸쳐 다른 두군에 비해 glucose량이 더욱 현저하게 감소하였다(Fig. 5, 6).

**요소생성작용**

산소를 계속 공급한 대조군의 요소량은 거의 일정한 수치를 나타내었으나 N<sub>2</sub> hypoxia모델에서 저산소 및 산소재도입군에서 저산소 30분, 45분 및 산소재도입 직후에 대조군에 비해 유의성있게 감소하였다. Vitamin C투여군에서는 저산소 45분, 산소재도입 직후에 저 산소 및 산소재도입군보다 유의성있게 증가하였으며 특히 산소재도입 30분에서



**Fig. 9.** Time-dependent release of bile flow rate by isolated perfused livers from fasted rats in N<sub>2</sub> hypoxia model. \* = Significantly different (p < 0.05) from control. Values are means ± S.E.M. from 6 rats per group. ●-●: control, no hypoxia, ▲-▲: hypoxia+reoxygenation, ■-■: hypoxia+reoxygenation+vitamin C.



**Fig. 10.** Time-dependent release of bile flow by isolated perfused livers from fasted rats in low flow model. \* = Significantly different (p < 0.05) from control. Values are means ± S.E.M. from 6 rats per group. ●-●: control, no hypoxia, ▲-▲: low flow (hypoxia)+reoxygenation, ■-■: hypoxia+reoxygenation+vitamin C.

는 대조군과도 유의성있는 차이를 보였다(Fig. 7). Low flow 모델에서도 저관류 및 재관류군에서 저관류 기간동안 대조군에 비해 유의성있게 감소하였으나 vitamin C 투여군에서는 재관류 15분, 30분에 저관류 및 재관류군보다 오히려 유의성있게 증가하였다(Fig. 8).

**담즙 분비량**

산소를 계속 공급한 대조군은 시간이 경과함에 따라 담즙분비량이 감소하였고 N<sub>2</sub> hypoxia 모델에서 저산소 및 산소재도입군에서 저산소시 및 산소재도입 직후부터 대조군에 비해 유의성있게 감소하였다. Vitamin C 투여군에서는 저산소시에만 대조군에 비해 유의성있게 감소하였다(Fig. 9). Low flow 모델에서 저관류 및 재관류군의 담즙분비량은 재관류 45분에 대조군에 비해 유의성있게 감소하였으나 vitamin C 투여군에서는 저관류 및 재관류 45분에 대조군에 비해 유의성있게 감소하였다(Fig. 10).

**고 찰**

최근 간이식을 비롯한 장기이식 및 심장 재관류와 같은 새로운 치료법이 증가하면서 허혈상태(장기가 미관류된 상태)의 조직에 산소가 재도입(재관류)된 후 일어나는 여러 세포 독성에 밀반침이 되는 기전 연구에 관심이 모아지고 있다. 다양한 대사기능을 가진 간장의 경우 신장이식시(48시간)와는 달리 8시간 이내에 이식을 시행하여(즉, 허혈 시간이 8시간으로 제한) 혈액이 재관류되어야 될 뿐 아니라 적합한 간의 공여와 숫자의 부족으로 인해 수술시의 간의 상태, 이식장기의 저장액 및 적절한 약물 투여를 비롯한 더욱 많은 부분에 주의(David 등, 1994)가 기울여져야 한다.

수용성 항산화제로 널리 알려진 vitamin C는 일일 권장량이 확실치는 않으나 일반적으로 약리작용을 기대할 때는

보다 다량의 양이 필요한 것으로 알려져 있으며 1970년 "Vitamin C와 갑기"라는 책이 출판되며 대량요법이 제창되었다. 또한, vitamin C는 지용성 항산화제인 vitamin E와 상승작용을 나타내고(Leung 등, 1981; Packer 등, 1979) 일반적으로 인체투여시 안전하다고 하나 이와는 달리 일부 Fe<sup>2+</sup>와 Cu<sup>2+</sup>와 같은 전이원소 존재하에서 전산화제로 작용하며(Borg 등, 1989; Miller 등, 1989) 저용량(Degkwitz 등, 1975; Omaye 등, 1979; Ginter 등, 1984) 및 대량투여시(Peterson 등, 1983) 오히려 간장 기능을 저하시킨다고 한다(Zannoni 등, 1975).

본 연구에서 간장의 일반적인 손상지표인 관류액내 ALT 및 LDH 활성도가 허혈상태부터 증가하기 시작하여 산소재도입 후 더욱 증가되었으며 고용량의 vitamin C 처치 시에는 이의 수치가 더욱 증가되었다. 더욱 흥미있는 일은 이식시와 같은 완전 허혈의 실험모델인 hypoxia 모델에서는 저산소 및 산소재도입시와 vitamin C 모두에서 대조군에 비해 증가된 ALT치를 나타내었으나 부분허혈의 실험모델인 low flow 모델에서는 저산소 및 산소재도입시는 대조군과 차이가 없었으나 vitamin C 투여시는 ALT치가 급격히 증가하는 것으로 보아 허혈상태에 따라 간장손상정도가 차이가 나고 이들 모두에서 vitamin C는 항산화제라기 보다는 전산화제로 작용하여 간장손상을 악화시키는 것으로 생각된다. 또한 ALT치와 LDH유출과 더불어 산소 소비량도 감소되어지리라 추측하였으나 모든 실험군에서는 별 다른 차이를 보이지 않았다.

간장의 주요 기능에는 당신생작용 및 요소생성작용이 있다. 간장은 다른 장기와는 달리 정상상태에서는 저산소상태에 저항력을 가지고 있으나 수술전 16시간 동안 절식한 흰쥐의 간의 경우 glycogen의 완전한 고갈로 저산소 및 산소재도입으로 인한 손상을 입는다고 한다(Younes 등,

1988). 또한 절식은 xanthine dehydrogenase가 xanthine oxidase로의 전환을 촉진하여(Brass 등, 1991; Kamiike 등, 1985) 체내 전산화제의 형성을 유리하게 한다.

본 결과에서도 예상대로 18시간 동안 굶긴 흰쥐에 있어 glucose 농도는 낮은 수치를 보였다. 저산소시 및 산소재도입시 glucose 농도는 감소하였으며 이러한 감소는 vitamin C처치에 의해서 더욱 현저하였다. 또한 두가지 모델 모두에서 당신생작용 기질을 관류액에 첨가함에 따라 glucose 농도는 현저히 증가하였다. 저산소 및 산소재도입군에서 저산소시에는 낮았던 glucose 농도가 산소 재도입후 일시적으로 증가하는 것을 볼 수 있는데, 당신생작용과 산소의 양 사이에 밀접한 관계가 있음을 보여준다. Vitamin C 처치는 기초관류액 관류시와 마찬가지로 모든기간에 glucose생성이 억제되었고 노폐물 제거능력을 알 수 있는 요소생성작용도 안정상태(대조군)와 비교해 볼 때 vitamin C 처치군이 비정상적으로 높았으며 이도 역시 요소생성회로(urea cycle)와 관련된 효소의 항진으로 인한 간기능이상의 결과로 생각되어진다.

간장의 일반적인 기능으로 담즙 분비 기능이 있다. Kamiike(1985)등에 따르면 담즙분비는 세포내 ATP변동과 밀접한 관계가 있으므로 단순한 담즙분비를 측정할 수 없으며 간장 손상 정도를 쉽게 평가할 수 있다고 한다. 또한 담즙이 분비되는 기전은 담즙산의 농도적 수송에 따른 담즙산 의존성(bile acid dependent)과 sodium bicarbonate와 같은 전해질의 이동, glutathione이나 bilirubin과 같은 유기이온에 의한 담즙산 비 의존성 펌프(bile acid independent pump)로 나누어진다. 본 연구에서 저산소 및 산소재도입시 간장의 담즙 분비량은 저산소시부터 감소되었으며 그림에서 나타나진 않았으나 total bilirubin은 큰 차이를 보이지 않았다. 이러한 감소는 vitamin C 처치에 의해서는 별다른 차이를 보이지 않았다. 이는 저산소 및 산소재도입시 담즙분비의 감소가 bile acid independent한 분비에 관여하는 total bilirubin과 관계가 없음을 알 수 있으며, 또한 간장의 주요한 기능중의 하나인 담즙 분비도 저산소 및 산소재도입에 의해 생성되는 활성산소에 의하여 그 기능이 저하되는 것을 알 수 있었다.

본 연구전반에 걸쳐 vitamin C가 저산소 및 산소재도입으로 인한 간의 손상정도를 더욱 악화시키는 것을 볼 수 있는데 이는 다음과 같은 추측을 가능케 한다. 즉 허혈시 ferritin으로 부터 유리된 Fe이온은  $Fe^{3+}$ 에서  $Fe^{2+}$ 로 변화되고 변화된  $Fe^{2+}$ 이  $H_2O_2$ 를 hydroxyl radical이나 hydroxyl like radical로 변화시켜(Fenton-type reaction) 전산화작용을 나타내며 더 나아가 이는 vitamin C의 항산화작용도 막는 것으로 보인다(Samokyszyn 등, 1988).

이상의 결과로 흰쥐 관류간 모델에서 저산소 및 산소재도입은 심한 간장기능 손상을 일으키며 vitamin C는 저산소 및 산소재도입으로 인한 간장기능손상을 더욱 악화시킴

을 알 수 있었다.

## 감사의 말씀

이 논문은 1995년도 한국 과학재단 핵심전문연구과제 연구비(과제번호 951-0710-084-2)에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Anundi, I. and DeGroot, H. (1989). Hypoxic liver cell death: critical  $PO_2$  and dependence of viability on glycolysis. *Amer. J. Physiol.* **257**, G58-G64.
- Atalla, S. L., Toledo-Pereyra, L. H., Mackenzie, G. H. and Cederna, J. P. (1985). Influence of oxygen-derived free radical scavengers on ischemic livers. *Transplantation* **40**, 584-590.
- Borg, D. C. and Schaich, K. M. (1989). Pro-oxidant of antioxidants. In *handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*(Jaime Mique. Ed), pp 63-77. Boca Ranton, Florida.
- Bradford, B. U., Marotto, M., Lemasters, J. J. and Thurman, R. G. (1986). New, simple models to evaluate zone-specific damage due to hypoxia in the perfused rat liver: time course and effect of nutritional state. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **236**, 263-268.
- Brass, C. A., Narciso, J. and Gollan, J. L. (1991). Enhanced activity of the free radical producing enzyme xanthine oxidase in hypoxic rat liver. Regulation and pathophysiologic significance. *J. Clin. Invest.* **87**, 424-431.
- Braunwald, E. and Kloner, R. A. (1985). Myocardial reperfusion: a double edged sword? *J. Clin. Invest.* **76**, 1713-1719.
- David, G. L., Laurent, P. R. and Susan, M. P. (1994). The effects of aging and nutritional state on hypoxia-reoxygenation injury in the perfused rat liver. *Transplantation* **58**, 531-536.
- Degkwitz, E., Walsch, S., Dubberstein, M. and Winter, J. (1975). Ascorbic acid and cytochromes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **258**, 201-207.
- Fabre, C. and Lapinte, C. (1983). Copper catalyzed oxidation of ascorbic acid: versatile role of ligands. Kinetic and spectroscopic studies. *Nouv. J. Chim.* **7**, 123-127.
- Fridovich, I. (1978). The biology of free radicals. *Science Wash. DC.* **201**, 875-880.
- Ginter, E., Kosinova, A., Hudecova, A. and Mlynarcikova, U. (1984). Parabolic response of hepatic microsomal hydroxylating system and lipid to graded doses of ascorbic acid in guinea pigs on low and high  $\alpha$ -tocopherol intake. *J. Nutr.* **114**, 485-492.
- Granger, D. N., Hollwarth, M. E. and Parks, D. A. (1986). Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen derived free radicals. *Acta. Physiol. Scand.* **548**, 47-63.
- Hammond, B. and Hess, M. L. (1985). The oxygen free radical system: potential mediator of myocardial injury. *J. Am. Coll. Cardiol.* **6**, 215.

- Hess, M. L., Manson, N. H. and Okabe, K. E. (1982). The role of free radicals in the pathophysiology of ischemic heart disease. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **60**, 1382.
- Hess, M. L. and Manson, N. H. (1984). Molecular oxygen: friend and foe: The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion. *J. Am. Coll. Cardiol.* **16**, 969.
- Ingold, K. U., Burton, G. W., Foster, D. O., Hughes, L., Lindsay, D. A. and Webb, A. (1987). Biokinetics of and discrimination between dietary RRR- and SPR-alpha-tocopherols in the male rat. *Lipids* **22**, 163-168.
- Kim, S. A., Seo, M. Y., Yeom, D. H., Cho, T. S. and Lee, S. M. (1995). Effect of vitamin C on hepatic biliary and microsomal function in hepatic ischemia/reperfusion. *J. Appl. Pharmacol.* **3**, 304-310.
- Leo, M. A., Roseman, A. S. and Lieber, C. S. (1993). Differential depletion of carotenoids and tocopherol in liver disease. *Hepatology* **17**, 977-986.
- Leung, H. W., Vang, M. J. and Mavis, R. D. (1981). The cooperative interaction between vitamin E and vitamin C in suppression of peroxidation of membrane phospholipids. *Biochim. Biophys. Acta.* **664**, 266-272.
- Marubayash, S., Dohi, K., Ochi, K. and Kawasaki, T. (1986). Role of free radicals in ischemic rat liver cell injury. Prevention of damage by  $\alpha$ -tocopherol administration. *Surgery* **99**, 184-191.
- Mayumi, T., Schiller, H. J. and Buckley, G. B. (1993). Pharmaceutical intervention for the prevention of post-ischemic reperfusion injury. In *Free Radicals : from basic science to medicine* (G. Poli, Ed.) 438-447.
- Miller, D. M. and Aust, S. D. (1989). Studies of ascorbate dependent, iron-catalyzed lipid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* **271**, 113-119.
- Omaye, S. T. and Turnbull, J. D. (1979). Heme oxygenase activity, drug metabolism and ascorbic acid distribution in the livers of ascorbic acid-deficient guinea pigs. *Biochem. Pharmacol.* **28**, 1415.
- Packer, J. E., Slater, T. F. and Willson, R. L. (1979). Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature* **278**, 737-738.
- Peterson, F. J., Holloway, D. E., Duquette, P. H. and Rivers, J. M. (1983). Dietary ascorbic acid and hepatic mixed function oxidase activity in the guinea pig. *Biochem. Pharmacol.* **32**, 91-96.
- Saito, M., OH-Hashi, A., Kubota, M., Nishide, E. and Yamaguchi, M. (1990). Mixed function oxidases in response to different types of dietary lipids in rats. *Br. J. Nutr.* **63**, 249-257.
- Samokyszyn, V. M., Thomas, C. E., Rrif, D. W., Sato, M. and Aust, S. D. (1988). Release of iron from ferritin and its role in oxygen radical toxicities. *Drug Metab. Rev.* **19**, 283-303.
- Sonneveld, P. (1978). Effect of  $\alpha$ -tocopherol on the cardiotoxicity of adriamycin in the rat. *Cancer Treat. Rep.* **62**, 1033-1036.
- Thurman, R. G., Marzi, I., Seitz, G., Thies, J., Lemaster, J. J. and Zimmerman, F. (1988). Hepatic reperfusion injury following orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* **46**, 502-506.
- Younes, M. and Strubelt, O. (1988). The involvement of reactive oxygen species in hypoxic injury to rat liver. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **59**, 369-381.
- Zannoni, V. G. and Sato, P. H. (1975). Effects of ascorbic acid on microsomal drug metabolism. *Ann. NY Acad. Sci.* **258**, 119-131.