

흰쥐간조직균마액의 호흡활성과 알콜대사 및 글리세린산과의 관계

한동술, 윤경일, 고성국

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 지적하시였다.

《...의학과학의 새로운 분야를 개척하며 최신과학기술의 성과를 치료예방사업에 받아들이기 위한 연구사업을 힘있게 벌려야 합니다.》(《김정일선집》 제11권 증보판 81~82페이지)

호흡은 모든 생명유기체들에서 보편적으로 진행되고있으며 필수적인 에너지를 보장하는 생물학적과정이다. 알콜(에타놀)이 대사될 때 NADH를 생성하는데 이것은 산소호흡의 마지막단계인 수소 및 전자전달과정의 주요기질이며 따라서 알콜의 산화는 다른 기질들에 비하여 짧은 시간동안에 산소소비를 증가시킬 가능성이 있다. 이때 기체교환에 의한 산소공급량이 제한되는 조건에서 간소엽에서는 산소부족현상이 일어날수 있는데 이것을 지방간이나 간경변의 발생원인으로 보는 견해가 강하다.

지금까지 호흡에 영향을 주는 여러가지 물질들 그리고 알콜대사때 호흡활성의 변화에 관한 연구는 적지 않게 진행되였다.[3, 7-15] 한편 최근에 글리세린산이 알콜, 초산알데히드의 산화와 공역되어 환원되면서 그것들의 산화와 NADH의 재생을 촉진시킬수 있다는 자료가 발표되였고 일부 실험결과들[5, 6]이 나왔다. 이로부터 글리세린산은 호흡에도 일정한 영향을 줄 가능성이 있으나 알콜대사때 호흡속도와 글리세린산작용의 관계를 밝힌 연구자료들은 아직 발표된것이 없다.

이로부터 우리는 흰쥐의 간조직균마물을 대상으로 하여 글리세린산이 호흡활성에 어떤 영향을 주며 또 그것이 알콜대사때 호흡활성의 변화에 주는 효과를 밝히기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

1) 재료와 시약, 기구

연구재료로는 흰쥐(몸질량 140~180g)를 리용하였다.

글리세린산(GLA)시약으로는 자체로 합성한 글리세린산칼시움염($(C_3H_5O_4)_2 \cdot Ca \cdot 2H_2O$, 순도 99%)을 리용하였다. 아스파라긴산(ASP), 피루빈산, 포도당은 분석순급의 시약을 리용하였다. 알콜(에타놀)은 96%의 식용알콜, 초산알데히드(AcA)는 화학순의 시약을 리용하였다.

실험에서는 또한 사탕(식용), EDTA(분석순), NAD^+ (산화형, 《Reanal》)들을 리용하였다. 간조직균마물의 호흡활성측정에서는 린산완충제를 리용하였다.

간조직의 균마물을 얻기 위하여 테플론균마기(《B. BRAUN》)를 리용하였다. 조직의 호흡활성을 측정하는데 수질분석기 《WPM-3001》를 리용하였다. 이외에 호흡활성측정에서 항온조 《U-15》를 리용하였다.

2) 연구방법

간조직균마액은 사립체가 파괴되지 않는 조건에서 흰쥐간을 균마한 다음 600×g에서 원심분리하고 상청액을 수집하여 얻었다. 이것을 즉시 리용하거나 일부 경우에는 랭조건(0~4℃)에 보관하였는데 추출물을 얻은 후 리용시간은 24h를 초과하지 않았다.

산소농도측정은 산소전극법으로 하였다. 우리가 자체로 준비한 호흡측정장치는 그림 1과 같이 큐베트, 시료주입구, 산소측정기구, 항온조와 항온함, 항온수류출입구, 교반기, 교반자로 구성된다.

시료는 필요한 시간에 주사기를 리용하여 주입한다. 항온함과 큐베트의 윗부분은 덮개에 의하여 밀폐되어있다. 반응계의 총

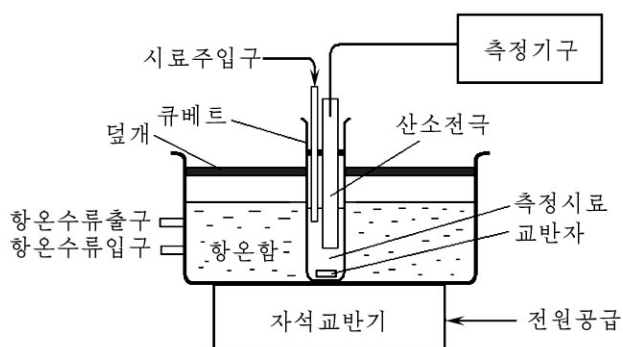


그림 1. 간조직균마액의 호흡과정을 관찰하기 위한 장치

체적은 12mL(완충액 7mL, 간조직균마액 2mL, 시료 또는 증류수 3mL)이다. 호흡량을 측정할 때는 먼저 측정장치를 동작시키고 산소농도측정값이 정상값으로 될 때까지 기다린다. 다음 시료를 주입한 순간부터 산소측정값을 연속적으로 기록한다. 호흡세기는 반응계에 포함되어있던 전체 산소량에서 소비된 양의 백분율을 계산하여 평가하였다. 온도는 정상적으로 $(37 \pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 로 보장하였다.

결과 및 고찰

1) 간조직균마액의 호흡에 대한 몇가지 기질들의 효과

먼저 우리는 호흡속도에 직접적인 영향을 줄수 있는 몇가지 물질들의 효과들을 검토해보았다. 그에 의하면 포도당은 호흡속도를 뚜렷이 증가시켰다. 포도당농도 8.3mmol/L에서 호흡속도는 그것이 없을 때에 비하여 약 1.5배나 되었다. 그러나 NAD^+ 는 호흡속도를 약간 증가시켰는데 이것은 아마도 균마물에 있는 기질이 이화되는데 필요한 NAD^+ 가 그리 부족하지 않기때문일것이다. 그러나 포도당과 NAD^+ 를 동시에 첨가할 때는 그것들의 복합효과가 나타나 호흡속도가 두 물질을 개별적으로 첨가할 때보다 더 높아졌다. 이것은 시료안에 최대호흡세기를 보장하기에는 기질이나 NAD^+ 의 양이 충분하지 않다는것을 말하여준다. 한편 피루빈산을 기질로 첨가하였을 때 호흡세기는 대조보다 뚜렷이 높아지며 그 효과는 피루빈산의 농도에 의존한다.(자료는 보여주지 않음.) 레를 들어 반응시작 5min되어 산소소비량은 대조구에서 30.91%, 피루빈산 13.5mmol/L 첨가된 시험구에서 43.64%, 피루빈산 27mmol/L 첨가된 시험구에서 74.55%였다.

한편 아스파라긴산(67mmol/L)을 첨가하였을 때 호흡세기는 대조에 비하여 약간 낮아지는 경향성이 있었다. 아스파라긴산은 호흡의 직접적인 기질이나 중간물로는 되지 않으나 세포질과 사립체기질사이에서 산화환원왕복계를 구성하는 물질로 알려져있는데 알콜대사가 진행될 때 그것의 효과를 검토한 결과는 그림 4와 같다.

이러한 실험결과들은 우리가 준비한 흰쥐간장균마액이 호흡과정을 관찰하는데 적당한 재료로 즉 호흡을 하는 간조직의 모형제로 될수 있다는것을 말하여준다.

글리세린산은 전체 산소호흡과정에 직접적인 기질이나 중간물로는 되지 않으나 린산화되면 당분해경로에 포함될수 있고 또 선행연구[6]에서 지적한것처럼 NADH를 산화시켜 NAD^+ 를 재생시키는 역할을 한다면 호흡세기에 영향을 줄수 있다. 그러므로 우리는 글리세린산이 호흡세기에 주는 영향을 관찰하였다.

호흡계에 기질로서 글리세린산(GLA)을 첨가할 때 시간에 따르는 산소소비량을 측정한 결과는 그림 2와 같다.

그림 2에서 보는바와 같이 글리세린산을 첨가할 때 초기의 호흡(산소소비)량이 많아지며 농도에 따라 그 증가폭이 더 커진다. 이것은 글리세린산 역시 호흡의 기질로 쓰일수 있다는것을 말하여준다. 즉 이와 같은 정상적인 경우에 글리세린산은 산화되면서 NADH를 생성하는 방향으로 대사된다.

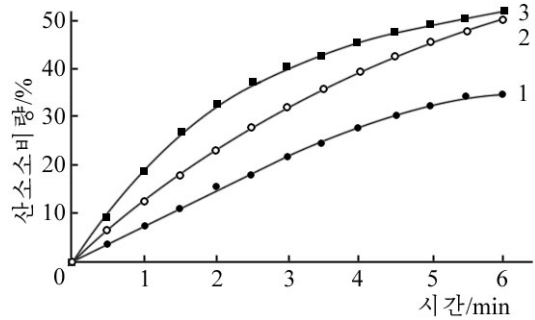


그림 2. 글리세린산이 간조직균마액의 호흡에 주는 영향
1-3은 글리세린산의 농도가 각각 0, 66, 132mmol/L일 때

2) 간조직균마액의 호흡과 알콜, 초산알데히드대사와의 관계

알콜은 세포안에서 비교적 빨리 산화되는 물질이다. 그러므로 알콜이 산화될 때 짧은 시간동안에 NADH가 많아질수 있고 이것은 사립체의 대사계통을 심히 파괴하지 않는 조건에서는 산소소비속도를 높여줄수 있는 가능성이 있다. 우리는 비교적 온화한 농도에서 알콜이 호흡세기에 주는 영향을 시간에 따라 검토하였는데 그 결과는 그림 3과 같다.

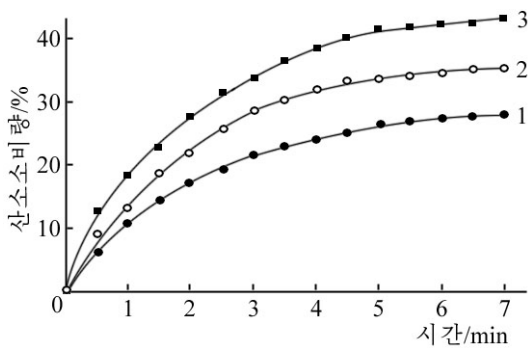


그림 3. 간조직균마액의 호흡에 주는 알콜의 영향

1-3은 알콜농도가 각각 0, 0.21, 0.42mol/L일 때

표 1에서 보는바와 같이 알콜을 첨가하면 위에서와 같이 호흡세기가 높아지고 거기에 NAD^+ 까지 첨가하면 호흡세기는 NAD^+ 의 농도에 따라 더 높아진다. 즉 NAD^+ 는 알콜에 의한 호흡세기증가를 강화시키는 효과를 나타낸다.

그림 3에서 보는바와 같이 알콜을 첨가할 때 명백히 산소소비는 강화되며 그 정도는 알콜의 농도가 높을수록 더 크다. 이것은 알콜이 산화되면서 NADH가 많이 생성되기때문이라고 볼수 있다.

다음으로 알콜과 NAD^+ 가 둘 다 있을 때 호흡세기가 대조에 비하여 어떻게 변화되는가를 보았다. $t=5\text{min}$ 에서 산소소비량을 측정한 자료는 표 1과 같다.

표 1. 호흡세기에 대한 알콜과 NAD^+ 의 영향

첨가된 기질농도	산소소비량 /%
대조	21.26
알콜 0.42mol/L	27.82
알콜 0.42mol/L + NAD^+ 23 $\mu\text{mol/L}$	31.20
알콜 0.42mol/L + NAD^+ 46 $\mu\text{mol/L}$	32.00

이것은 알콜이 산화될 때 소모되는 NAD^+ 가 더 보충되기때문일것이다.

알콜의 산화반응에서 생성되는 초산알데히드의 산화 역시 NAD^+ 의 NADH 에로의 환원과 동반된다. 따라서 초산알데히드도 호흡세기에 영향을 줄 가능성이 있다. 우리는 계에 초산알데히드를 첨가할 때 호흡세기가 어떻게 변화되는가를 관찰하였다.

그 결과를 보면 초산알데히드 역시 호흡속도를 뚜렷이 증가시키는데 시간에 따르는 산소소비의 경향성은 알콜의 경우와 유사하다. 초산알데히드농도가 0 및 $330\mu\text{mol/L}$ 일 때 $t=5\text{min}$ 시각에서 산소소비량은 각각 26.2, 36.7%로서 초산알데히드가 없을 때보다 있을 때에 약 40% 더 높았다.

이상과 같이 우리가 실험한 온화한 농도범위에서 알콜과 초산알데히드는 겉보기호흡세기 즉 산소소비속도를 높여주며 거기에 NAD^+ 도 일정한 효과를 나타낸다. 아마도 더 높은 농도에서는 억제효과도 나타날수 있을것이지만 우리가 주목하는것은 알콜과 알데히드에 의한 이 호흡속도증가현상에 대하여 글리세린산이 어떤 효과를 나타내겠는가 하는것이다.

다음으로 알콜대사때 호흡세기에 미치는 아스파라긴산의 영향을 검토하였다. 예비적

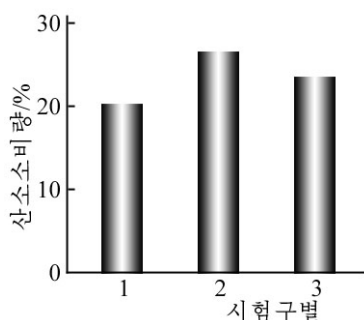


그림 4. 알콜대사때 산소호흡세기에 미치는 아스파라긴산의 영향

1-대조, 2-알콜 0.42mol/L,
3-알콜 0.42mol/L + 아스파라긴산 13mmol/L

인 실험에 의하면 아스파라긴산이 첨가될 때 간조직의 호흡세기는 좀 낮아졌는데 레를 들어 $t=5\text{min}$ 시각에서 아스파라긴산이 없을 때와 있을 때 산소소비량은 각각 24.5, 23%였다. 알콜을 호흡기질로 할 때 아스파라긴산이 산소소비량에 미치는 효과를 측정한 자료는 그림 4와 같다.

그림 4에서 보는바와 같이 알콜을 첨가하면 우에서와 같이 호흡세기가 높아지지만 거기에 아스파라긴산까지 첨가하면 대조보다는 산소소비량이 약간 많지만 알콜만 있을 때보다는 작다. 이것은 선행연구[4]에서 지적한것처럼 아스파라긴산이 산화환원왕복계로서 작용할수 있다는것 즉 사립체안의 NADH 를 세포질로 퍼내는 역할을 할수 있다는것을 보여주며 또한 사립체의 막이 비교적 완전하다는것을 말하여준다.

3) 알콜대사때 간조직균마액의 호흡에 미치는 글리세린산의 영향

선행연구들[5, 6]에 의하면 호흡하는 시료에 NAD^+ 나 글리세린산을 첨가하면 알콜과 초산알데히드의 산화속도를 높일수 있을것이다. 그러나 현재 호흡의 지표로 하고있는 산소소비에 어떤 효과를 주겠는가 하는것은 미리 결론할수 없다. 그것은 글리세린산이 환원될 때에는 호흡사슬의 기질인 NADH 가 또 산화되기때문이다. 이로부터 우리는 알콜대사때 호흡세기에 미치는 글리세린산의 영향을 관찰하였다.

먼저 간조직균마액의 호흡활성에 미치는 알콜과 글리세린산의 복합작용을 검토하였는데 $t=5\text{min}$ 시각에 측정한 산소소비량은 표 2와 같다.

표 2에서 보는바와 같이 알콜을 첨가

표 2. 간조직균마액의 호흡때 산소소비량(%)과 알콜 및 글리세린산농도의 관계

CLA농도 /(mmol·L ⁻¹)	알콜농도/(mol·L ⁻¹)		
	0	0.21	0.42
0	26.30	34.07	41.16
66		30.74	40.23
132		29.44	33.26

하면 우에서와 같이 호흡세기가 높아지지만 거기에 글리세린산까지 첨가하면 호흡세기는 낮아진다. 이러한 글리세린산의 작용은 농도가 높을수록 더 잘 나타난다. 다시말하면 글리세린산은 알콜에 의한 산소소비증가효과를 해소시킨다. 이것이 바로 우리가 예견하였던 것이다. 그 이유를 보면 글리세린산이 알콜의 산화와 공역되어 환원될 때에는 전체적으로 NADH가 생성되지 않기때문이다.

한편 알콜대사때 초산알데히드는 량적으로 알콜에 비하면 훨씬 적지만 독작용이 강하므로 그것을 빨리 제거하는것이 중요한데 이것이 산화될 때에도 NADH가 생성되고 그만큼 산소가 소비되게 된다. 초산알데히드대사때 호흡세기에 미치는 글리세린산의 영향을 관찰한 결과중에서 $t=5\text{min}$ 시각의 산소소비량을 보면 표 3과 같다.

표 3에서 보는바와 같이 초산알데히드가 첨가되면 호흡세기는 대조보다 높아진다. 거기에 글리세린산이 더 보충되면 호흡세기는 역시 대조보다는 약간 높지만 초산알데히드만이 첨가되었을 때보다는 낮다. 그 원인은 알콜대사의 경우와 같이 해석할수 있을것이다.

표 3. 초산알데히드산화때 산소소비량에 대한 글리세린산의 효과

첨가된 물질농도	산소소비량/%
대조	26.50
초산알데히드 0.33mmol/L	36.18
초산알데히드 0.33mmol/L + GLA 66mmol/L	34.29

이번에는 반응계에 알콜과 NAD^+ 그리고 글리세린산이 첨가될 때의 호흡세기를 관찰하였다. $t=5\text{min}$ 시각의 산소소비량을 측정 한 결과는 그림 5와 같다.

그림 5에서 보는바와 같이 알콜이 첨가되면 호흡세기가 높아지는데 거기에 NAD^+ 가 더 첨가될 때에는 호흡세기가 훨씬 더 높아진다. 그런데 여기에 글리세린산까지 첨가되면 호흡세기는 알콜만을 첨가할 때보다 더 낮아진다. 즉 글리세린산은 NAD^+ 가 추가되어도 알콜에 의한 호흡강화를 억제하는 작용을 할수 있다.

마지막으로 초산알데히드대사때 호흡세기에 미치는 NAD^+ 와 글리세린산의 영향을 관찰하였다. $t=5\text{min}$ 시각의 산소소비량을 측정 한 결과는 그림 6과 같다.

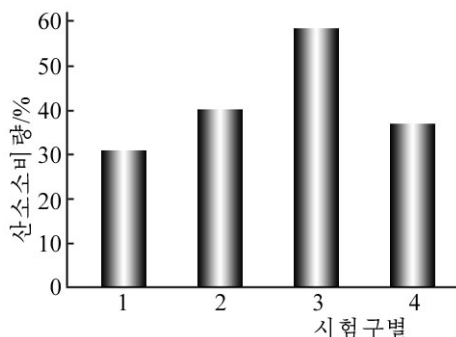


그림 5. 알콜대사때 간조직균마액의 산소소비에 미치는 NAD^+ 와 글리세린산의 영향

1-대조, 2-알콜 0.42mmol/L, 3-알콜 0.42mmol/L + NAD^+ 23 $\mu\text{mol/L}$, 4-알콜 0.42mmol/L + NAD^+ 23 $\mu\text{mol/L}$ + GLA 66mmol/L

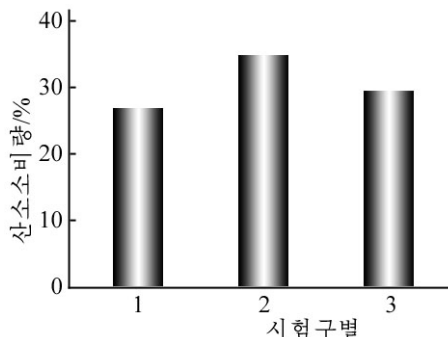


그림 6. 초산알데히드대사때 간조직균마액의 산소소비에 대한 NAD^+ 와 글리세린산의 작용

1-대조, 2-AcA 330 $\mu\text{mol/L}$ + NAD^+ 23 $\mu\text{mol/L}$, 3-AcA 330 $\mu\text{mol/L}$ + NAD^+ 23 $\mu\text{mol/L}$ + GLA 66mmol/L

그림 6에서 보는바와 같이 결보기호흡세기(산소소비)는 초산알데히드와 NAD^+ 가 있을 때 높아졌으며 거기에 글리세린산이 추가되면 다시 낮아진다. 이것은 앞에서와 마찬가지로 $NADH$ 를 NAD^+ 로 산화시키는 글리세린산의 작용때문이라고 볼수 있다.

총적으로 보면 글리세린산은 알콜과 알데히드대사때에 산소호흡세기가 대조보다 높아지는것을 억제하는 뚜렷한 효과를 나타낸다.

알콜과 알데히드대사때 산소소비의 증가를 감소시키는것이 유기체에 유리하겠는가 불리하겠는가 하는것은 생리적요구에 따라 서로 다를것이다. 명백한것은 알콜대사때 과중한 산소요구를 해소시킬수 있다는것이다. 다시말하면 많은 량의 알콜을 섭취하였을 때 간소엽에서 발생하는 산소부족현상 나아가서는 그로부터 초래되는 간지방형성을 그만큼 방지할수 있을것이다. 급성알콜성간장애때 간기능지표들에 주는 글리세린산의 긍정적인 효과[1]나 효모의 성장에서 에타놀스트레스를 해소하는 효과[2]도 여기에 기인된다고 볼수 있을것이다.

결국 글리세린산은 알콜에 의한 간손상을 방지하는데 효과적으로 쓰일수 있는 물질이라고 말할수 있다.

맺 는 말

간조직균마액에서 포도당, 피루빈산, NAD^+ 는 호흡세기를 높여주는 효과를 나타낸다.

보통의 조건에서 글리세린산은 호흡에서 기질로 될수 있으며 66~132mmol/L의 글리세린산이 첨가되면 호흡세기도 유의하게 높아진다.

0.21~0.42mmol/L의 알콜은 간조직균마액에서 호흡세기를 높여주는 작용을 하며 그 정도는 농도에 뚜렷이 의존한다. 0.33mmol/L의 초산알데히드 역시 간조직균마액에서 호흡속도를 높여준다. 알콜대사때 호흡세기의 증가는 아스파라긴산이 첨가되면 약간 감소된다. 글리세린산은 알콜에 의한 호흡세기증가효과를 해소시키며 그 정도는 글리세린산의 농도에 의존한다. 초산알데히드가 있는 호흡계에 글리세린산이 더 보충되면 호흡세기는 역시 대조보다는 약간 높아지지만 초산알데히드만이 첨가되었을 때보다는 낮아진다. 글리세린산은 NAD^+ 가 추가되여도 알콜과 초산알데히드에 의한 호흡강화를 약화시키는 작용을 한다.

참 고 문 헌

- [1] 김일성종합대학학보(자연과학), 60, 9, 100, 주체103(2014).
- [2] 김일성종합대학학보(자연과학), 56, 1, 154, 주체99(2010).
- [3] B. U. Bradford et al.; Alcohol, 35, 1, 13, 2005.
- [4] E. Easlon et al.; Genes and Development, 22, 7, 931, 2008.
- [5] C. J. P. Eriksson et al.; Metabolism, 56, 895, 2007.
- [6] P. Heino; WO 2004/035040 A1.
- [7] A. P. Il'chenko et al.; Mikrobiologiya, 74, 5, 609, 2005.

- [8] H. B. Leavesley et al.; Toxicol. Sci., 101, 1, 101, 2008.
- [9] S. B. Le et al.; J. Biol. Chem., 282, 12, 8860, 2007.
- [10] D. J. Marcinek et al.; Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 285, 5, H1900, 2003.
- [11] Q. Max Guo et al.; Alcohol Research & Health, 31, 1, 5, 2008.
- [12] A. K. Souid et al.; Biochem. Pharmacol., 66, 6, 977, 2003.
- [13] A. K. Souid et al.; Mol. Pharm., 3, 3, 307, 2006.
- [14] A. Venkatraman et al.; Hepatology, 38, 1, 141, 2003.
- [15] S. K. Verma et al.; Basic Clin. Pharmacol. Toxicol., 96, 6, 475, 2005.

주체103(2014)년 6월 5일 원고접수

The Relationship between Respiratory Activities and Alchole Metabolism and Glyceric Acid in Rat Liver Tissue Homogenate

Han Tong Sul, Yun Kyong Il and Ko Song Guk

Effects of alcohol and acetaldehyde on respiration and relationships between changes of respiratory intensities and glyceric acid and some substances in rat liver tissue homogenate are described.

Glucose, pyruvate and NAD^+ have effects hightening the respiratory activities in rat liver homogenate. In normal condition, glyceric acid can be a substrate of reaperation. When glyceric acid is added at concentration of $66 \sim 132\text{mmol/L}$, the respiratory activity increases significantly. In concentration of $0.21 \sim 0.42\text{mmol/L}$, ethanol has an action hightening the respiratory activities, and that extent depends on its concentration markedly. At the concentration of 0.33mmol/L , acetaldehyde also enhances respiration of liver tissue homogenate. At alcohol metabolism, the increase of respiratory activities weakens slightly when aspartic acid is added. Glycerate withdraws the reaperation enhancement effect by alcohol, and that extent depends on its concentration. When glyceric acid is again added into a respiratory system containing acetaldehyde, the respiratory intensity is higher than the control but lower than the case of that only acetaldehyde is added. Though NAD^+ is added, glyceric acid has an action lowering enhancement of reaperation by alcohol and acetaldehyde.

Key words: respiration, alchole metabolism, glyceric acid, liver tissue