

食餌 不飽和脂肪酸과 Vitamin E 함량이 흰쥐 肝臟內的 脂質過酸化에 미치는 影響

박 규 영 · 이 순 재
효성여자대학교 식품영양학과

Effect of Dietary Polyunsaturated Fatty Acid and α -Tocopherol on Lipid Peroxidation in Rat Liver

Gyu-Young Park, Soon-Jae Rhee

Department of Food and Nutrition, Hyosung Women's University, Taegu, Korea

= Abstract =

To study effects of dietary polyunsaturated fatty acid and α -tocopherol content on lipid peroxidation in rat liver, rats were fed for 3, 6 and 9 weeks with normal tocopherol diet added 40mg of DL- α -tocopherol/kg of diet (PF group), high tocopherol diet 200mg of DL- α -tocopherol/kg of diet (PFE group), low tocopherol diet without addition of DL- α -tocopherol to diet (PFO group), and control diet added 40mg of DL- α -tocopherol/kg of diet (control group). Each diet group supplied 45% of total calorie from corn oil except control group which supplied 12% of total calorie from corn oil. After each feeding period, lipid peroxide and tocopherol contents were measured in the liver as well as activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase. PF group had almost the same contents of liver lipid peroxide, tocopherol contents and activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase as control group, while PFE group had higher tocopherol content and glutathione peroxidase activity and lower lipid peroxide contents and superoxide dismutase activity than control group. On the other hand, changes in the values of PFO group were opposite to those of PFE group. Differences in the values among groups were more pronounced as feeding period became longer.

서 론

식물성 유지중에 다량 함유되어 있는 polyunsaturated fatty acid (PUFA)는 인체의 정상적인 성장에 필수불가결한 물질인 필수지방산의 공급원으로써

중요할 뿐 아니라^{1,2)} 生體內에서 혈청 cholesterol을 낮추고 high density lipoprotein (HDL)을 높여주므로 동맥경화증을 비롯한 心脈系疾患의 예방 및 치료에 효과가 있다고 하여 많이 권장되고 있다^{3,5)}.

그러나 PUFA는 cis형의 불안정한 이중결합을 갖고 있기 때문에 저장이나 가공시에 특히, 공기중에 노

출된 상태에서 고온으로 반복 혹은 계속적으로 가열시에는 산화분해되어 영양가의 감소 뿐 아니라 hydroperoxide, epoxide, carbonyl 化合物, 탄화수소 등 독성물질의 생성하며^{11,8)}. 또한 生體內에서도 PUFA는 쉽게 산화가 일어나는 약점을 가지고 있다⁹⁾.

Chow¹⁰⁾ 및 Tappel 등¹¹⁾의 보고에서 PUFA를 과량 섭취할 경우 산패부산물인 peroxides와 free radical 등의 형성을 통해 세포기능의 장애 및 파괴와 노화를 촉진시킨다고 하였으며, Kinsell 등¹²⁾은 PUFA를 다량 섭취시는 cholesterol의 생산이 증가되고 나아가서는 체내 지방축적 및 노화와 발암의 원인이 되는 지질과산화물을 축적하므로 이를 방지하기 위해서 selenium이나 tocopherol과 같은 항산화제의 역할이 중요함을 강조하는 많은 보고가 있다²⁾¹³⁾¹⁵⁾. Zalkin과 Tappel¹⁶⁾은 vitamin E가 결핍된 토끼의 간조직 mitochondria가 정상 토끼의 간조직 mitochondria보다 lipid peroxidation이 증가되었다고 보고하였고, Yu 등¹⁷⁾은 다량의 PUFA와 vitamin E 결핍식으로 사육한 chick의 뇌혈관 내피세포에서 subcellular constituents의 변성과 peroxidative damage를 지적했고 아울러 endothelium cell lysosome의 활성이 일어난다고 보고하므로써 PUFA의 과산화와 이를 억제할 수 있는 항산화제의 관련은 매우 깊다고 볼 수 있다. 이와같이 과산화지질은 노화와 같은 정상생리 상태에서도 일어나지만 PUFA도 자칫 과용하거나 잘못 이용되었을 때에는 다른 xenobiotics의 독성과 함께¹⁸⁾ 19) 노화를 촉진하고 발암성을 내포하고 있으므로 최근 이러한 과산화물의 체내축적과 아울러 이를 방지하기 위한 항산화적인 요소의 연구에 관심이 집중되고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 다량의 PUFA와 vitamin E 함량을 달리한 식이를 흰쥐에게 섭취시켰을 때 生體內 과산화적 손상을 관찰하고자 간장 조직내의 과산화지질량을 측정하고 또 이러한 생체의 산화적 손상으로부터 조직을 방어하는 효소계인 superoxide dismutase와 glutathione peroxidase활성의 변동 및 비효소계인 vitamin E의 함량을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물 및 식이 조제

실험 동물은 체중이 100g내외가 되는 Sprague-Dawley종의 흰쥐 숫컷을 경북대학교 의과대학 동물 사육실에서 구입하여 무작위로 선정하여 본 실험에 사용하였다.

1주간 일반식으로 예비 사육한 동물을 고불포화 옥수수유 식이와 식이내 vitamin E 함량을 다르게 하여 4군으로 나누었다.

즉, 12Kcal% 옥수수유를 가한 대조군과 45Kcal% 고불포화 옥수수유와 정상적 vitamin E 함량을 가한 식이군(PF군)과 45Kcal% 고불포화 옥수수유를 가한 PF군에 vitamin E를 5배 첨가한 식이군(PFE군), 45Kcal% 고불포화 옥수수유 식이에 vitamin E를 가하지 않은 식이군(PFO군)으로 나누어 일정한 환경하에서 3주, 6주 및 9주간 사육하였으며, 이때 기본 식이와 물은 자유 섭취하도록 하였다.

체중 3일 간격으로 같은 시간에 측정하였고 기본 실험 식이와 조성은 Table. 1과 같다.

2. 시료처리

사육한 쥐를 각각 12시간 절식시킨 후, 가벼운 ether하에서 마취시켜 각 장기를 적출하여 무게를 달았으며, 간장은 saline으로 perfusion을 실시한 후, 각 간엽에서 고르게 일정량을 취해서 Potter-Elvehjem homogenizer를 사용하여 0.25M sucrose/0.5 mM ethylene diamine tetraacetic acid(EDTA)/5mM N-2-hydroethylpiperazine-N'-2-ethane sulfonic acid (HEPES)용액으로써 10% (w/v) 마쇄액을 만들었다. 마쇄액의 일부를 8,000×g에서 20분간 원심 분리하여 그 상층액을 과산화지질 정량에 사용하였고, 나머지 10,000×g에서 30분간 원심 분리하였다. 10,000×g 상층액 일정량을 취해 0.4배량의 ethanol : chloroform혼합액(5 : 3)을 가하고 2분간 진탕한 다음 10,000×g에서 30분간 원심 분리하여 상층액을 세포질

Table 1. Composition of experimental diets(g/1000g diet)

| Ingredient | Experimental animal groups | | | |
|------------------------------|----------------------------|------|------|------|
| | Control | PF | PFE | PFO |
| Corn starch(g) ¹⁾ | 670 | 470 | 470 | 470 |
| Casein(g) ²⁾ | 180 | 180 | 180 | 180 |
| Salt Mix(g) ³⁾ | 40 | 40 | 40 | 40 |
| Vitamin Mix(g) ⁴⁾ | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Cellulose(g) ⁵⁾ | 50 | 80 | 80 | 80 |
| Corn oil(g) ⁶⁾ | 50 | 220 | 220 | 220 |
| Vitamin E(mg) ⁷⁾ | 40 | 40 | 200 | - |
| Kcal/g | 3.85 | 4.58 | 4.58 | 4.58 |

1) Pung Jin Chem. Co.

2) Lactic Casein, 30mesh, New Zealand.

3) Salt mixture : g per 100g of salt Mix ; CaCO₃, 30.0g ; CaHPO₄, 7.5g ; K₂HPO₄, 32.2g ; NaCl, 16.7g ; MgSO₄ · 7H₂O, 10.2g ; ferric citrate, 2.75g ; MnSO₄, 0.51g ; KI, 70mg ; CuCl₂ · 5H₂O, 35mg ; ZnCl₂, 25mg ; CaCl₂ · 5H₂O, 5mg ; (NH₄)₆ Mo₇ O₂₄ · 4H₂O, 5mg.

4) Vitmin mixture : per 1kg of diet ; thiamine-HCl, 20mg ; riboflavin, 20mg ; pyridoxine, 20mg ; nicotinic acid 90mg ; d-calcium pantothenate, 60mg ; folic acid, 10mg ; biotin, 1mg ; menadione, 45mg ; vitamin B₁₂(0.1% triturate in mannitol), 20mg ; retinyl acetate, 2,000IU ; cholecalciferol, 1,000IU ; choline, 1.5g ; inositol, 0.1g ; vitamin C, 0.9g ; p-aminobenzoic acid, 0.1g.

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

6) Jeil company

7) DL- α -tocopheryl acetate

superoxide dismutase(SOD)원액으로 사용하였다. 또, 10,000×g 상층액의 일부는 105,000×g에서 30분간 원심 분리하여 상층액을 glutathione peroxidase (GPX) 효소액으로 하였다.

Vitamin E 함량 측정은 간장 조직 일정량을 취해 0.9% NaCl로써 10%(w/v)마쇄액을 만들어 사용하였다.

3. 과산화지질의 정량

Thiobarbituric acid(TBA)와 반응하여 malondialdehyde량을 측정하는 Satoh방법²⁰⁾을 이용하였다. 즉, 8,000×g 상층액 0.5ml에 10% trichloroacetic acid (TCA)용액 2.5ml를 가하여 잘 섞은 후, 실온에서 10분간 방치한 다음 1,500×g에서 10분간 원침하여 상층액은 버리고 침전물을 0.05M황산으로 1회 세척한 다음 그 침전물에 황산 2.5ml와 3% TBA 3.0ml를 가하여 잘 섞은 후, 95°C의 water bath에서 30분간 가열한 다음 즉시 냉각시켰다. 여기에 n-butanol : pyridine혼합액(15 : 1, v/v) 3.0ml를 가하여 잘 섞은

후 1,500×g에서 10분간 원심 분리하여 그 상층을 취해 535nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로 1, 1, 3, 3-tetramethoxypropane(TMP)을 사용하였다.

4. Vitamin E 정량

Liver homogenate 1.0ml에 2% pyrogallol 5.0ml를 서서히 가하면서 섞은 후, 70°C의 water bath에서 2분간 加溫한 후 포화 KOH용액 0.3ml를 가하고 완전히 섞은 후, 다시 70°C의 water bath에서 30분 加溫하였다.

이것을 얼음속에서 냉각시켜 증류수 4.0ml와 hexane 10ml를 가한 후, 2분간 세계 흔들어 1,500rpm에서 10분간 원심 분리하여, 상층액(hexane phase)을 갈색시험관에 7.0ml 취하여 30°C에서 질소가스로 건조시켰다²¹⁾²²⁾. 이것을 시료로 하여 ferric-chloride dipyridyl법(Emmerie Engel reaction)²³⁾에 의해 직사광선을 피한 상태에서 0.5% ferric chloride 0.8ml와 0.5% dipyridyl 0.8ml를 가하여 세계 흔들어 잘 섞은 후, 無水 ethanol 2.0ml를 가하고 ferric chloride 시

약을 넣은 후, 정확히 10분 지나서 520nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로는 α -tocopherol을 사용하였다.

5. Superoxide dismutase활성 측정

Superoxide dismutase의 정량은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund등²⁴⁾의 방법을 이용하였다. Tris buffer(50mM Tris/10mM diethylenetriamine pentaacetic acid, pH 8.5) 1.5ml에 효소용액 0.1ml를 넣고 7.2mM Pyrogallol 0.1ml를 가함으로 반응을 시작시킨 다음 25°C에서 정확히 10분간 반응시킨 후, N-HCl 0.05ml를 가해 반응을 정지시켜 산화된 Pyrogallol의 흡광도를 440 nm에서 측정하였다. 그리고 효소활성의 1단위는 반응액중의 pyrogallol 산화를 50% 억제하는 효소의 양으로 정하였다.

6. Glutathione peroxidase활성 측정

Glutathione peroxidase의 정량은 산화형 glutathione이 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 NADPH의 흡광도가 340nm에서 감소하는 것을 이용한 Paglia 및 Valentine의 방법²⁵⁾에 따라 측정하였다. 즉, 5mM의 EDTA를 함유하는 pH 7.0의 50mM potassium phosphate buffer 2.4ml에 효소용액 0.1ml와 8.4mM NADPH 0.1ml, glutathione reductase 4.6unit, 1.125M sodium azide 0.01ml 및 0.15M 환원형 glutathione(GSH) 0.1ml를 넣고 2.2mM H₂O₂ 0.1ml를 가함으로써 반응을 시작하였다. 그리고 효소활성의 1단위는 1분간 1 μ mol의 산화형 NADP를 생성하는 효소의 양으로 나타내었다.

7. 단백질 정량

각 시료의 단백질량을 표준품으로 bovine serum albumin을 사용하여 과산화지질량과 vitamin E 측정시료는 Biuret법²⁶⁾으로 superoxide dismutase와 glutathione peroxidase활성 측정을 위한 시료는 Lowry법²⁷⁾을 이용하여 각각 정량하였다.

8. 유의도 검정

각 군사이의 차이는 Student's²⁸⁾ t-검정법에 따라 유의도를 검정하였다.

결 과

1. 과산화지질량의 변동

간장에서의 지질과산화물값은 Table 2와 같이 대조군과 PF군 사이에는 3, 6, 9주에서 차이가 없었으나, PFE군은 3주에는 대조군과 차이가 나타나지 않았으나, 6주 및 9주에는 각각 23%, 32%씩 낮았으며 ($p < 0.01$), PFO군에서는 6주, 9주에서 대조군에 비해 61%, 96%씩 높았다($p < 0.05$) PFE군과 PFO군을 비교하여 보면, PFO군이 PFE군보다 실험 6주 및 9주에 각각 100%, 160%씩 증가되었다($p < 0.005$).

식이 투여기간별로는 대조군과 PF군은 차이가 없었으나, PFE군은 실험기간이 경과할수록 점차 감소하는 반면 PFO군은 계속적으로 증가하였다.

2. Vitamine E 함량의 변동

간장에서의 vitamin E 함량을 관찰한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같이 3주에 있어서는 대조군과 실

Table 2. Effect of dietary polyunsaturated fatty acid & tocopherol on lipid peroxide value in rat liver (n mol MDA/mg protein)

| Group | Control | PF | PEF | PFO |
|-------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------|------------------------------|
| 3WK | 0.58 ± 0.09(5) ^{a1} | 0.60 ± 0.04(5) ^{a1} | 0.57 ± 0.06(5) ^{a1} | 0.60 ± 0.05(5) ^{a1} |
| 6WK | 0.54 ± 0.07(5) ^{a1} | 0.55 ± 0.09(5) ^{a1} | 0.44 ± 0.05(5) ^{b2} | 0.87 ± 0.07(5) ^{c2} |
| 9WK | 0.50 ± 0.02(6) ^{a1} | 0.52 ± 0.03(6) ^{a1} | 0.38 ± 0.03(6) ^{b,2,3} | 0.98 ± 0.16(6) ^{c3} |

All values are mean ± SE(number of animal)

Values in a row(diet group) with different superscript letters(a,b,c) are significantly different(at $p < 0.005$).

Values in a column(feeding period of diet) with different superscript numbers(1,2,3) are significantly different(at $p < 0.05$).

Table 3. Effect of dietary polyunsaturated fatty acid & tocopherol on vitamin E contents in rat liver

| Group | (μg/mg protein) | | | |
|-------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|
| | Control | PF | PEF | PFO |
| 3WK | 0.30±0.04(5) ^{a1} | 0.29±0.03(5) ^{a1} | 0.30±0.03(5) ^{a1} | 0.28±0.04(5) ^{a1} |
| 6WK | 0.30±0.01(5) ^{a1} | 0.30±0.03(5) ^{a1} | 0.36±0.06(5) ^{a1} | 0.21±0.03(5) ^{b1,2} |
| 9WK | 0.31±0.02(6) ^{a1} | 0.30±0.02(6) ^{a1} | 0.49±0.01(6) ^{b2} | 0.18±0.02(6) ^{c2} |

All values are mean±SE(number of animal)

Values in a row(diet group) with different superscript letters(a,b,c) are significantly different(at p<0.005).

Values in a column(feeding period of diet) with different superscript numbers(1,2) are significantly different (at p<0.05).

Table 4. Effect of dietary polyunsaturated fatty acid & tocopherol on superoxide dismutase activity in rat liver

| Group | (Unit/mg protein) | | | |
|-------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | Control | PF | PEF | PFO |
| 3WK | 11.30±0.40(5) ^{a1} | 11.32±0.25(5) ^{a1} | 11.30±0.41(5) ^{a1} | 11.33±0.28(5) ^{a1} |
| 6WK | 11.28±0.64(5) ^{a1} | 11.30±0.42(5) ^{a1} | 11.11±0.20(5) ^{a1} | 12.00±0.20(5) ^{a1} |
| 9WK | 11.18±0.47(6) ^{a1} | 11.65±0.43(6) ^{a1} | 10.67±0.22(6) ^{b1} | 13.38±0.52(6) ^{c2} |

All values are mean±SE(number of animal)

Values in a row(diet group) with different superscript letters(a,b,c) are significantly different(at p<0.005).

Values in a column(feeding period of diet) with different superscript numbers(1,2) are significantly different (at p<0.05).

Table 5. Effect of dietary polyunsaturated fatty acid & tocopherol on glutathione peroxidase activity in rat liver

| Group | (μmol NADPH/min/mg protein) | | | |
|-------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|
| | Control | PF | PEF | PFO |
| 3WK | 3.68±0.44(5) ^{a1} | 3.52±0.36(5) ^{a1} | 3.77±0.31(5) ^{a1} | 3.58±0.41(5) ^{a1} |
| 6WK | 3.84±0.57(5) ^{a1} | 3.66±0.35(5) ^{a1} | 4.37±0.25(5) ^{b2} | 3.26±0.26(5) ^{a1,2} |
| 9WK | 3.90±0.29(6) ^{a1} | 3.68±0.51(6) ^{a1} | 4.38±0.52(6) ^{b2} | 3.06±0.40(6) ^{c2} |

All values are mean±SE(number of animal)

Values in a row(diet group) with different superscript letters(a,b,c) are significantly different(at p<0.05).

Values in a column(feeding period of diet) with different superscript numbers(1,2) are significantly different (at p<0.01).

험군 사이에 비슷한 경향을 나타내었으며, 6주에 있어서는 대조군과 PF군, PFE군은 차이가 없었으나, PFO군은 43%가 낮았다(p<0.05). 9주에서도 6주째와 같이 대조군과 PF군간에는 차이가 없었으나, PFE군은 58% 높았고(p<0.05), PFO군은 대조군에 비해 72%나 낮아서(p<0.005), 현저한 차이를 나타내었다.

식이 투여기간별로 대조군과 PF군은 시간경과에 따른 변화가 없었으나, PFE군은 6주, 9주째에 20%, 63% (p<0.05) 증가를 하였으며, PFO군은 33%, 56%

(p<0.05)의 감소를 보였다.

3. Superoxide dismutase활성의 변동

간장에서의 SOD 활성의 변동을 관찰한 결과는 Table 4와 같다. 3주에 있어서는 대조군과 high PUFA군들과의 차이가 없었으며, 6주에 있어서는 대조군에 비해 PF군과 PFE군은 별차이가 없었으며, PFO군은 다소 증가하였지만 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 9주에 있어서는 대조군에 비해 PFE군은 10.67로써 다소 감소하였고, PF군, PFO군은 증가하

였다($p < 0.005$).

식이 투여기간별로는 PFE군보다 PF군, PFO군이 9주째 활성이 컸다($P < 0.05$).

4. Glutathione peroxidase활성의 변동

간장에서의 GPX 활성의 변동을 관찰한 결과는 Table 5에서 보는 바와 같이 3주에 있어서는 SOD 활성과 같이 각 군사이에 별 차이가 나타나지 않았으며, 6주에 있어서는 대조군과 PF군은 비슷한 경향을 나타냈었으나, PFE군은 대조군에 비해 14% ($p < 0.01$) 증가하였고, PFO군은 18% ($p < 0.01$)의 감소를 보였다. 9주에 있어서는 6주와 비슷한 경향을 보였는데, 대조군에 비해 PFE군은 12% ($p < 0.01$) 증가하였으며, PFO군은 28% ($p < 0.05$)의 감소를 보였다.

식이 투여기간별로는 PFE군은 6주에 16% ($p < 0.01$) 증가하였으나, 9주에는 6주와 차이가 나지 않았으며, PFO군은 실험기간이 경과할수록 점차 감소하는 경향이였다.

고 찰

본 연구는 다량의 PUFA 식이에서 식이내 vitamin E 함량을 다르게 하였을 때 흰쥐 간장내의 지질과 산화에 미치는 영향을 알아보려 시도하였다.

생체는 내인적 혹은 외인적 요인에 의하여 유리 산소를 생성하고 이 산소의 환원과정에서 생성되는 superoxide radical(O_2^-)과 H_2O_2 는 Haber-Weiss²⁹⁾ 반응의 2, 3단계를 통하여 더욱 강력한 반응성을 지닌 hydroxyl radical과 singlet oxygen을 생성해서 세포 성분과 세포의 기질에 손상을 주는 인자로 알려져 있다^{29), 33)}. 특히 생체막의 성분중에서 인지질, 당지질, sterol들의 성분인 불포화지방산은 이런 산소기들에 의한 손상을 받기 쉽고, 이 산소기들은 glycosaminoglycan의 분해, 지질의 과산화반응, 단백질 특히 효소의 sulfhydryl기의 산화 및 DNA의 손상을 일으켜 생체에 비가역적인 상해를 초래한다고 한다^{34), 35)}.

불포화지방산의 과산화반응중 유리되어 나온 arachidonic acid가 lipoxygenase나 cyclooxygenase에 의해 대사되어 가는 과정중 생성된 산소기들에 의해 막지질의 과산화는 더욱 촉진되고³⁶⁾ 나아가 이 산

소기들과 과산화지질은 생체막유도성의 염색체 손상을 일으킨다^{37), 39)}고 알려져 있다. 이들은 작용에 의한 과산화현상은 일단 반응이 개시되면, 그 산소기들의 도움없이도 연쇄적으로 일어나는 것으로 세포에 광범위한 손상을 준다^{40), 41)}. 그러나 생체는 이러한 산소기들과 손상받은 세포성분을 처리하는 효소계 혹은 비효소계반응을 통하여 산소독으로부터 보호되어 있다고 한다^{42), 43)}. SOD는 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2 로 바꾸며, 생성된 H_2O_2 와 유기 과산화물은 catalase와 peroxidase의 작용에 의해 H_2O 로 배설하므로써 산소독으로부터 생체를 보호하며, 특히 간 세포의 세포질과 mitochondria 기질액 및 적혈구에 다량 존재하는 GPX는 과산화물과 환원형 glutathione과의 반응을 촉매하므로써 산소독에 의해 세포손상을 줄인다고 한다⁴⁴⁾. 또한, 생체는 이러한 효소계 반응외에도 α -tocopherol과 β -carotene에 의한 산소기로부터의 보호 기전⁴⁵⁾도 가지고 있고, ascorbic acid, cysteine 및 reduced glutathione의 작용⁴⁶⁾도 보고되어 있다.

본 실험에서 high PUFA 식이군 중에서 vitamin E를 정상적으로 첨가한 PF군은 대조군과 별 차이가 없었으나, vitamin E를 첨가하지 않고 사육한 PFO군에서는 실험 6주부터 SOD는 증가하였으나, GPX는 감소하므로써 과산화지질량은 증가되었다. 반면에 vitamin E를 충분히 가한 PFE군은 SOD증가와 함께 GPX가 증가하였고 과산화지질량은 감소하였다.李 등⁹⁾도 가열유를 투여한 쥐에서 SOD가 증가하였으나 GPX가 감소하므로써 과산화지질의 증가를 보였다고 한다. 이러한 결과는 Mavelli등⁴⁷⁾이 SOD가 40% 정도 감소되어 있어도 GPX나 catalase가 정상치를 유지하고 있으면 산화적 손상으로부터 잘 보호되지만, SOD가 정상 혹은 증가되어 있어도 GPX나 catalase 등의 효소가 저하되어 있으면 적혈구의 산화적 손상을 방어하지 못한다는 보고와 일치하였다. Vitamin E는 생체내 세포막에 주로 존재하며 지질, 단백질, 효소활성, hormone등 각종 물질대사에 널리 관여하고 특히 비효소계 반응으로써 산소기들을 처리하는 항산화제로써 지질과산화와 밀접한 관계가 있다고 한다^{48), 49)}. Yang과 Desai⁵⁰⁾가 16개월동안 다량의 vitamin E(2,500~10,000IU/Kg diet)를 첨가했을 때 혈

청 vitamin E 농도가 첨가한 vitamin E 수준에 따라 증가한다고 하였으며, 함⁵¹⁾ 등은 vitamin E를 다량 투여하였을 때 대조군에 비해 과산화지질량이 현저히 감소한다는 보고와 일치하며, 반대로 vitamin E가 부족한 PFO 식이군에서 조직내 과산화지질량이 현저히 증가하고 vitamin E 농도가 감소한 것은 과량의 PUFA식을 공급할 경우 조직내 linoleate와 arachidonate의 양이 증가하여 간에 peroxides 형성이 증가된다는 Davon⁵²⁾ 등의 보고와 일치한다. 이러한 결과는 식이내 vitamin E공급도 부족하는데 또 이 과량의 PUFA를 포함하고 있는 membrane을 과산화로부터 보호하기 위하여 vitamin E의 필요가 증가되어 많이 소모되었기 때문이라고 생각되며, 따라서 vitamin E는 세포의 mitochondria나 endoplasmic reticulum막에 많이 존재하는 불포화지방산을 peroxidation으로 부터 방어하는 항산화제로 작용하므로써 조직내의 lipid peroxide량을 감소시키는 것으로 볼 수 있다. 이와같이 high PUFA식이라도 vitamin E가 정상 혹은 충분한 PF, PFE식이군에서는 GPX활성이 정상 혹은 높은 활성을 나타내므로써 과산화가가 낮아지나, 같은 양의 PUFA식이라도 vitamin E가 부족한 식이군에서는 SOD활성이 증가하여도 조직내 vitamin E의 감소 및 GPX활성이 감소하면서 과산화물이 높아지는 등의 결과를 나타내므로써 과산화가와 GPX활성은 역비례 관계를 나타내었다. 또한 前報⁹⁾에서 GPX가 낮고 과산화가가 높은 흰쥐 간장 조직에서는 세포내 mitochondria의 중창과 mitochondria내의 cristae의 소실과 mitochondria 등 세포의 구조적 손상을 초래하였는 결과와 본 실험의 결과로 미루어 볼 때 vitamin E의 공급이 충분하지 못한 high PUFA식은 mitochondria나 endoplasmic reticulum막에 많이 존재하는 불포화지방산을 vitamin E의 부족으로 인하여 과산화로부터 방어하지 못하므로써 세포내 rough endoplasmic reticulum(RER)이나 mitochondria등의 막의 구조적, 기능적 손상을 초래하여 GPX활성이 저하되므로써 과산화물이 축적된다고 생각된다. Poling⁷⁾,李 등⁸⁾이 PUFA라도 과잉 섭취시는 독성을 가져올 수 있다는 보고와 Abraham 등⁵³⁾이 식이내 불포화지방산의 함량이 많을수록 mouse의 지방암 발생빈도가 높으며 산소기들을 처리할 수

있는 비효소계 항산화제들을 투여하므로써 종양 발생빈도를 줄일 수 있다는 보고와 본 실험의 결과를 종합해 볼 때, 다량의 PUFA식이라도 vitamin E 수준이 정상이면 체내 과산화계에 별 영향이 없지만 다량의 PUFA식이나 vitamin E가 결핍된 식이의 섭취는 노화 및 발암을 촉진할 수 있다는 가능성을 내포하고 있다고 볼 수 있다.

따라서 high PUFA식에서의 vitamin E의 수준과 과산화의 관계는 중요한 과제로 앞으로 여러 측면으로 검토되어져야겠다고 사료된다.

요 약

High PUFA식과 vitamin E 함량이 흰쥐 간장내의 지질과산화에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 45Kcal% 고불포화 옥수수유의 정상적 vitamin E 함량을 가한 식이군(PF군)과 45Kcal% 고불포화 옥수수유의 가한 PF군에 vitamin E를 5배 첨가한 식이군(PFE군), 45Kcal% 고불포화 옥수수유 식이에 vitamin E를 가하지 않은 식이군(PFO군)을 실험군으로 하여 3주, 6주 및 9주간 사육한 후 간장에서의 vitamin E 함량과 과산화지질량 및 SOD와 GPX활성을 조사하였다.

High PUFA식에 vitamin E를 정상적으로 가한 PF군은 대조군과 차이가 나타나지 않았으나, vitamin E를 충분히 첨가한 식이 PFE군은 식이내 vitamin E 공급이 부족한 PFO군보다 vitamin E 함량과 GPX활성이 증가하였고, SOD활성과 과산화지질량은 현저하게 감소하였다.

식이 투여기간별로는 PF군과 PFE군에 비해 PFO군이 실험기간이 경과할 수록 vitamin E 함량과 GPX활성이 감소하였으나, SOD활성과 과산화지질량은 현저히 증가하였다.

References

- 1) Iritani N, Fukuda E, Kitamura Y. *Effect of corn oil feeding on lipid peroxidation in rats. J Nutr* 110 : 924-930, 1980
- 2) Witting LA. *Vitamin E and polyunsaturated lipid*

- relationship in diet and tissues. Am J Clin Nutr* 27 : 952-959, 1974
- 3) 이기열, 안홍석, 이양자. 동맥경화증과 관련된 대사장애와 예방 및 치료식이 : (지방P/S비율)을 중심으로. 한국영양학회지 12 : 9-11, 1979
 - 4) Horwitt MK. In *Mordern nutrition in health & diseases, "chapter 5, section D. vitamine E"*, 5th ed by Goodhart R & ME Shils. Philadelphia, Lea & Febiger, 1952
 - 5) 이양자, 광동경, 이기열. *Vitamin E*와 불포화지방과의 관계. 한국영양학회지 9(4) : 19-27, 1976
 - 6) 이성우. 신고 식품화학. 수학사, 서울 193-204, 1983
 - 7) Poling CE, Warner WD, Mone PE, Rice EE. *The nutritional value of fats after use in commercial deep-fatfrying. J Nutr* 72 : 109-120, 1960
 - 8) 이양자. 유지식품의 영양생화학적 의의. 한국영양학회지 11(2) : 6-23, 1978
 - 9) 이경숙, 이순재. 가열유가 흰쥐 간장내의 지질 과산화에 미치는 영향. 한국영양학회지 20(1) : 15-24, 1987
 - 10) Chow CK, Reddy K, Tappel AL. *Effect of dietary vitamine E on the activities of glutathione peroxidase system in rat tissues. J Nutr* 103 : 618-624, 1973
 - 11) Tappel AL. *Lipid peroxidation damage to cell components. Fed Proc* 32 : 1870-1874, 1973
 - 12) Kinsell LW, Michael GD, Frisdey RW, Brown FR, Fudeko Maruyama. *Essential fatty acid, lipid transport and degenerative vascular disease. Circulation* 14 : 484-486, 1956
 - 13) Scott ML. *Advances in our understanding of vitamin E. Fed Proc* 39 : 2736-2739, 1980
 - 14) Stampfer MJ, Willett W, Castelli WP, Taylor JO, Fin J, Hennekens CH. *Effect of vitamin E on lipids. Am Soc Clin Pathol* 79 : 714-716, 1983
 - 15) Tappel AL. *Vitamin E and selenium protection from in vivo lipid peroxidation, In Micronutrient interactions(ed Levander OA, Cheng L). Ann NY Acad Sci, New York* 18-28, 1980
 - 16) Zalkin H, Tappel AL. *Studies of the mechanism of vitamin E action. IV Lipid peroxidation in the vitamin E deficient rabbits. Arch Biochem biophys* 88 : 113-117, 1960
 - 17) Yu WA, Yu MC, Young PA. *Ultrastructural changes in the cerebrovascular endothelium induced by a diet high in linoleic acid and deficient in vitamin E. Exp Mol Path* 289-299, 1974
 - 18) Reeknagel RO, Glende EA Jr, Hruszkewycz AM. *Chemical mechanism in CCl₄ toxicity, In Free Radicals in biology(WA Pryor ed). Vol III, 97-132 Academic press, New York, 1977*
 - 19) Burk RF, Lawrence RA, Lane JM. *Liver necrosis and lipid peroxidation in the rat as a result of paraquat and diguat administration. J Clin Invest* 1024-1031, 1980
 - 20) Satoh K. *Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clinica Chimica Acta* 90 : 37-43, 1978
 - 21) Kayden HJ, Chow CK, Bjornson LK. *Spectrophotometric method for determination of α-tocopherol in red blood cells. J Lipid Res* 14 : 533-540, 1973
 - 22) Taylor SL. *Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis. Lipids* 11 : 530-538, 1976
 - 23) Hawk PB, Oser BL, Summerson WH. *Ferric Chloride dipyridyl method(Emmenrie-Engel reaction), Practical Phsio. Chem 13th ed. J LA Churchill LTD* 1272-1273, 1956
 - 24) Marklund S, Marklund G. *Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem* 47 : 469-474, 1974
 - 25) Paglia ED, Valentine WN. *Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med* 70 : 158-169, 1967
 - 26) Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. *Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. J Biol Chem* 177 : 751-766, 1949
 - 27) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. *Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
 - 28) Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical methods, 6th ed. Iowa State University Press, Iowa*

- 1, 1967
- 29) Haber F and Weiss J. *The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by salt. Proc Roy Soc Ser A* 147 : 332-351, 1934
- 30) Misra HP, Fridovich I. *The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. J Biol Chem* 247 : 6960-6962, 1972
- 31) Misra HP. *Generation of superoxide free radical during the autoxidation of the thiols. J Biol Chem* 249 : 2151-2155, 1974
- 32) Fridovich I. *The biology of oxygen radicals, the superoxide radical is an agent of oxygen toxicity : superoxide dismutases provide an important defense. Science* 201 : 875-880, 1978
- 33) Rolando FDM. *An approach to free radicals in medicine and biology. Acta Physiol Scand* 492 (Suppl) : 153-168, 1980
- 34) Rolando FDM, Howard HT, Jakob B, Manfred P, Karl EA. *Free radicals as mediators of tissue injury. Acta Physiol Scand* 492(Suppl) : 43-57, 1980
- 35) Halliwell B. *Biochemical mechanisms accounting for the toxic action of oxygen on living organisms : the key role of superoxide dismutase. Cell Biol Int Rep* 2 : 113-128, 1978
- 36) Susan MD, Barry LF. *Normobaric oxygen toxicity of the lung. N Engl J Med* 303 : 76-86, 1980
- 37) Egan RW, Paxton J, Kuehl FA. *Mechanism for irreversible self-deactivation of prostaglandin synthetase. J Biol Chem* 252 : 7329-7341, 1976
- 38) Emerit I, Cerutti PA. *Tumor promoter phorbol-12-myristate-13-acetate induces chromosomal damage via indirect action. Nature* 293 : 144-146, 1981
- 39) Emerit I, Cerutti PA. *Tumor promoter phorbol-12-myristate-13-acetate induces a clastogenic factor in human lymphocytes. Proc Natl Acad Sci* 79 : 7509-7513, 1982
- 40) Emerit I, Cerutti PA. *Clastogenic action of tumor promoter phorbol-12-myristate-13-acetate in mixed human lymphocyte cultures. Carcinogenesis* 4 : 1313-1316, 1983
- 41) Kenslor TW, Trush MA. *Role of oxygen radicals in tumor promotion. Environ Mutagenesis* 6 : 593-616, 1984
- 42) Bus JS, Aust SD, Gibson JE. *Superoxide and singlet oxygen-catalyzed lipid peroxidation as a possible mechanism for paraquat(methyl viologen) toxicity. Biophys Res Commun* 58 : 749-753, 1974
- 43) Antonini E, Brunori M, Greenwood C, Malström BG. *Catalytic mechanism of cytochrome oxidase. Nature* 288 : 936-937, 1970
- 44) McCord JM, Fridovich I. *Superoxide dismutase ; An enzymatic function for erythrocyte(hemocuprein). J Biol Chem* 244 : 6049-6055, 1969
- 45) Chance B, Sies H, Boveris A. *Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. Physiol Rev* 59 : 527-605, 1979
- 46) Halliwell B. *Biochemical mechanisms accounting for the toxic action of oxygen on living organisms ; the key role of superoxide dismutase. Cell Biol Int Rep* 2 : 113-128, 1978
- 47) Mavelli I, Ciriolo MR, Rotilio G, De Sole P, Castorino M, Stabile A. *Superoxide dismutase, glutathion peroxidase and catalase in oxidative hemolysis ; A study of Fanconi's anemia erythrocytes. Biochem Biophys Res Commun* 106 : 286-290, 1982
- 48) Olson RE. *Creatine kinase and myofibrillar proteins in hereditary muscular dystrophy and vitamin E deficiency. Am J Clin Nutr* 27 : 1117-1129, 1974
- 49) Hulstraert CE, Gijzel WP, Hardonk MJ, Kroon AM, Molenaar I. *Cellular membranes and membrane-bound enzymes in vitamin E deficiency. Lab Inv* 33 : 176-186, 1975
- 50) Yang NYJ, Desai ID. *Effect of high levels of dietary vitamin E on liver and plasma lipid and fat soluble vitamins in rats. J Nutr* 107 : 1418-1426, 1977
- 51) 함윤애, 홍영숙, 성낙응. 흰쥐에 vitamin antioxi-

- dants*투여가 *lipid peroxidation*에 미치는 영향.
이화의대지 5(3) : 109-116, 1982
- 52) Davon DH, Menzel DB. *Effect of dietary fat and vitamin E on mouse lung lipids. J Nutr* 109 : 1856-1864, 1979
- 53) Abraham S, Faulkin LJ, Hillyard LA, Mitchell DJ. *Effect of dietary fat on tumorigenesis in the mouse gland. J Natl Cancer Inst* 72 : 1421-1429, 1984