

식이 Selenium 함량이 납중독 흰쥐 간조직의 항산화계와 세포 손상에 미치는 영향

임 정 교[†] · 이 순 재^{*}

대구미래대학 제과제료학과, 대구가톨릭대학교 식품영양학과^{*}

Effect of Dietary Selenium Levels on Antioxidative Defense System and Oxidative Damage of Liver Tissue in Lead Administered Rats

Jung-Gyo Im[†] and Soon-Jae Rhee^{*}

Department of Confectionery Decoration, Daegu Mirae College, Gyungsan 712-250, Korea

Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyungsan 713-702, Korea^{}*

Abstract

This study was to investigate the effect of selenium on hepatic antioxidative defense system and oxidative damage in lead-administered rats. Male Sprague-Dawley rats weighing 140 ± 5 g were divided into one normal group (Se, 0 ppm) and three lead groups according to dietary levels of selenium supplementation: Pb0 (Se, 0 ppm), PbS (Se, 0.5 ppm), and PbSS (Se, 1.0 ppm). All experimental groups were fed the experimental diet *ad libitum* for 4 weeks, and lead groups fed one containing 2,000 ppm lead acetate. Liver superoxide dismutase (SOD) activities in Pb0 group increased compared with other experimental groups. Liver glutathione peroxidase (GSH-px) activities in Pb0 group decreased compared with normal group, but those of PbS and PbSS groups significantly increased compared with Pb0 group. Glutathione S-transferase (GST) activities decreased in Pb0 group and not significantly different from PbS and PbSS groups compared with normal group. Reduced glutathione (GSH) contents and GSH/GSSG of liver in Pb0 group were lower than those of other groups. Liver vitamin E contents in Pb0 group were about 50% of the normal group, but those of PbSS and PbS increased more than Pb0 group. Liver damage in electron microphotography process decreased in RER, showed an increase in lysosome and also an increase in swelling of mitochondria, and ordered as follows: PbSS, PbS, and Pb0. It was concluded that high levels of dietary selenium had protective effects on peroxidative damage of hepatic cell accompanied with increased antioxidative defense system in lead-administered rats.

Key words: lead, selenium, liver cell damage, EM.

I. 서 론

중금속 중에서 특히 납은 농산물의 재배과정 또는 가축사육, 유약을 바른 도자기, 땀납 통조림 등의 여러 경로를 통하여 식품에 오염되거나 혹은 산업장의 폐수, 납이 함유된 도료분무나 자동차와 같은 내연기관의 배기가스 등을 통한 식수 및 공기 오염에 의해 자연계에 널리 퍼져 있으므로 쉽게 인체 내에 침입될 수 있다. 인체 내에 들어온 납은 체외로 배출하는 것이 어려우므로 대부분 체내에 축적된다. 납이 체내에 축적되면 소아에서는 대뇌의 성장저해, 지능장애, 정신박약, 골 발육저해를 가져오고, 성인에서는 만성 증상으로 빈혈, 무욕증, 건망증, 우울상태와 더불어 진행성 치매를 일으킨다고 한다¹⁻³⁾.

그런데 납과 같은 중금속의 중독현상이 동물의 영양상태에 따라 그 독성이 증감될 수 있다는 여러 보고에 따라 최근 영양소와 중금속의 해독에 관한 연구가 진전되고 있다⁴⁻¹¹⁾.

혈청 아스코르빈산 농도와 혈액 중 납농도와 상관관계에 관한 연구⁷⁾에 따르면 혈청 아스코르빈산 농도가 낮은 군은 혈중 납농도가 높았다고 보고되었고, 검정콩 추출물이 납과 카드뮴 중독을 완화시킨다고 하였다⁸⁾. Othman 등⁹⁾은 흰쥐에게 납을 투여한 경우, 간과 신장에서 지질과산화물이 유의적으로 상승하고 간 및 신장세포의 항산화능의 감소로 과산화적 손상을 나타내었으나 Se 급여 시 간세포와 신장세포 모두에서 superoxide dismutase(SOD)와 환원형 glutathione 활성의 증가 및 glutathione 함량의 증가로 인해 내인성 항산화능이 증가되었다고 하였다. 또한 Rhee 등^{10,11)}도 납의 투여량을 달리하고 Se를 투여했을 때 납의 함량에 따라 저하된 간조직의 항산화제가 식이 Se에 의해 증가되거나, 식이 내 비타민 E가 납중독으로 인한 조직의 손상을 완화시켜 준다고 보고한 바 있어 식이 항산화제가 납중독을 해독시키는 효과가 있음이 입증되어 왔다.

따라서 본 연구에서는 식이 내의 Se의 함량을 변화시킴에 따라 납중독으로 인한 간세포의 산화적 손상을 가장 효과적으로 완화시킬 수 있는 식이 Se의 농도를 관찰하기 위해, 식이 중에 납을 혼합하고 Se의

함량을 달리한 식이로 흰쥐를 4주간 사육한 후 간조직 중의 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px) 및 glutathione S-transferase(GST) 등 항산화계 효소의 활성을 측정하고 이들 효소의 변화에 따른 간세포 소기관들의 변화를 전자현미경으로 관찰하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

실험동물은 140 ± 5gm인 Sprague-Dawley종 수컷을 구입하여 7일간 예비 사육한 후 무작위로 선정하여 Table 1과 같이 실험군은 각 군을 10마리로 하여 정상군과 납 투여군으로 나누고 납 투여군은 다시 식이내 Se공급 수준에 따라 0 ppm(Pb0군), 0.5 ppm(PbS군), 1.0 ppm(PbSS군)식이군의 4군으로 나누어 4주간 사육하였다. 기본 식이는 Table 2와 같고 납 공급원은 lead acetate를 2,000 ppm 수준으로 하였고 Se은 sodium selenite를 식이에 섞어 급여하였으며 물과 식이는 자유로이 섭취시켰다.

2. 장기의 채취

간조직은 실험 종료 후 마취상태에서 적출하여 생리식염수로 씻어내고 무게를 측정 후 액체질소로 급속 동결시켜 -80°C에 보관하였다.

3. 간조직 중의 Superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px) 및 glutathione s-transferase(GST) 활성 측정

간조직 중의 SOD활성 측정은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund¹²⁾의 방법을 이용하였으며, GSH-Px 활성측정은 산화형 glutathione(GSSG)이 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 340 nm에서 NADPH의 흡광도가 감소하는 것을 이용한 Lawrence와 Burk¹³⁾의 방법에 따라 행하였다. 그리고 GST활성측정은 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)과 환원형 glutathione을 기질로 하여 25°C에서 20분간 반응하는 동안에 생성된 GSH-DNCB conjugate의 분자흡광도 계수($E^{nm}/340 = 9.6 \text{ nM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 효소

Table 1. Classification of experimental groups

Group	Pb content ¹⁾ (2,000 ppm)	Se content ²⁾ (ppm)
Normal	0	0
Pb0	+	0
PbS	+	0.5
PbSS	+	1.0

¹⁾ Lead acetate: (CH₃COO)₂PbO · 3H₂O

²⁾ Sodium selenite: Na₂SeO₃

Normal: basal diet, Pb0: basal + 2,000 ppm Pb, PbS: basal diet+2000 ppm Pb+0.5 ppm Se, PbSS: basal diet+2,000 ppm Pb+1.0 ppm Se.

Table 2. Composition of basal diet (g/kg diet)

Ingredients	Composition
Corn starch ¹⁾	670
Casein ²⁾	180
Corn oil ³⁾	50
Salt mix ⁴⁾	40
Vitamin mix ⁵⁾	10
Cellulose ⁶⁾	50

¹⁾ Pung Jin Chem. Co.

²⁾ Lactic casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board, Wellington, N.Z.

³⁾ Dong Bang Oil Co.

⁴⁾ Salt mix: g per 100g of salt mix: CaCO₃, 30.0g; CaHPO₄, 7.5g; K₂PO₄, 32.2g; NaCl, 16.5g; MgSO₄ · 7H₂O, 10.2g; ferric citrate, 2.75g; MnSO₄, 0.51g; KI, 70mg; CuCl₂ · 5H₂O, 35 mg; ZnCl₂, 25 mg; CoCl₂ · 5H₂O, 5 mg; (NH₄)₂MoO₇ · 4H₂O, 5 mg.

⁵⁾ Vitamin mix: g per 1 kg diet: thiamine-HCl, 20 mg; riboflavin, 20 mg; pyridoxine, 20 mg; folic acid, 10 mg; nicotinic acid, 90 mg; d-calcium pantothenate, 60 mg; biotin, 1 mg; menadione, 45 mg; vitamin B₁₂ (0.1% triturate in mannitol), 20 mg; retinyl acetate, 2000 IU; cholecalciferol, 1000 IU; dl- α -tocopheryl acetate, 0.1g; choline, 1.5g; inositol, 0.1g; vitamin C, 0.9g; p -aminobenzoic acid, 0.1g.

⁶⁾ CMC(Sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber).

활성을 산출하는 Habig 등¹⁴⁾의 방법에 의하여 측정하였고, 이 효소활성의 단위는 1분간 1 mg의 단백질이 반응하여 생성한 conjugated DNCB nmol로 나타

내었다.

4. 간조직 중의 glutathione 함량 측정

Glutathione의 농도 측정은 Bernt와 Bergmeyer¹⁵⁾의 방법에 따라서 실시하였다. 즉 간조직의 산추출물을 얻고 이 산추출물액으로부터 산화형 glutathione (GSSG)은 glutathione reductase 반응을 이용하였으며, 이 반응에서 소모된 NADPH량을 340 nm에서 측정하였고, 환원형 glutathione(GSH)은 glyoxalase 반응을 이용하여 생성된 s-lactoyl-GSH를 240 nm에서 측정하였다.

5. 간조직 중의 비타민 E 함량 측정

간조직 중의 비타민 E 측정은 간조직 마쇄액 1.0 ml를 Kayden 등¹⁶⁾의 방법에 따라 조직 중의 비타민 E를 hexane으로 추출하여 30°C에서 질소가스로 건조시킨 후 이것을 시료로 하여 ferric-chloride diphyridyl법에 의해 측정하였다.

6. 간세포의 구조변화 관찰

간세포를 전자현미경으로 관찰하기 위하여 조직을 채취한 즉시 1 mm³ 크기로 잘라 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1M phosphate buffer, pH 7.4, 4°C)에 2시간 동안 전고정한 후 1% OsO₄(0.1M phosphate buffer, pH 7.4, 실온)에 2시간 동안 후고정을 하였다. 고정한 조직은 50%, 70%, 85%, 90%, 95%, 100% 알코올로 단계적으로 탈수하여 propylene oxide로 치환한 후 Luft 방법¹⁷⁾에 의한 epon혼합물로 포매하였다. 중합이 끝난 조직편은 1 μ m 두께로 박절하여 toluidine blue에 염색하여 관찰 부위를 선정하고, MT-2B Poter-Blum 초박절기에 diatome knife (Switzerland)를 사용하여 40~60 nm로 초박절하여 Reynolds의 방법¹⁸⁾에 따라 2중 전자염색을 하여 Hitachi H-7000 투과형 전자현미경으로 가속전압 75 kV에서 관찰하였다.

7. 단백질 정량

각 시료의 단백질량은 표준품으로 bovine serum albumin을 사용하여 Lowry법¹⁹⁾을 이용하여 정량하였다.

8. 통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군의 평균간에 차이가 있는가를 검정하기 위하여 분산분석(ANOVA검정)을 수행하였으며, 분산분석 결과 유의성이 발견된 경우 Tukey's HSD test에 의해 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 간조직 중의 SOD, GSH-Px 및 GST활성

생체내의 항산화적 방어기구 중에서 효소적 방어계의 하나인 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2 로 전환시킴으로써 산소독으로부터 생체를 보호하는 간조직 중의 SOD 활성을 측정된 결과(Table 3) 정상군에 비해 납 투여군이면서 Se 비공급군인 Pb0군에서는 다소 높았으나 Se 첨가군인 PbS, PbSS군은 정상군과는 유의적인 차이가 없었다. 이러한 결과는 납이 환경 생체조직에서 유리산소들을 생성시킴을 알 수 있고, 납 중금속과 같은 외인적 요인에 의해 생성된 superoxide radical(O_2^-) 같은 유리기를 제거하여 산소독으로부터 생체를 보호하기 위해 SOD 효소활성이 일시적으로 다소 증가된 것으로 생각된다²⁰⁾.

항산화 효소로서 체내에서 H_2O_2 와 환원형 glutathione(GSH)로부터 산화형 glutathione(GSSG), alcohol 및 물을 생성하는 반응을 촉매함으로써 조직의 과산화적 손상을 방지하고 산소독을 해독하는 GSH-Px 활성은 PbSS군 276.28 unit/mg protein, PbS군

251.62 unit/mg protein, 정상군 100.23 unit/mg protein, 그리고 Pb0군은 73.13 unit/mg protein 순으로 Pb0군에서 가장 효소활성이 낮았다. 또한 납중독 군에는 Pb0군은 PbS군에 비해 3배 이상, PbSS군에 비해서는 약 4배 이상 낮은 값을 보여 식이 Se 수준에 따라 달라짐을 알 수 있었다. 이와 같이 식이 중 Se함량이 줄어들수록 GSH-Px 활성이 감소된 것은 SOD 활성의 결과에서 보여주듯 free radical생성이 증가됨에 따라 세포막 지질의 과산화적 손상이 증가됨을 뜻한다²¹⁾. Rotruck 등²²⁾은 Se결핍에 의해 소실된 GSH-Px활성이 Se의 재투여에 의해 회복되어 Se이 GSH-Px의 구성요소로서 중요한 역할을 한다는 것을 시사하였다.

변이원성 물질, 발암성 물질, 독성물질 등의 대사산물, 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질에 환원형 glutathione을 포함시켜 glutathione thioester 형성반응을 촉매하는 GST 활성도 Pb0군은 정상군이나 PbS, PbSS군에 비해 다소 낮은 값을 보여, GSH-Px와 같은 경향이다. 분자 구성 상 Se를 가지고 있지 않는 GST는 생체 내에서 주로 약물의 글루타치온을 포함을 촉매하는 해독효소로서 GSH-Px와 달리 H_2O_2 를 기질로 하지 않지만, GST가 과산화지질이나 크멘하이드로퍼옥사이드(cumene hydroperoxide) 등의 유기과산화물을 기질로 GSH-Px와 같은 활성을 나타낸다^{23,24)}. 또한 Miwa 등²⁵⁾은 Se 결핍 환경에서 GSH-Px활성이 현저하게 저하한 경우에만 GST가 과산화지질의 제거에 작용한다고 보고하고 있다.

Table 3. Effects of different levels of selenium on hepatic superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione s-transferase activities in lead administered rats

Group	SOD	GSH-Px	GST
	(unit/mg protein)	(nmol NADP/mg protein/min)	(nmol DNCB/mg protein/min)
Normal	10.12 ± 0.06 ^a	100.23 ± 4.18 ^a	135.17 ± 1.02 ^a
Pb0	11.91 ± 0.66 ^b	73.13 ± 9.42 ^b	119.30 ± 9.30 ^b
PbS	10.97 ± 0.13 ^a	251.62 ± 17.07 ^c	140.00 ± 10.00 ^{ab}
PbSS	10.55 ± 0.19 ^a	276.28 ± 19.46 ^c	148.75 ± 7.45 ^a

All values are mean±SE(n=10).

Values within a column with different superscripts(a, b, c) are significantly different from the other group at p<0.05 by Tukey's test.

N.S.: Not significant at p>0.05 by Tukey's test.

이와 같이 납중독에 의해 SOD활성은 다소 증가되었으나, GSH-Px 및 GST 등의 항산화제 효소활성의 저하현상이 식이 Se에 의해 증가됨으로써 산화적 손상이 크게 감소되었는데 이러한 Se 작용은 생체내의 GSH-Px, GSH 등 SH 화합물질의 SH기에 Se이 치환되어 그 생리적 활성을 증가시킨 것으로 보여진다²⁶⁾.

2. 간조직 중의 glutathione의 함량

생체내 비효소적 항산화물질인 간조직 중의 glutathione 함량을 관찰한 결과(Table 4) 환원형 GSH는 정상군에 비해 Pb0군은 다소 낮았으나 PbS, PbSS군은 비슷한 수준이었다. GSSG는 납 투여군들이 정상군에 비해 높았다. 따라서 GSH/GSSG 비를 보면 Pb0군은 정상군, PbS, PbSS군에 비해 다소 낮았으며 특히 정상군에 비해 절반정도로 낮았다. 이와 같이 간조직 중 glutathione 함량은 식이 내 Se 함량이 낮아질수록 정상군보다 GSH의 감소와 GSSG의 증가 그리고 GSH/GSSG비는 감소되는 경향으로, 납중독으로 생성된 유리 산소기에 의해 연쇄적으로 일어나는 세포의 산화적 손상을 감소시키는데 소모된 것으로 생각된다^{9,10)}. Wendel 등²⁷⁾과 Mitchell 등²⁸⁾은 간조직의 지질과산화물 증대되었을 때 GSH가 낮게 나타난 것은 GSH-Px의 활성발현에 필요한 GSH의 공급 저하로 GST에 의한 대사산물의 포함반응에 GSH가 소비되었기 때문이라고 하였다. 따라서 본 연구에서도 Pb0군의 GSH-Px가 다른 군에 비해 활

성이 현저하게 낮은 것은 GSH 함량이 낮은 것에 기인한다고 생각할 수 있다.

3. 간조직 중의 비타민 E 함량

체내 비효소적 항산화 물질인 간조직 중의 비타민 E 함량(Table 5)은 정상군에서 가장 높았고, PbSS와 PbS군 그리고 Pb0군 순으로 Se의 공급 수준에 따라 비타민 E함량이 비례하였다. Se를 첨가하지 않은 Pb0군은 정상군에 비해 50% 수준으로 GSH/GSSG 비와 같은 경향이었다. 이와 같이 항산화 물질인 비타민 E 함량이 납 투여에 의해 간조직에서 급격하게 감소되었는데 이러한 결과는 납 투여로 인한 지질과산화물 생성 억제에 비타민 E가 소모되었음을 시사한다. 동시에 간조직 중의 비타민 E함량은 식이 중 Se의 농도에 비례함을 알 수 있었는데 이러한 결과는 식이 Se이 비타민 E와 같이 항산화 물질로서²⁹⁾ 작용하였음을 뜻한다.

4. 간세포의 전자현미경적 관찰

전자현미경적 관찰에 있어서는 여러 세포를 저배율로 또는 고배율로 관찰하였는 바, 정상군의 세포에 있어서는 세포의 모양은 원형 내지 다각형을 나타내고 인접세포와의 간격은 대체로 일정한 간격을 형성하고 있었다. 이들 세포 사이의 담세관(bile canaliculus) 부분에서는 접착대(tight junction)가 잘 관찰되었다. 세포질에는 각종 세포소기관이 고루 분포되어 있었다. 즉 조면소포체(rough surfaced endopla-

Table 4. Effects of different levels of selenium on hepatic glutathione contents in lead administered rat ($\mu\text{mol/g wet wt.}$)

Group	GSH	GSSG	GSH/GSSG
Normal	1.43 \pm 0.10 ^a	0.08 \pm 0.02 ^a	17.88 \pm 2.85 ^a
Pb0	1.08 \pm 0.12 ^b	0.13 \pm 0.02 ^b	9.31 \pm 1.53 ^b
PbS	1.35 \pm 0.10 ^{ab}	0.11 \pm 0.02 ^{ab}	12.27 \pm 1.78 ^{ab}
PbSS	1.44 \pm 0.20 ^{ab}	0.11 \pm 0.03 ^{ab}	13.09 \pm 3.2 ^{ab}

All values are mean \pm SE(n=10). Values within a column with different superscripts(a,b) are significantly different from the other group at p<0.05 by Tukey's test. N.S.: Not significant at p>0.05 by Tukey's test.

Table 5. Effects of different levels of selenium on hepatic vitamin E contents in lead administered rat ($\mu\text{g/mg protein}$)

Group	Vitamin E
Normal	9.93 \pm 0.65 ^a
Pb0	4.30 \pm 0.12 ^b
PbS	5.72 \pm 0.41 ^c
PbSS	6.23 \pm 0.45 ^c

All values are mean \pm SE(n=10). Values within a column with different superscripts(a,b,c) are significantly different from the other group at p<0.05 by Tukey's test. N.S.: Not significant at p>0.05 by Tukey's test.

smic reticulum, RER)는 층상구조를 나타내고 평행으로 배열되어 여러 층이 조를 이루고 있었다. 이 RER의 막에는 리보솜(ribosome)이 대체로 일정한 간격을 두고 고루 부착해 있었다. 활면소포체(smooth surfaced endoplasmic reticulum, SER)는 세포질의 여기저기에 소량이 산재해 있었다. 글리코겐 과립(glycogen particle)은 거의 관찰되지 않았으며 지방적(lipid droplet)은 가끔 관찰되었다. 미토콘드리아(mitochondria)는 세포질 전반에 골고루 분포되어 있었고 그 모양은 둥근 것, 장원형인 것 또는 모양이 불규칙한 것 등 다양하였으나 둥근 것이 가장 많았다. 미토콘

드리아내의 크리스테(cristae)는 분명하였으나 그 수는 적었다. 핵은 대체로 세포의 중앙에 위치해 있으며 핵의 모양은 둥글고 그 변연은 매끈하고 핵소체는 뚜렷하였다. 핵의 염색질은 핵 주변부에는 이염색질(heterochromatin)이 많고 중앙부에는 진정염색질(euchromatin)이 많았다(Fig. 1a).

한편 실험군 중 Pb0군에 있어서는 RER은 층상구조가 불규칙해지고 그 수도 감소하였고 대체로 소포상 구조를 나타내었다. SER은 미토콘드리아 사이에서 증가하는 경향을 볼 수 있었다. 그리고 2차 라이소솜이 다수 관찰되었다. 그 모양은 라이소솜 기질

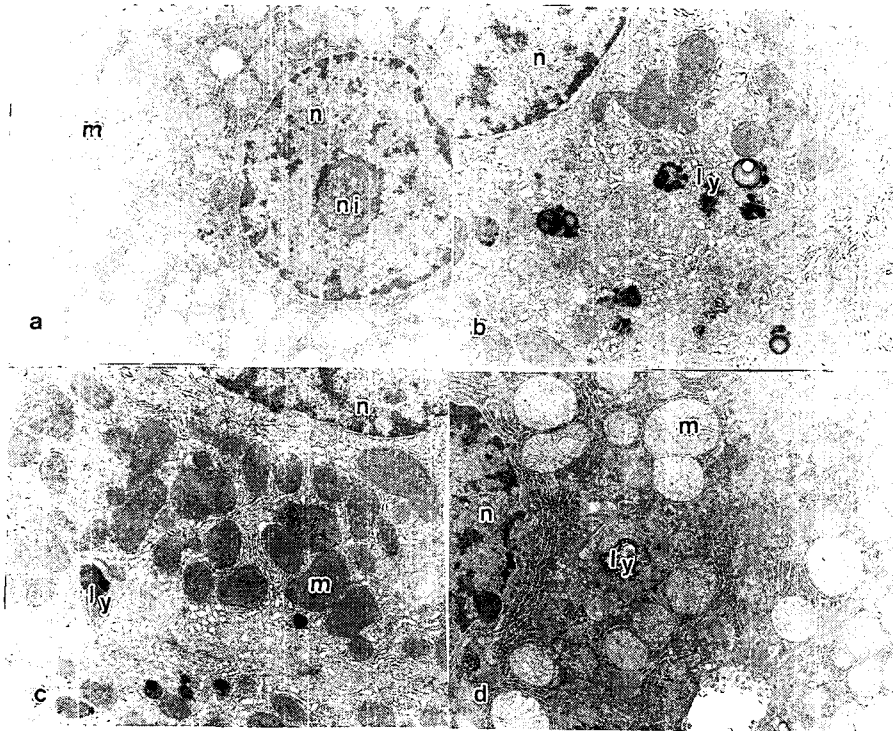


Fig. 1. Electron microphotographs of hepatocytes of rat fed (a) normal, (b) lead 2,000 ppm(Pb0), (c) lead 2,000 ppm and 0.5 ppm selenium(PbS), (d) lead 2,000 ppm and 1.0 ppm selenium(PbSS) diet for 4 week. (a). The hepatocytes shows numerous round and oval shaped mitochondria(m), lamella-structured rough-surfaced endoplasmic reticulum(rer), and small numbers of smooth-surfaced endoplasmic reticulum(ser). The nucleus(n) is round with prominent nucleolus(ni). $\times 9,600$, (b). The hepatocytes shows increase of SER and secondary lysosome(ly) and decrease of RER and cristae of mitochondria. The nuclear margin is smooth. $\times 12,000$, (c). The hepatocytes shows mild increase of SER and irregular shaped mitochondria. The secondary lysosomes are also noted. $\times 12,000$, (d). The hepatocytes shows increase of lamella-structured RER and round-shaped mitochondria with prominent cristae. The lamella-structured secondary lysosome is also noted. $\times 12,000$.

안에 공포상으로 또는 전자밀도가 높은 과립으로 나타났다. 미토콘드리아는 경한 종창을 나타내고 그 모양은 장방형인 것이 많았다. 미토콘드리아의 크리스테는 불분명하고 그 수도 적었다. 핵변연은 매끈하고 핵막강(perinuclear space)이 잘 보였다. 상기 결과 중 SER의 증가는 SER이 해독작용을 하는 기능이 있다는 것을 생각할 때 납 투여로 인하여 그것을 해독하기 위해 증가된 것으로 보여진다. 또 라이소솜의 증가는 납 투여로 인해 상해 받은 세포내의 파괴된 물질의 소화작용의 증가로 생각된다(Fig. 1b). 이러한 구조적 변화를 GSH-px 및 GST와 같은 항산화적 해독효소의 활성이 Pb0군에서 현저히 저하된 결과와 관련해 볼 때 기능적인 변화와도 대체로 일치한다고 볼 수 있다.

PbS군과 PbSS군에서도 2차 라이소솜의 증가를 보였는데 이것은 Pb0군, PbS군 그리고 PbSS군 모두에서 다같이 증가한 것으로 보아 납의 투여와 관계가 있는 것으로 추정된다. PbSS군은 미토콘드리아는 Pb0군에 비해 종창이나 모양의 불규칙 정도는 경하였고, 핵은 정상군과 비교할 때 특기할 만한 것은 없으나, 이염색질의 증가를 보였다(Fig. 1c, d). 이와 같이 간장의 손상 정도는 Pb0군이 가장 심하였고, Se 식이군에서는 그 변화 정도가 경하게 나타나 Pb0 투여로 인하여 손상된 세포를 Se이 그 상해를 경감시켜주는 것이라고 생각된다. 이는 간세포의 구조적 변화 관찰에서 납을 투여한 군에 식이 비타민 E의 공급수준을 증가시킴에 따라 납중독에 의한 간장손상을 완화시킨다는 보고¹¹⁾와 일치한다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 납중독시 식이 중 0.5 ppm~1 ppm의 Se은 항산화제를 강화시켜 간조직의 손상을 경감시킴을 알 수 있었고 그 정도는 식이 중의 Se 함량에 의존되었다.

IV. 요약

납중독에 따른 식이내 Se 함량이 간조직의 산화적 손상을 방어할 수 있는가를 관찰하기 위해 140g 내외의 흰쥐 Sprague-Dawley종 수컷을 정상군과 식이 내에 납 함량을 2,000 ppm 투여한 납투여 실험군으로 나누고 다시 식이내 Se 수준에 따라 0 ppm

(Pb0군), 0.5 ppm(PbS군), 1.0 ppm(PbSS군) 식이군으로 나누어 4주간 사육한 후 간장 중 SOD, GSH-Px, GST 등 항산화효소의 활성을 측정하고, GSH 및 비타민 E 함량을 측정하였다. 또한 전자현미경을 통하여 간세포의 소기관을 관찰하였다.

1. 간장 중 SOD는 Pb0군이 다른 군에 비해 다소 높았다. GSH-Px 활성은 Pb0군은 정상군에 비해 현저하게 감소되었으나 PbS군과 PbSS군은 Pb0군에 비해 증가되었다. GST활성은 Pb0군만 정상군에 비해 감소되었고 PbS, PbSS,군은 정상군 수준이었다.
2. GSH 함량은 정상군에 비해 Pb0군에서 낮았으나 정상군과 PbS, PbSS군은 유의적인 차이가 없었다. GSSG는 GSH와 반대로 Pb0군에서 증가되었으며 GSH/GSSG는 GSH함량과 같은 경향이였다. 또한 간조직 중의 비타민 E함량은 Pb0군은 정상군에 비해 약 50% 정도의 수준이었고 PbSS군과 PbS군은 Pb0군에 비해 증가되었다.
3. 전자현미경적 관찰에서는 RER의 감소, 라이소솜의 증가, 미토콘드리아의 종창 등을 나타내었는데 그 정도는 PbSS, PbS, Pb0군 순으로 심하게 나타났다.

이상의 결과로 식이 중 Se의 다량 첨가는 납중독으로 인한 간조직의 항산화제를 강화시키고 세포 소기관들의 산화적 손상을 현저하게 완화시킬 수 있음을 알 수 있다.

V. 인용문헌

1. Grandjean, P.: Widening perspectives of lead toxicity: A view of health effects of lead exposure in adults, Environ. Res., 17, 303-309, 1978.
2. Edward, J. C.: Nutrition and environmental health, minerals and macro nutrients. John Wiley and Sons New York, 2, 65-70, 1981.
3. Korean society for pathology : pathology(I), 389-391, Komunsa(Seoul), 1997
4. Suzuki, T. and Yoshida, A. : Effects of dietary supplementation of iron and ascorbic acid on

- lead toxicity in rats, *J. Nutr.*, 109, 982-989, 1979.
5. Mahaffey, K. R.: Nutritional factors in lead poisoning, *Nutr. Rev.*, 39, 353-362, 1981.
 6. Hallfrisch, J., Muller, D. C. and Singh, S.: Vitamin A and E intakes and plasma concentrations of retinol, β -carotene and α -tocopherol in men and women of the Baltimore longitudinal study of aging, *Am. J. Clin. Nutr.*, 60(2), 176-182, 1994.
 7. Simon, J. A.: Relationship of ascorbic acid to blood lead levels, *JAMA*, 281, 2289-2293, 1999.
 8. Han, S. H., Shin, M. K., Kim, Y. W. and Lim, S. J.: Effect of methanol extracts of black soybean on enzymes activities of serum in rats fed Pb and Cd solution, *J. Korean Soc. Sci. Nutr.*, 29(2), 193-197, 2000.
 9. Othman, A. I. and El Missiry, M. A.: Role of selenium against lead toxicity in male rats, *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 12(6):345-349, 1998.
 10. Rhee, S. J. : Effect of dietary selenium on antioxidative detoxification mechanism in liver of lead poisoned rats, *Kor. J. Gerontol.*, 1(2), 125-130, 1991.
 11. Rhee, S. J., Choi, B. S. and Im, J. G.: Protective effect of dietary vitamin E on lead induced liver cell damage in rats, *Kor. J. Gerontol.*, 8 (1), 8-13, 1998.
 12. Maklund, S. and Maeklund, G.: Involvement of superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *Eur. J. Biochem.*, 47, 469-474, 1974.
 13. Lawence, R. A. and Burk, R. F.: Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 71, 952-958, 1976.
 14. Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B.: Glutathione s-transferase: the first enzymatic steps in mercapturic acid formatin, *J. Biol. Chem.*, 249, 7130-7139, 1974.
 15. Bernt, E. and Begmeyer, H. U.: Methods of enzymatic analysis: Glutathione. 2nd English ed. Academic Press, 4, 1641-1647, 1974.
 16. Kayden, H. J., Chow, C. K. and Bjornson, L. K. : Spectrophotometric method for determination of α -tocopherol in red cell, *J. Lipid Res.*, 14, 553-559, 1973.
 17. Luft, J. H.: Improvement of epoxy resin embedding method, *Am. J. pathol.*, 93, 526-617, 1978.
 18. Reynolds, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaqu stain in electron microscopy, *J. Cell Biol.*, 17, 208-212, 1963.
 19. Lowry, O. H., Rsenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 265-257, 1978.
 20. McCord J. M. and Fridovic, I.: Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyuprein(hemcuplein), *J. Biol. Chem.*, 244, 6055-6069, 1969.
 21. Mavelli, I., Ciriolo, M. R., Rotilio, G. De Sole, P., Castorino, M. and Stabile, A.: Supperoxide dismutase, glutathione perxidase and catalase in oxidative hemolysis: A study of Fanconi's anemia erythrocytes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 106, 286-290, 1982.
 22. Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G. and Hoestra, W. G.: Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase, *Science*, 179, 588-590, 1973.
 23. Prohaska, J. R. and Ganther, H. E.: Glutathione peroxidase activity of glutathione S-transferase purified from livers, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 76, 437-445, 1977.
 24. Prohaska, J. R.: The glutathione peroxidase activity of glutathione S-transferase, *Biochem. Biophys. Acta.*, 611, 87-98, 1980.

25. Miwa, T., Adachi, T., Hirano, K. and Sugiura, M.: Composition of hydroperoxides derived from microsomes or lipoprotein by glutathione peroxidase and glutathione S-transferase, *J. Pharm. Dyn.*, 6, 459-465, 1983.
26. Raymond, F. B.: Recent developments in trace element metabolism and function : New roles of selenium in nutrition, *J. Nutr.*, 118, 1051-1054, 1989.
27. Wendel, A. and Feuerstein, S.: Drug-induced lipid peroxidation in mice-I: Modulation by monooxygenase activity, glutathione and selenium status, *Biochem. Pharmacol.*, 30, 2513-2520, 1981.
28. Mitchell, J. R., Jollow, D. J., Potter, W. Z., Gillet, J. R. and Brodie, B. B.: Acetaminophen-induced hepatic necrosis IV: Protective role of glutathione, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 187, 211-217, 1973.
29. Rhee, S. J., Park, G. Y. and Kim, K. Y.: Effects of dietary vitamin E and selenium on hematopoiesis and antioxidative detoxification mechanism in lead poisoned rats, *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 22(6) 651-657, 1993.