

흰쥐에 Vitamin Antioxidants 투여가 Lipid Peroxidation에 미치는 영향

이화여자대학교 의과대학 생화학교실

함윤애 · 홍영숙 · 성낙응

= ABSTRACT =

The Effects of Vitamin Antioxidants on Lipid Peroxidation in Rat Liver Microsomes

Yoon-Ae Ham, Young-Sook Hong & Nak-Eung Sung

Department of Biochemistry College of Medicine Ewha Womans University

We observed the effect of the administration of vitamin A, C and E with β -naphthoflavone and piperonyl butoxide on cytochrome P-450 level and lipid peroxidation in rats liver.

The level of hepatic cytochrome P-450 decreased after vitamin A, C and E was administration. In contrast, β -naphthoflavone, when administered with vitamin A, C and E, the increase of cytochrome P-450 was prevented.

Lipid peroxidation was decreased after vitamin A, C, and E was administered. Moreover when β -naphthoflavone was administered together with vitamin A, C and E lipid peroxidation was not increased. When piperonyl butoxide was administered together with vitamin A, C and E, both cytochrome P-450 and lipid peroxidation were decreased.

These results indicate that vitamin antioxidants can prevent lipid peroxidation by a cytochrome P-450 dependent terminal oxidase system in rat liver microsomes.

서 론

Lipid peroxidation 은 polyunsaturated fatty acid 의 산화적 분해과정으로 많은 xenobiotics 의 독성^{8) 9)} 은 이 과정을 포함하며 또한 aging 과 같은 정상 생리 상태에서도 일어난다⁷⁾. Lipid peroxidation 결과 cy-

tochrome 은 물론 microsomal 및 mitochondrial enzyme 의 파괴가 일어나며^{8) 9)} mitochondria respiratory control 의 손상¹⁰⁾, mitochondria lysis^{11) 12)} 와 같은 살아있는 세포의 구조적, 기능적 손상을 초래한다. 최근 Levin 등¹³⁾, Jacobson 등¹⁴⁾ 및 Vatsis 등¹⁵⁾ 은 lipid peroxidation 이 흰쥐 간조직 microsome 에서 cytochrome P-450 의 활성을 감소시키면서 일어난다

고 보고하였다. 그러나 vitamin E와 여러 종류의 antioxidant들은 microsomal lipid peroxidation을 감소시킴으로써 microsomal membrane과 unsaturated fatty acid를 정상적으로 유지시켜 준다. Zalkin과 Tappel¹⁶⁾은 vitamin E가 결핍된 토끼의 간조직 mitochondria가 정상토끼의 간조직 mitochondria보다 lipid peroxidation이 증가되었다고 보고하였다. 또한 in vitro에서 butylated hydroxytoluene¹⁷⁾, α -tocopherol¹⁸⁾ 같은 antioxidant는 NA DPH-dependent lipid peroxidation을 감소시키며 in vivo에서 α -tocopherol¹⁸⁾ 및 promethazine¹⁹⁾과 같은 antioxidant를 투여했을 때 NADPH-dependent lipid peroxidation이 감소된다는 보고가 있다.

한편 ascorbic acid도 antioxidant로 작용하여 lipid peroxidation을 억제시킨다²⁰⁾고 하였으며, 홍등²¹⁾은 vitamin A, vitamin C 및 vitamin E를 투여했을 때 cytochrome P-450의 활성화와 2-acetylaminofluorene의 hydroxylation이 감소된다고 보고하였다. Haugen²²⁾ 등은 β -naphthoflavone을 흰쥐에 투여했을 때 hepatic microsomal monooxygenase activity가 증가하며 cytochrome P-450의 활성화도 증가됨을 보고하였다.

본 실험에서는 흰쥐를 사용하여 vitamin A, vitamin C 및 vitamin E를 농도를 다르게 하여 in vivo로 투여한 군과 cytochrome P-450 유도물질인 β -naphthoflavone을 vitamin A, vitamin C 및 vitamin E와 함께 투여한 군, cytochrome P-450 억제물질인 piperonyl butoxide를 vitamin A 및 vitamin E와 함께 투여한 군에서 cytochrome P-450 활성화의 변화와 lipid peroxidation의 억제작용을 연구하여 그 결과를 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

A. 실험재료

체중 150g 내외의 숫컷 흰쥐(wistar)를 전 실험을 통하여 사용하였다.

B. 실험군

제 1 실험군 : 대조군으로 체중 100g 당 0.9% saline 0.5 ml/day를 복강내로 7일 동안 주사하였다.

제 2 실험군 : 대조군으로 체중 100g 당 corn oil 0.2 ml/day로 14일 동안 stomach tube를 사용하여 경구 투여하였다.

제 3 실험군 : Vitamin A (5,000 IU/100g/day in corn oil)를 14일 동안 stomach tube를 사용하여 경

구 투여하였다.

제 4 실험군 : Vitamin A (10,000 IU/100g/day in corn oil)를 14일 동안 stomach tube를 사용하여 경구 투여하였다.

제 5 실험군 : 제 3 실험군 처치를 하고 동물을 희생시키기 48시간 전에 β -naphthoflavone (8mg/100g/in corn oil)을 1회 복강내 주사하였다.

제 6 실험군 : 제 3 실험군 처치를 하고 동물을 희생시키기 30분 전에 piperonyl butoxide (136mg/100g/in corn oil)를 1회 복강내 주사하였다.

제 7 실험군 : 제 4 실험군 처치를 하고 동물을 희생시키기 48시간 전에 β -naphthoflavone (8mg/100g/in corn oil)을 1회 복강내 주사하였다.

제 8 실험군 : 제 4 실험군 처치를 하고 동물을 희생시키기 30분 전에 piperonyl butoxide (136mg/100g/in corn oil)를 1회 복강내 주사하였다.

제 9 실험군 : Vitamin E (12mg/100g/day in corn oil)을 14일 동안 stomach tube를 사용하여 경구 투여하였다.

제 10 실험군 : Vitamin E (50mg/100g/day in corn oil)을 14일 동안 stomach tube를 사용하여 경구 투여하였다.

제 11 실험군 : 제 9 실험군 처치를 하고 동물을 희생시키기 48시간 전에 β -naphthoflavone (8mg/100g/day in corn oil)을 1회 복강내 주사하였다.

제 12 실험군 : 제 9 실험군 처치를 하고 동물을 희생시키기 30분 전에 piperonyl butoxide (136mg/100g/day in corn oil)를 1회 복강내 주사하였다.

제 13 실험군 : 제 10 실험군 처치를 하고 동물을 희생시키기 48시간 전에 β -naphthoflavone (8mg/100g/day in corn oil)을 1회 복강내 주사하였다.

제 14 실험군 : 제 10 실험군 처치를 하고 동물을 희생시키기 30분 전에 piperonyl butoxide (136mg/100g/day in corn oil)를 1회 복강내 주사하였다.

제 15 실험군 : Vitamin C (10mg/100g/day in 0.9% saline)를 7일 동안 복강내 주사하였다.

제 16 실험군 : Vitamin C (50mg/100g/day in 0.9% saline)를 7일 동안 복강내 주사하였다.

제 17 실험군 : 제 15 실험군 처치를 하고 동물을 희생시키기 48시간 전에 β -naphthoflavone (8mg/100g/day in corn oil)을 1회 복강내 주사하였다.

제 18 실험군 : 제 16 실험군 처치를 하고 동물을 희생시키기 48시간 전에 β -naphthoflavone (8mg/100g/day in corn oil)을 1회 복강내 주사하였다.

C. 실험방법

이상의 실험동물들을 12 시간 금식시킨 후 가벼운 ether 마취 하에서 간조직을 절제하여 ice-cold isotonic sucrose 로 25 % 균질용액을 만들어 microsomal fraction 을 분리하였다. microsomal cytochrome P-450 의 함량은 molar extinction coefficient $91 \text{ mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 을 사용하여 Omura 와 Sato 방법²³⁾ 에 의해 측정하였다. 단백질 측정은 Lowry 방법²⁴⁾ 으로 측정하였으며 표준물질로는 bovine serum albumin 을 사용하였다. Lipid peroxidation 결과 생성되는 malondialdehyde 양은 thiobarbituric acid 방법²⁵⁾ 으로 측정하였으며 extinction coefficient $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 을 사용하여 malondialdehyde 양을 계산하였다.

실험 결과

A. Vitamin A, vitamin A 와 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군, vitamin A 와 piperonyl butoxide 를 함께 투여한 군의 cytochrome P-450 활성의 변

Table 1. The level of hepatic microsomal cytochrome P-450 by vitamin A, vitamin A with β -naphthoflavone, and vitamin A with piperonyl butoxide treated rats

Group	Cytochrome P-450	
	nmoles/0.1ml microsome	nmoles/mg protein
Corn oil	4.90 \pm 0.39	6.46 \pm 0.02
Vitamin A 5,000 IU	6.78 \pm 0.26	3.87 \pm 0.15*
Vitamin A 5,000 IU + β -NF	12.50 \pm 0.90	6.98 \pm 0.50**
Vitamin A 5,000 IU + PB	6.59 \pm 0.31	3.91 \pm 0.13*
Vitamin A 10,000 IU	6.41 \pm 0.26	3.27 \pm 0.21*
Vitamin A 10,000IU + β -NF	4.33 \pm 0.41	4.40 \pm 0.03*
Vitamin A 10,000IU + PB	4.40 \pm 0.34	3.06 \pm 0.24*

β -NF : β -naphthoflavone,
PB : Piperonyl butoxide
Each value represents mean \pm S.D of 6 experiments.

* Significantly different from control value
P < 0.001

** Significantly different from control value
P < 0.01

Table 2. The level of hepatic microsomal cytochrome P-450 by vitamin E, vitamin E with β -naphthoflavone, and vitamin E with piperonyl butoxide treated rats

Group	Cytochrome P-450	
	nmoles/0.1ml microsome	nmoles/mg protein
Corn oil	4.90 \pm 0.39	6.46 \pm 0.02
Vitamin E 12mg	8.06 \pm 0.52	4.35 \pm 0.28*
Vitamin E 12mg + β - NF	8.59 \pm 0.23	5.42 \pm 0.68**
Vitamin E 12mg + PB	4.40 \pm 0.00	3.15 \pm 0.00*
Vitamin E 50mg	6.05 \pm 0.75	3.81 \pm 0.57*
Vitamin E 50mg + β - NF	8.24 \pm 0.39	4.72 \pm 0.22*
Vitamin E 50mg + PB	8.38 \pm 1.25	3.06 \pm 0.38*

β -NF : β -naphthoflavone, PB : Piperonyl butoxide, Each value represents mean \pm S.D of 6 experiments

* Significantly different from control value
P < 0.001

** Significantly different from control value
P < 0.01

화

표 1 에서 보는 바와 같이 microsomal cytochrome P-450 함량은 vitamin A 5,000IU 투여군, vitamin A 10,000IU 투여군이 각각 3.87 ± 0.15 nmoles/mg protein, 3.27 ± 0.21 nmoles/mg protein 으로 대조군 6.46 ± 0.02 nmoles/mg protein 에 비해 40 %, 49 % 감소하였다.

Vitamin A 5,000IU 와 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군은 6.98 ± 0.50 nmoles/mg protein 으로 대조군에 비해 8 % 증가하였고 vitamin A 10,000IU 와 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군은 4.40 ± 0.03 nmoles/mg protein 으로 대조군보다 32 % 감소하였다. Vitamin A 5,000IU 와 piperonyl butoxide 를 함께 투여한 군, vitamin A 10,000 IU 와 piperonyl butoxide 를 함께 투여한 군은 3.91 ± 0.13 nmoles/mg protein, 3.06 ± 0.24 nmoles/mg protein 으로 대조군에 비해 각각 29 %, 53 % 감소하였다.

B. Vitamin E, vitamin E 와 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군, vitamin E 와 piperonyl butoxide 를 함께 투여한 군의 cytochrome P-450 활성의 변화

표 2에서 보는 바와 같이 microsomal cytochrome P-450 함량은 vitamin E 12mg 투여한 군, vitamin E 50mg 투여군이 각각 4.35 ± 0.28 nmoles/mg protein, 3.81 ± 0.57 nmoles/mg protein 으로 대조군 6.46 ± 0.02 nmoles/mg protein 에 비해 33%, 41% 감소하였다.

Vitamin E 12mg 과 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군, vitamin E 50mg 과 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군은 각각 5.42 ± 0.68 nmoles/mg protein, 4.72 ± 0.22 nmoles/mg protein 으로 대조군에 비해 16%, 27% 감소하였으며 vitamin E 12mg 과 piperonyl butoxide 를 함께 투여한 군, vitamin 50mg 과 piperonyl butoxide 를 함께 투여한 군은 각각 3.15 ± 0.00 nmoles/mg protein, 3.06 ± 0.38 nmoles/mg protein 으로 대조군에 비해 51%, 53% 감소하였다.

C. Vitamin C, vitamin C 와 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군의 cytochrome P-450 활성의 변화

표 3에서 보는 바와 같이 microsomal P-450 함량은 vitamin C 10mg 투여군, vitamin C 50mg 투여군이 각각 3.85 ± 0.17 nmoles/mg protein, 3.84 ± 0.50 nmoles/mg protein 으로 대조군 5.84 ± 0.25 nmoles/mg protein 에 비해 모두 34% 감소하였다. Vitamin C 10mg 과 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군, vitamin C 50mg 과 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군은 각각 4.68 ± 1.07 nmoles/mg pro-

Table 3. The level of hepatic microsomal cytochrome P-450 by vitamin C, and vitamin C with β -naphthoflavone treated rats

Group	Cytochrome P-450	
	nmoles/0.1ml microsome	nmoles/mg protein
Saline	9.48 ± 0.43	5.84 ± 0.25
Vitamin C 10mg	6.66 ± 0.30	$3.85 \pm 0.17^*$
Vitamin C 10mg + β -NF	14.22 ± 3.27	4.68 ± 1.07
Vitamin C 50mg	8.79 ± 1.19	$3.84 \pm 0.52^*$
Vitamin C 50mg + β -NF	11.90 ± 1.62	4.76 ± 0.65

β -NF: β -naphthoflavone.

Each value represents mean \pm S.D of 6 experiments.

* Significantly different from control value
P < 0.001

tein, 4.76 ± 0.65 nmoles/mg protein 으로 20%, 18% 감소하였다.

이상의 결과들로 vitamin A, vitamin C 및 vitamin E 는 cytochrome P-450 의 활성을 감소시키는 vitamin antioxidant 로 작용함을 알 수 있었다. 또한 β -naphthoflavone 과 piperonyl butoxide 를 함께 투여했을 때 β -naphthoflavone 은 cytochrome P-450 유도물질로 piperonyl butoxide 는 억제물질임을 확인할 수 있었다.

D. 각 실험군의 lipid peroxidation 의 변화

Lipid peroxidation 결과 생성되는 malondialdehyde

양은 모든 실험군이 대조군에 비해 현저히 감소하였다 (표 4, 5, 6). 표 4에서 보는 바와 같이 vitamin A 5,000IU와 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군은 8.00 ± 0.26 nmoles 로 vitamin A 5,000IU 투여군 2.58 ± 0.28 nmoles 와 비교하여 약 3배 증가하였다. Piperonyl butoxide 를 함께 투여한 군은 vitamin A 만 투여한 군과 비교하여 유의있는 변화가 없었다.

Vitamin E 투여군은 표 5에서 보는 바와 같이 모든 실험군이 대조군보다 79%~83%의 현저한 감소를 보였다. 역시 vitamin E 와 piperonyl butoxide 를 함께 투여한 군도 vitamin E 만 투여한 군에 비교하여 유의있는 변화가 없었다.

Table 4. Effects of vitamin A, vitamin A with β -naphthoflavone and vitamin A with piperonyl butoxide on hepatic microsomal lipid peroxidation in rats

Group	Lipid peroxide (nmoles of malondialdehyde/mg protein / 30 min)
Corn oil	14.17 ± 0.26
Vitamin A 5,000 IU	$2.58 \pm 0.28^*$
Vitamin A 5,000 IU + β -NF	$8.00 \pm 0.26^*$
Vitamin A 5,000 IU + PB	$2.70 \pm 0.43^*$
Vitamin A 10,000 IU	$2.68 \pm 0.18^*$
Vitamin A 10,000 IU + β -NF	$2.75 \pm 0.14^*$
Vitamin A 10,000 IU + PB	$2.34 \pm 0.24^*$

Each value represents mean \pm S.D of 6 experiments.

* Significantly different from control value
P < 0.001

Table 5. Effects of vitamin E, vitamin E with β -naphthoflavone and vitamin E with piperonyl butoxide on hepatic microsomal lipid peroxidation in rats

Group	Lipid peroxide (nmoles of malondialdehyde/mg/protein/30 min)
Corn oil	14.17 \pm 0.26
Vitamin E 12mg	2.64 \pm 0.18*
Vitamin E 12mg + β -NF	2.72 \pm 0.11*
Vitamin E 12mg + PB	2.78 \pm 0.22*
Vitamin E 50mg	2.46 \pm 0.26*
Vitamin E 50mg + β -NF	2.96 \pm 0.39*
Vitamin E 50mg + PB	2.35 \pm 0.18*

Each value represents mean \pm S.D of 6 experiments

* Significantly different from control value
P < 0.001

Table 6. Effects of vitamin C, and vitamin C with β -naphthoflavone on hepatic microsomal lipid peroxidation in rats

Group	Lipid peroxide (nmoles of malondialdehyde/mg protein/30 min)
Saline	10.54 \pm 0.24
Vitamin C 10mg	5.45 \pm 0.99*
Vitamin C 10mg + β -NF	9.90 \pm 0.13
Vitamin C 50mg	2.19 \pm 0.12*
Vitamin C 50mg + β -NF	11.46 \pm 0.24*

Each value represents mean \pm S.D of 6 experiments

* Significantly different from control value
P < 0.001

Vitamin C 투여군은 표 6에서 보는 바와 같이 모든 실험군이 대조군보다 감소하였다. 그러나 vitamin C 10mg 과 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군은 9.90 \pm 0.13 nmoles 로 vitamin C 10mg 투여군 5.45 \pm 0.99 nmoles 에 비해 82% 증가하였고 vitamin C 50mg 과 β -naphthoflavone 을 함께 투여한 군은 11.46 \pm 0.24 nmoles 로 vitamin C 50mg 투여군 2.19 \pm 0.12 nmoles 에 비하여 약 5 배 증가하였다.

이상의 결과로 β -naphthoflavone 은 cytochrome P-450 의 유도물질일 뿐만 아니라 lipid peroxidation 도 증가 시킴을 알 수 있었다. 그러나 piperonyl butoxide 는 cytochrome P-450 의 활성은 감소시키나 lipid peroxidation 에는 별 영향이 없었다.

고 찰

A. Vitamin antioxidant 에 의한 흰쥐 간조직 microsome 의 cytochrome P-450 활성의 변화

어떤 약물이나 화학물질들은 주로 microsomal hemoprotein 성분인 cytochrome P-450 의 양이나 mixed function oxidase 활성을 증가시켜 기질의 신진대사를 증가시킨다는 것^{26) 27)} 이 입증되었다. 이와는 반대로 어떤 약물들은 cytochrome P-450 과 관계되는 기능에 직접 또는 간접적으로 작용하여 간조직에서 약물의 biotransformation 을 억제시키기도 한다.

Vitamin antioxidant 는 간조직 microsome 의 cytochrome P-450 활성을 억제시키며 또한 hydroxylation 도 억제시킴²¹⁾ 이 밝혀진 바 있다. 본 실험에서 vitamin antioxidant 로 vitamin A, vitamin C 및 vitamin E 를 흰쥐에 투여하였던 바 간조직 microsome 의 cytochrome P-450 활성이 의의있게 감소되었다. 이런 결과는 이들 vitamin 의 산화방지 능력에 의한 것이라 사료되며 lipid peroxidation 을 측정하여 확인하고자 하였다.

B. Vitamin antioxidant 에 의한 흰쥐 간조직 lipid peroxidation 의 변화

Lipid peroxidation 은 oxygen 과 lipid 의 직접적 반응으로 free radical intermediate 와 semistable peroxide 를 생성하며 biomembrane 과 subcellular organel 은 lipid peroxidation 손상의 중요한 부위가 된다.

Ernster 와 Nordenbrand²⁸⁾ 는 vitamin A 가 lipid peroxidation 의 강한 억제물질로 농도가 10⁻⁶ M 일 때 malondialdehyde 생성을 완전히 억제하며 vitamin A 가 결핍된 흰쥐의 microsome 에서 lipid peroxidation 을 억제시키려면 vitamin A 농도를 증가시켜야 한다고 보고하였다. 본 실험에서 vitamin A 를 투여했을 때 lipid peroxidation 이 83% 감소됨을 볼 수 있었다. 이는 vitamin A 가 lipid peroxidation 의 억제물질을 시사하는 것이다.

Brogan 등²⁹⁾ 은 guinea-pig adrenal microsome 에서 ascorbate 농도가 10⁻⁴ M 보다 클 때 lipid pe-

oxidation의 급격한 감소가 있음을 보고하였다. Wright 등³⁰⁾도 ascorbate가 lipid peroxidation을 방지하는 데 있어서 vitamin E와 함께 작용하며, 생리적 농도에서는 liver microsomal lipid peroxidation을 증가시키나 pulmonary microsomal lipid peroxidation은 억제시킨다고 보고하였다. 본 실험에서 50mg의 ascorbate를 투여했을 때 lipid peroxidation이 80% 감소되는 것으로 보아 vitamin C는 농도가 높은 경우 강한 antioxidant로 작용하는 것으로 사료된다.

Microsomal lipid의 peroxidation은 microsomal vitamin E 함량과 역비례하며³¹⁾, α -tocopherol을 in vivo로 투여했을 때 microsome의 NADPH-dependent lipid peroxidation이 감소한다는 보고도 있다. 또한 vitamin E가 결핍된 동물의 조직이 정상 동물의 조직보다 lipid peroxidation이 더 많이 일어난다고 하였다. 본 실험에서 vitamin E를 투여했을 때 lipid peroxidation이 현저히 감소하는 것으로 보아 vitamin E는 endoplasmic reticulum에서 membrane의 unsaturated fatty acid를 보호하며 lipid peroxidation을 방지하는 antioxidant로 작용함을 알 수 있었다.

이상의 결과들로 보아 vitamin A, vitamin C 및 vitamin E는 흰쥐의 간조직 microsomal lipid peroxidation을 억제시키는 강한 antioxidant로써 biomembrane과 subcellular organel의 손상을 방지한다고 할 수 있다.

결 론

흰쥐에 vitamin A, vitamin C 및 vitamin E를 in vivo로 투여했을 때 hepatic microsomal cytochrome P-450의 활성과 lipid peroxidation을 측정할 때 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) Vitamin A 투여군, vitamin A와 β -naphthoflavone을 함께 투여한 군 및 vitamin A와 piperonyl butoxide를 함께 투여한 군의 cytochrome P-450 활성은 32%~53% 감소하였고, lipid peroxidation은 44%~83% 감소하였다.

2) Vitamin E 투여군, vitamin E와 β -naphthoflavone을 함께 투여한 군 및 vitamin E와 piperonyl butoxide를 함께 투여한 군의 cytochrome P-450 활성은 16%~53% 감소하였고, lipid peroxidation은 79%~83% 감소되었다.

3) Vitamin C 투여군 및 vitamin C와 β -naphthoflavone을 함께 투여한 군의 cytochrome P-450

활성은 18%~34% 감소하였고, vitamin C 투여군의 lipid peroxidation은 48%~79% 감소하였다. 그러나 vitamin C와 β -naphthoflavone을 함께 투여한 군의 lipid peroxidation은 vitamin C 투여군보다 2~5배 증가하였다.

- References -

- 1) Recknagel, R. O., Glende, E. A. Jr., and Hruszkewycz, A. M.: Chemical mechanism in CCl_4 toxicity, In Free Radicals in Biology (W. A. Pryor, ed.) Vol III 97-132, Academic Press, New York, 1977.
- 2) Cohen, G.: Lipid peroxidation: detection in vivo and in vitro through the formation of saturated hydrocarbon gases. Ciba Foundation Symposium 65, 177-185, Excerpta Medica Amsterdam, 1970.
- 3) Dillard, C. J., and Tappel, A. L.: Volatile hydrocarbon and carbonyl products of lipid peroxidation: a comparison of pentane, ethane, hexanol, and acetone as in vivo indices. Lipids. 44, 989-995, 1979.
- 4) DiLuzio, N. R., and Hartman, A. D.: Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of the ethanol-induced fatty liver. Fed. Proc. 26, 1436-1442, 1967.
- 5) Dumelin, E. E., Dillard, C. J., and Tappel, A. L.: Effect of vitamin E and ozone on pentane and ethane expired by rats. Arch. Environ. Health. 33, 129-134, 1978.
- 6) Burk, R. F., Lawrence, R. A., and Lane, J. M.: Liver necrosis and lipid peroxidation in the rat as a result of paraguat and diguat administration. J. Clin. Invest. 65, 1024-1031, 1980.
- 7) Packer, L., Deamer, D. W., and Health, R. L.: In Advances in Gerontological Research (Strehler, B. L., ed) vol 2, 77-120, Academic Press, New York, 1967.
- 8) Nakano, M., Tsutsumi, Y., and Ushijima, Y.: Degradation of thyroxine by the microsomal particles from rat liver. I Correlation between thyroxine degradation and lipid peroxi-

- des. *Biochim. Biophys. Acta.* 252, 335–347, 1971.
- 9) Tappel, A. L.: Lipid peroxidation damage to cell components. *Fed. Proc.* 32, 1870–1874, 1973.
 - 10) Neubert, D., Wojtczak, A. B., and Lehninger, A. L.: Purification and enzymatic identity of mitochondrial contraction-factors I and II. *Prod. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 48, 1651–1658, 1962.
 - 11) Hunter, F. E. Jr., Scott, A., Hoffsten, P. E., Guerra, F., Weinstein, J., Schneider, A., Schutz, B., Fink, J., Ford, L., and Smith, E.: Studies on the mechanism of ascorbate-induced swelling and lysis of isolated liver mitochondria. *J. Biol. Chem.* 239, 604–613, 1964.
 - 12) Hunter, F. E. Jr., Scott, A., Hoffsten, P. E., Gebicki, J. M., Weinstein, J., and Schneider, A.: Studies on the mechanism of swelling, lysis and disintegration of isolated liver mitochondria exposed to mixtures of oxidized and reduced glutathione. *J. Biol. Chem.* 239, 614–621, 1964.
 - 13) Levin, W., Lu, A. Y. H., Jacobson, M., and Kuntzman, R.: Lipid peroxidation and the degradation of cytochrome P-450. *Arch. Biochem. Biophys.* 158, 842–852, 1973.
 - 14) Jacobson, M., Levin, W., Lu, A. Y. H., Conney, A. H., and Kuntzman, R.: Drug Metab. Disposition. 1, 776–774, 1973.
 - 15) Vatsis, K. P., Kowalchuk, J. A., and Schulman, M. P.: Ethanol and drug metabolism in mouse liver microsomes subsequent to lipid peroxidation-induced destruction of cytochrome P-450. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 61, 258–264, 1974.
 - 16) Zalkin, H., and Tappel, A. L.: Studies of the mechanism of vitamin E action. IV. Lipid peroxidation in the vitamin E-deficient rabbits. *Archs Biochem. Biophys.* 88, 113–117, 1960.
 - 17) Shires, T. K.: Inhibition by lipoperoxidation of amino acid incorporation by rough microsomal membranes *in vitro* and its partial reversibility. *Arch. Biochem. Biophys.* 171, 695–707, 1975.
 - 18) May, H., and McCay, P. B.: Reduced triphosphopyridine nucleotide oxidase-catalyzed alterations of membrane phospholipid. *J. Biol. Chem.* 243, 2296–2305, 1968.
 - 19) Slater, T. F.: The inhibitory effects *in vitro* of phenothiazines and other drugs on lipid-oxidation systems in rat liver microsomes, and their relationship to the liver necrosis produced by carbon tetrachloride. *Biochem. J.* 106, 155, 1968.
 - 20) Bus, J. S., and Gibson, J. R.: in Review in *Biochemical Toxicology*. (Hodgson, E., Bend, J. R., and Philpot, R. M., eds) 125–149, Elsevier-North Holland, New York, 1979.
 - 21) Hong, Y. S., N. E. Sung, and P. D. Lotlikar: Effects of vitamin antioxidants on hydroxylation of 2-acetyl-aminofluorene by rat liver microsomes. *The Korean. J. Biochem.*, 12, 19–23, 1980.
 - 22) Haugen, D. A., Coon, M. C., and Nebert, D. W.: Induction of multiple forms of mouse liver cytochrome P-450. *J. Biol. Chem.* 251, 1817–1827, 1976.
 - 23) Omura, T. and Sato, R.: The carbon monoxide binding pigment of liver microsome II. solubilization, purification and properties. *J. Biol. Chem.* 239, 2370–2378, 1964.
 - 24) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275, 1951.
 - 25) Buege, J. A., and Aust, S. D.: Microsomal lipid peroxidation. *Method. Enzymology.* 52, 302–310, 1978.
 - 26) Conney, A. H.: Pharmacological Implications of microsomal enzyme induction. *Pharmacol. Rev.* 19, 317–366, 1967.
 - 27) Gelboin, H. V.: Mechanisms of induction of drug metabolism enzymes. In *Fundamentals of drug metabolism and drug disposition* (L. Du, B. N., Mandel, H. G. and Way, E. L. eds), 279–307, 1971.

- 28) Ernster, L., and Nordenbrand, K.: Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymology*. 10, 574-580, 1967.
- 29) Brogan, W. C., Miles, P.R., and Colby, H.D.: Factors affecting lipid peroxidation in guinea-pig adrenal microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*. 663, 230-238, 1981.
- 30) Wright, J. R., Colby, H.D., and Miles, P.R.: Cytosolic factors which affect microsomal lipid peroxidation in lung and liver. *Arch. Biochem. Biophys.* 206, 296-304, 1981.
- 31) Kornbrust, D.J., and Mavis, R.D.: Relative susceptibility of microsomes from lung, heart liver, kidney, brain and testes of lipid peroxidation: Correlation with vitamin E content. *Lipids*. 15, 315-322, 1980.
-