

ω6/ω3 계 불포화지방산을 투여한 후 혈장의 지질조성과 Tocopherol, Malondialdehyde 형성 및 적혈구의 Hemolysis 변화에 대한 Kinetic 연구

홍 미 라 · 박 현 서
경희대학교 가정대학 식품영양학과

Kinetic Study on Variations of Lipids, Tocopherol and Malondialdehyde
Levels of Plasma and Red Blood Cell in Young Women fed Dietary
ω6/ω3 Polyunsaturated Fatty Acids

Hong, Mi Ra · Park, Hyun Suh
Department of Foods and Nutrition, Kyung Hee University

ABSTRACT

Ten college women were treated with either corn oil(CO, as a source of C18 : 2, ω6) or fish oil concentrates(FO, as a source of C20 : 5+C22 : 6, ω3) with experimental diet for 7 days and then returned to normal home made diet. Kinetic changes of plasma and RBC lipids, tocopherol, MDA levels and hemolysis were observed at day-0, -3, -7, -8, -10, -14 and -21 of experimental periods. Plasma and RBC tocopherol contents were significantly increased at day-3 and -7 by tocopherol supplement in dietary oil, but there was no significant difference between CO and FO diet with large dose of tocopherol supplement. After stop experimental regimen at day-7, plasma tocopherol content was sustained at high level until day-10 but drastically decreased at day-14 and remained at low level at day-21. However, RBC tocopherol level was not greatly responded to the dietary intake of tocopherol and was varied in the very narrow range. MDA levels of plasma and RBC were not responded in the same way as tocopherol content of plasma. MDA content of RBC was very low compared to that of plasma. RBC hemolysis by incubation in hypotonic solution was negatively correlated to plasma tocopherol level and was not correlated to the level of MDA in either plasma or RBC. There were no significant change in the levels of plasma cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, phospholipid, and lipoprotein pattern through experimental periods.

KEY WORDS : ω6/ω3 · polyunsaturated fatty acids · fish oil · tocopherol · malondialdehyde
· hemolysis.

서 론

식이중 포화지방산을 불포화지방산(polyunsaturated fatty acid : PUFA)으로 대체해서 총 열량섭취의 40%수준으로 투여했을 때 plasma cholesterol과 low density lipoprotein-cholesterol(LDL-cholesterol)이 25~30% 감소되었으며, hypercholesterolemia 환자에서는 plasma Chol과 LDL이 감소했을 때 관상동맥 심장질환(coronary heart disease : CHD)의 발병율이 반으로 줄었다고 했다¹⁾²⁾. 또한 생선이나 어유가 허혈성 심장질환(ischemic heart disease : IHD) 및 혈전증, 심장병 등의 예방에 좋다는 보고^{3)~7)}가 많아 점차 섭취가 증가되고 있는 추세이나 그 속에 함유된 eicosapentaenoic acid (EPA)와 docosahexaenoic acid(DHA)는 불포화도가 대단히 높기 때문에 산패되기 쉬워 그에따른 문제점이 야기되었다.

Tocopherol 필요량은 총 PUFA 함량에 따라 결정되는데 fish oil의 총 PUFA함량은 corn oil에 비하여 더 적은양 함유되어 있지만 불포화지방산의 불포화도가 훨씬 더 높아서 tocopherol 필요량도 증가할 것으로 생각되며, 또 tocopherol을 식이의 PUFA 함량에 비례하여 섭취한다고 해도 조직내에서는 tocopherol의 turn-over가 PUFA보다 짧아 섭취된 tocopherol은 계속 조직을 보호할 수 없게 될지도 모르며, 다른 prooxidants들에 의해서 peroxidation 반응이 시작되어질 수 있다고 보고했다^{8~12)}. 본 연구실에서 여대생들에게 포화지방산과 monoenoic fatty acid(MFA)의 양은 비슷한 수준으로 제공하면서 지방산중 linoleic acid가 높은 corn oil과 linolenic acid가 높은 들기름(perilla oil), 그리고 EPA와 DHA가 높은 fish oil을 1주일간 투여했을 때 plasma와 적혈구에서 tocopherol 양과 malondialdehyde(MDA) 형성에서 유의성 있는 변화를 보지 못했다¹³⁾. 그러나 위에서 언급한 것처럼 조직내에서는 PUFA보다 tocopherol이 더 빨리 turn-over될지도 모른다는 보고⁹⁾에 의하여 본 연구에서는 7일동안 실험식이를 투여하고 중단한 이후에도 14일간 더 plasma와 적혈구의 toco-

pherol과 MDA 형성, 지질조성 등이 시간이 경과함에 따라 어떻게 변하는가를 관찰해 보고자 시도하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험대상자

실험대상자는 대학에 재학중인 22세~27세 사이의 여자 10명을 선정하였으며, 체중은 50~60kg (평균 55kg)이고 실험전 병을 앓은 적이나 기타 다른 약물복용이 없었으며 이들을 5명씩 Corn oil (CO)군과 fish oil(FO)군으로 나누어 1주일간 실험식이를 투여했다. 체중증가는 매일 측정했으며 음식은 매끼마다 주어진 양을 남기지 않도록 하였다.

2. 실험계획

피실험자 10명을 CO군과 FO군으로 나누어 실험식이를 7일간 먹인 후 중단하고 그 이후는 각자 자유롭게 평상시의 식이를 먹게 하였으며, 혈액채취는 실험식이 투여전에 채취한 것을 0 time으로 하고는 실험을 시작해서 3일, 7일, 8일, 10일, 14일, 21일째 되는 날 각각 공복의 혈액을 채취해서 plasma를 분리한 뒤 필요한 분석에 사용되었다.

3. 실험식이

실험식이의 총 열량은 1,800Kcal로서 그중 단백질이 15%, 지방은 투여한 기름을 포함하여 30%, 당질 55%로 하였고, 투여한 기름과 식이의 지방산 분포는 Table 1에 제시되었다. 본 연구에서는 불포화지방산의 종류에 따른 영향을 주로 관찰하고자 하였으며, monoenoic fatty acids와 saturated fatty acids의 합을 거의 동일하게 조절하기 위해서 CO군의 경우는 닭고기 80g과 corn oil 36g을 제공했으며, FO군에서는 고등어 120g, 쇠고기 40g, coconut oil 22.5g을 fish oil 13.5g과 함께 제공했으며, 두 종류의 기름중 fish oil concentrate는 capsule로서(삼진케미 : Marinol) 매끼 4.5g을 섭취하게 했고 corn oil도 capsule로 만들어 매끼 12g씩 음식과 함께 섭취하게 했다.

이때, 지방산의 산패를 막기 위해서 fish oil cap-

Table 1. Fatty acid compositions of experimental diet

Dietary Groups	Fatty acids ¹⁾					
	SFA ²⁾	MFA	PUFA	C18 : 2	C18 : 3	C20 : 5+C22 : 6
CO Diet	10.04	8.61	5.18	4.29	0.75	0.04
Corn oil(36g)	5.84	11.80	18.20	17.73	0.46	—
Total	15.88	20.41	23.38	22.02	1.21	0.04
FO Diet	10.51	7.86	6.64	2.23	0.81	0.60
Coconut oil(22.5g)	6.53	1.36	0.42	0.42	—	—
Fish oil(13.5g)	3.43	3.82	5.55	—	—	5.00
Total	20.47	13.04	12.61	2.65	0.81	5.60

- 1) All values are expressed in g/day.
- 2) saturated fatty acids greater than C12 : 0
- SFA : saturated fatty acids
- MFA : monoenoic fatty acids
- PUFA : polyunsaturated fatty acids

sule속에 첨가한 tocopherol양(1.2g%)과 수준을 맞추기 위하여 CO군은 corn oil에 함유된 천연 tocopherol양(14mg/36g oil)을 감안해서 1일 200 IU의 그랑페롤(dl- α -tocopherol : 유한양행)을 같이 섭취하게 했다.

4. 혈액채취방법

Fig. 1에서와 같이 혈액은 실험시작전(day-0)과 실험식이 투여하는 3일째(day-3), 7일째 되는날(day-7)과 실험식이 투여가 끝난 후 1일(day-8), 3일(day-10), 7일(day-14), 14일째 되는날(day-21)에 모두 7번 채취하였다. 혈액을 채취하기 전날 밤 9시 이후에는 금식시켜 아침 식사전에 주정맥에서 채혈하여 3.8% sodium citrate로 처리한 뒤 즉시 1,500×g에서 30분간 원심분리하여 plasma를 분리하였다. 적혈구(red blood cell : RBC)는 plasma를

분리한 후 phosphate buffer(pH 7.4)로 세번 씻은 후 hematocrit(Hct.)이 40~50%가 되게끔 RBC suspension을 만들었으며 이 Hct 값은 나중에 계산에 이용되었다. HDL-chol fraction은 4℃에서 plasma를 분리한 후 2시간 이내에 분리하여 즉시 cholesterol을 분석하였다. 또한 같은 날 plasma 0.02ml을 전기영동하여 HDL, LDL, VLDL fraction의 상대적인 양을 측정하였으며, 나머지 plasma는 -40℃에 냉동보관 하였다가 일정량을 취하여 TG, phospholipid(PL), tocopherol, MDA양을 측정하였다. 또 RBC suspension도 -40℃에 냉동보관하였다가 잘 혼합한 뒤 일정량을 취하여 tocopherol과 MDA양을 측정하였다.

5. 생화학적 분석

HDL-cholesterol은 Burnstein등의 방법¹⁴⁾으로 4

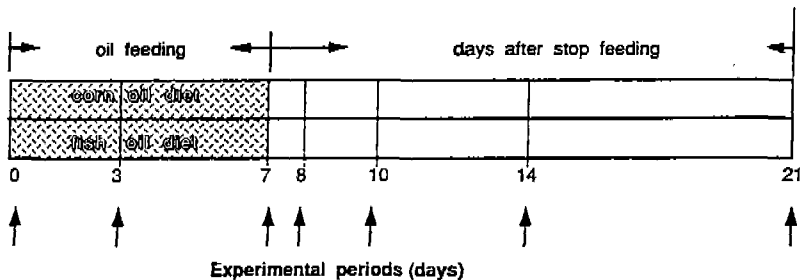


Fig. 1. Experimental design. †: blood sampling.

℃를 유지하면서 plasma 2ml에 sodium phosphotungstic acid(4g/dl) 200 μ l, MgCl₂(2mol/l) 50 μ l를 첨가한 후 잘 혼합하여 1500 \times g(4℃)에서 30분간 원심분리하여 나머지 침전된 β -lipoprotein을 제거하고 상층액인 HDL-fraction을 분리하여 cholesterol 농도를 측정하였다. Cholesterol은 T-choles. 5 효소시약 kit (국제화학)를 사용해서 HDL-fraction과 plasma의 total cholesterol 함량을 측정하였다. 이때 효소시약과 발색시약을 혼합한 다음 최종 농도가 8.0mmol/l이 되도록 Na-EDTA를 첨가하여 Mg를 제거한 다음 사용하였다. Lipoprotein pattern은 혈액에서 plasma를 분리한 당일에 Tris-barbital buffer solution(pH 8.6~9.0)과 cellulose acetate plate를 사용하여 20 μ l plasma를 전기영동(180 vol, 30mint)하여 lipoprotein fraction (HDL, LDL, VLDL)을 분리하고 Oil Red O로 염색한 뒤 각 fraction의 상대적인 양(%)을 densitometer로 측정하였다⁴⁰). Plasma triglyceride는 Fletcher 방법¹⁵)으로 분석하여 표준용액 triolein의 값과 비교하여 정량하였다. Plasma PL 분석은 Barlett방법¹⁶)으로 분석하여 UV-visible spectrophotometer를 사용하여 파장 830nm에서 흡광도를 측정하여 표준용액(1mM KH₂PO₄)의 값과 비교하여 정량하였다. Plasma tocopherol은 Desai방법¹⁷)을 약간 변형하여 이용하였는데 0.5ml plasma에 1ml pyrogallol(2% in ethanol)을 넣어 잘 혼합하여 다시 70℃에서 2분간 incubation한다. 냉각 후 0.15ml 포화 KOH를 넣고 잘 혼합하여 다시 70℃에서 30분간 incubation 시킨 다음 0.5ml 증류수와 2ml의 hexane을 넣어 vortex mixer로 2분간 잘 혼합하여 500 \times g에서 10분간 원심분리시켜 상층액을 spectrophotometer를 사용하여 excitation 295nm, emission 340nm에서 형광도를 측정하여 표준액(dl- α -tocopherol) 값과 비교하여 정량하였다. 적혈구의 tocopherol양은 잘 혼합한 RBC suspension 0.5ml에다 pyrogallol(2% in ethanol) 2.5ml를 잘 혼합한 뒤 70℃항온조에서 2분간 가열한 후 냉각시켜 0.13ml 포화 KOH를 넣고 혼합하여 70℃ 항온조에서 다시 30분간 가열시킨다. 냉각 후 1.9ml 증류수와 5.5ml hexane을 넣고 vortex에서 2분간 혼합한

뒤 plasma에서와 똑같은 방법으로 측정하였다. Malondialdehyde 측정은 Yagi 방법¹⁸)에 의하여 plasma는 0.02ml 사용하였고 RBC suspension은 0.1ml를 취하여 순서대로 분석하여 excitation 515 nm, emission 533nm에서 상층액의 형광도를 spectrofluorometer로 측정하여 표준액(1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane) 값과 비교하여 정량하였다. Hemolysis 정도는 Drapper와 Csallany의 방법¹⁹)에 의하여 0.02ml의 whole blood를 duplicate로 취하여 순서대로 처리한 후 상층액을 UV-visible spectrophotometer를 사용하여 415nm에서 흡광도를 측정한다. 이때 증류수를 첨가한 시험관을 100% hemolysis로 가정하고 각 sample의 hemolysis 정도를 %로 계산한다. 통계처리는 CO군과 FO군에 있어서 혈장지질, tocopherol농도, MDA농도, 적혈구 용혈현상에 대해서 실험식이 투여기간 동안과 투여 중단 후의 각 날짜에 대한 비교와 군간의 차이를 Student's t-test에 의해 검증하였다⁴¹).

결과 및 고찰

1. Plasma Tocopherol

Table 2와 Fig. 2에 제시된 것과 같이 실험식이 투여기간 3일째에는 CO와 FO군 다 약간 증가되었고 7일째에는 유의성 있게 증가되었다. 두 군다 정상시보다 불포화지방산. 섭취를 더 하였으나 FO군의 fish oil concentrate에 항산화제로 투여한 tocopherol양이 높은 관계로(d- α -tocopherol 162mg/13.5g oil) 이와 수준을 맞추기 위해서 CO군에도 corn oil 자체내에 함유된 천연 tocopherol함량(약 14mg d- α -tocopherol/36g oil)을 고려하고도 대상자에게 매일 200IU의 dl- α -tocopherol을 먹였기 때문에 plasma tocopherol양이 증가되었다. 이런 결과는 동물과 인체실험에서^{20~24}) 보고되었는데 혈액내 tocopherol양은 tocopherol 투여기간과 양에 따라 증가된다고 했다. 그러나 실험식이 투여 7일째 될때 두 군사이의 tocopherol양은 약간의 차이는 있었으나 유의성은 없었다. CO군의 식이의 PUFA양이 FO군보다 더 높았는데 plasma tocopherol양에는 큰 영향을 주지 않았던 것은 CO군

Table 2. Variations of tocopherol and malondialdehyde levels and hemolysis in human subjects fed different polyunsaturated fatty acids¹⁾

Parameters	Days						
	0	3	7	8	10	14	21
CO group							
Plasma-Toco ($\mu\text{g/ml}$ plasma)	11.23 \pm 1.48 ^a	12.66 \pm 3.50	15.86 \pm 3.27 ^{ba}	15.78 \pm 2.54	14.75 \pm 2.74	7.79 \pm 0.19 ^b	6.09 \pm 0.10 ^b
RBC-Toco ($\mu\text{g/ml}$ blood)	0.71 \pm 0.10 ^a	0.77 \pm 0.20	0.99 \pm 0.10 ^{ba}	0.73 \pm 0.09 ^b	0.74 \pm 0.26	0.60 \pm 0.13 ^b	0.49 \pm 0.01 ^b
Plasma-MDA (nmol/ml plasma)	0.691 \pm 0.122 ^a	0.482 \pm 0.022 ^b	0.442 \pm 0.046 ^{ba}	0.369 \pm 0.086 ^a	0.557 \pm 0.030 ^b	0.398 \pm 0.017	0.432 \pm 0.031 ^b
RBC-MDA (nmol/ml blood)	0.008 \pm 0.003	0.008 \pm 0.001	0.010 \pm 0.005	0.005 \pm 0.001 ^b	0.005 \pm 0.001 ^b	0.006 \pm 0.001	0.007 \pm 0.001
Hemolysis(%)	10.6 \pm 3.4 ^a	9.3 \pm 2.4 ^a	5.5 \pm 1.4 ^{ba}	6.3 \pm 1.4	6.8 \pm 0.6	8.4 \pm 1.8 b	6.1 \pm 0.1 ^{bb}
FO group							
Plasma-Toco ($\mu\text{g/ml}$ plasma)	9.22 \pm 1.29 ^a	11.46 \pm 2.22	12.66 \pm 1.51 ^{ba}	13.32 \pm 1.05	13.00 \pm 0.82	7.59 \pm 0.19 ^b	6.01 \pm 0.12
RBC-Toco ($\mu\text{g/ml}$ blood)	0.66 \pm 0.13	0.59 \pm 0.11	0.72 \pm 0.11 ^a	0.62 \pm 0.11	0.60 \pm 0.13	0.50 \pm 0.03 ^b	0.56 \pm 0.06
Plasma-MDA (nmol/ml plasma)	0.639 \pm 0.770 ^a	0.479 \pm 0.028 ^b	0.469 \pm 0.022 ^{ba}	0.410 \pm 0.020	0.553 \pm 0.025 ^b	0.310 \pm 0.010 ^b	0.434 \pm 0.010
RBC-MDA (nmol/ml blood)	0.007 \pm 0.001	0.007 \pm 0.001	0.008 \pm 0.002 ^a	0.006 \pm 0.002	0.005 \pm 0.001 ^b	0.005 \pm 0.001 ^b	0.007 \pm 0.001
Hemolysis(%)	10.9 \pm 5.7 ^a	10.6 \pm 2.5 ^a	5.9 \pm 0.9 ^b	6.5 \pm 2.7	6.6 \pm 1.3	7.7 \pm 1.8	7.6 \pm 1.1

1) Mean \pm S.D.

Significance for the values of day-0, -3, -7, -21 were indicated by capital letters and those of day -7, -8, -10, -14, -21 by small letter (p<0.05).

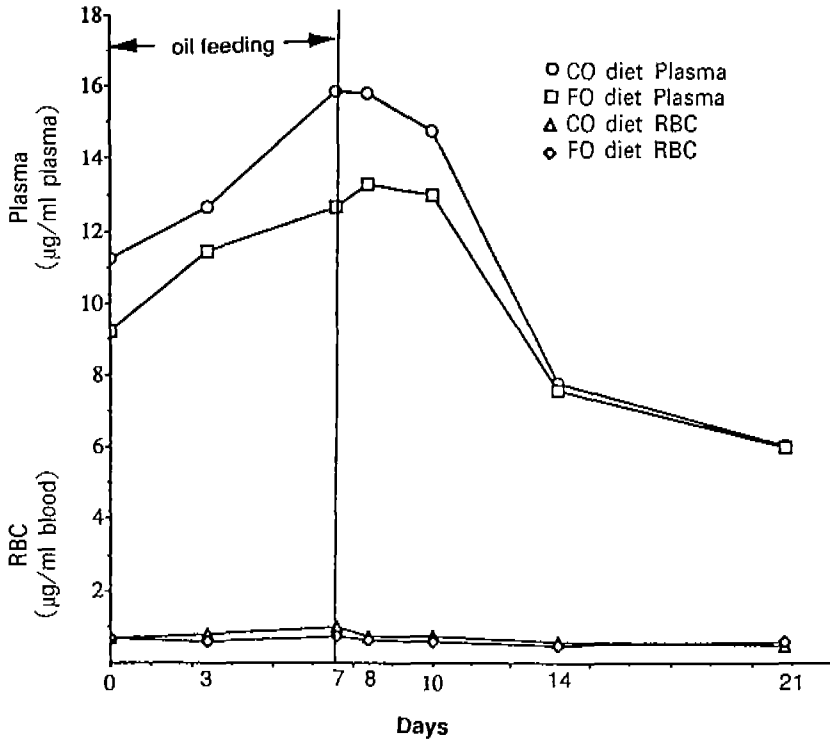


Fig. 2. Variations of plasma and red blood cell tocopherol contents of human subjects fed $\omega 6/\omega 3$ polyunsaturated fatty acids.

의 LA(C18:2)에 비하여 FO군의 EPA(C20:5)와 DHA(C22:6)의 불포화도가 훨씬 높아 CO와 FO군의 상대적 총불포화도는 크게 다르지 않았기 때문이라고 사려된다. 또한 7일동안 실험식이를 투여하고 중단한 후 3일째(day-10)까지는 plasma tocopherol양은 두 군다 큰 변화가 없었으나 중단 후 7일째(day-14)에는 유의성 있게 급강하하여 14일째(day-21)에는 거의 같은 수준으로 유지되었으나 실험식이 투여전보다는 두 군다 오히려 유의성 있게 더 낮은 수준이었다.

2. RBC Tocopherol

RBC에서는 plasma에서와 같은 급격한 변화는 관찰할 수 없었으나 두 군다 완만하게 반응하여 실험식이 투여 7일째에는 약간 증가되었으며 중단 후 7일째(day-14)에는 실험식이 투여 7일째 되는 날보다는 유의성 있게 감소되었다.

전체적으로 보아 RBC의 tocopherol 함량변화는

plasma와 비슷한 모양으로 반응했으나 훨씬 더 완만하게 서서히 농도의 변화가 있었는데 이것은 동물실험에서 나타난 것처럼²⁵⁾²⁶⁾ plasma tocopherol은 조직에서의 tocopherol 함량변화보다도 더 예민하게 반응한다는 것과 일치하는 결과를 얻었다.

3. Malondialdehyde

Table 3과 Fig. 3에 제시된 것과 같이 실험식을 투여함에 따라 두 군 모두 plasma tocopherol농도가 증가하는 것과는 반대로 plasma MDA 농도는 감소되어서 실험식이 투여전에 비해서 3일, 7일째 모두 유의성 있게 감소되었다. 그러나 RBC의 MDA 형성은 plasma에 비하면 약 1~2%에 해당되는 낮은 농도일 뿐만 아니라 tocopherol 함량변화와 관련성을 보이지 않았다. 그러므로 RBC에 유입된 tocopherol량과 MDA형성은 서로 무관한 것인지 또는 이미 RBC membrane에 존재하는 tocopherol이 MDA형성을 막기에 충분한 것인지 본

Table 3. Variations of plasma lipids in human subjects fed different polyunsaturated fatty acids¹⁾

Parameters ²⁾	Days						
	0	3	7	8	10	14	21
CO group							
Chol	162.1±23.6	162.0±8.8	158.4±5.5 ^a	159.8±5.5	134.8±10.3 ^b	162.5±8.1	171.4±7.2 ^b
HDL-cho	77.0±10.8 ^a	58.4±13.2 ^b	67.4±4.3 ^a	69.0±5.9	57.3±6.9 ^b	64.7±3.9	69.3±6.4
TG	149.3±35.5	138.6±5.9	149.4±18.0 ^a	146.7±8.8	155.4±13.7	181.0±21.3 ^b	181.9±22.3 ^b
PL	315.2±65.0	299.6±20.5	305.6±18.3 ^a	280.5±19.5	250.1±56.8	219.7±27.7 ^b	257.2±35.3
TL	626.6±116.3	598.1±28.9	613.3±22.1	587.0±29.0	540.4±69.6	563.2±38.2	620.9±0.1
FO group							
Chol	145.1±14.8	137.3±15.9	137.8±9.6 ^a	147.1±13.6	123.0±10.5 ^b	146.2±8.9	160.0±18.6 ^b
HDL-cho	73.4±11.3 ^a	59.4±5.1 ^b	63.5±8.6	65.6±5.9	57.3±6.8	65.4±4.8	69.5±8.3
TG	144.4±15.8	129.8±6.0 ^a	146.3±9.8 ^{ab}	140.2±8.5	146.9±14.9	178.2±9.1 ^b	164.5±15.5
PL	297.0±40.9	273.9±40.0	264.5±61.5	216.9±16.6	268.2±25.1	205.8±18.8	280.4±26.0
TL	589.0±44.2	539.2±54.6 ^a	570.3±57.6	504.1±26.8	538.0±32.4	530.2±36.1	618.8±10.7

1) Mean±S.D.

Significance for the values of day -0, -3, -7, -7, -21 were indicated by capital letter and those of day-0, -7, -8, -10, -14, -21 by small letter ($p < 0.05$).

2) All values are expressed in mg/dl plasma.

연구로서는 밝히기는 어렵지만 RBC의 MDA 형성은 불포화지방산을 일주일 동안 투여했을 때는 거의 변화가 없었다고 사려된다. 그리고 실험식을 중단한 이후에 plasma tocopherol 양은 유의성 있게 급격한 감소를 보여주었으나 MDA 형성은 약간 감소된 경향을 보이다가 중단 후 14일(day-21)까지 거의 같은 수준으로 머물러 있던 점으로 보아 본 연구의 대상자의 plasma tocopherol은 MDA 형성을 막기에 충분한 양이었기 때문에 MDA 형성에 큰 변화를 주지 않았을 가능성이 있다고도 본다. 이와같은 결과는 Buckingham과 그 이외의 연구²⁷⁾에서도 보고되었다.

4. Hemolysis

위에서 언급한 바와같이 실험식이 투여 후 plasma tocopherol 양은 증가하였으나 MDA는 약간 감소하는 추세를 보였으며, RBC의 hemolysis도 식이 투여 7일째에는 유의성 있게 감소되었다(Table 4). 그러나 두 군간의 차이는 볼 수 없었다. 이와 같이 plasma tocopherol 양이 증가함에 따라 RBC의 hemolysis가 감소된다는 결과는 이미 보고되었다²⁰⁾²⁹⁾. 한편 실험식을 투여하는 동안 RBC의 hemolysis는 RBC 자체내의 tocopherol보다 plasma의 tocopherol 농도와 더욱 좋은 역의 관계를 보여 주었다(Fig. 4). 이것은 Mino등³¹⁾이 행한 미숙아에 대한 연구와 상반된 결과이었으나 본 연구에서 나타난 것처럼 RBC hemolysis가 RBC tocopherol보다 plasma tocopherol의 영향을 더 직접적으로 받는다는 연구가 아직 많이 이루어지지 않았으므로 앞으로 더 연구할 필요성이 있다고 본다. 또 실험식이 중단 후의 결과를 보면 plasma tocopherol 함량의 변화가 3일째(day-10)까지는 큰 변화가 없었던 것처럼 RBC hemolysis도 큰 변화가 없었으나 7일째(day-14)되는 날에는 plasma tocopherol 함량은 급격하게 감소가 되었고 그에 반하여 RBC hemolysis는 약간 증가된 경향을 보여주었다. 이때 RBC의 tocopherol 함량은 매우 완만하게 감소된 것을 감안해 본다면 실험식이 투여 후에도 hemolysis는 RBC tocopherol보다 plasma tocopherol 변화에 더 민감하게 반응한다고 생각할 수 있겠다.

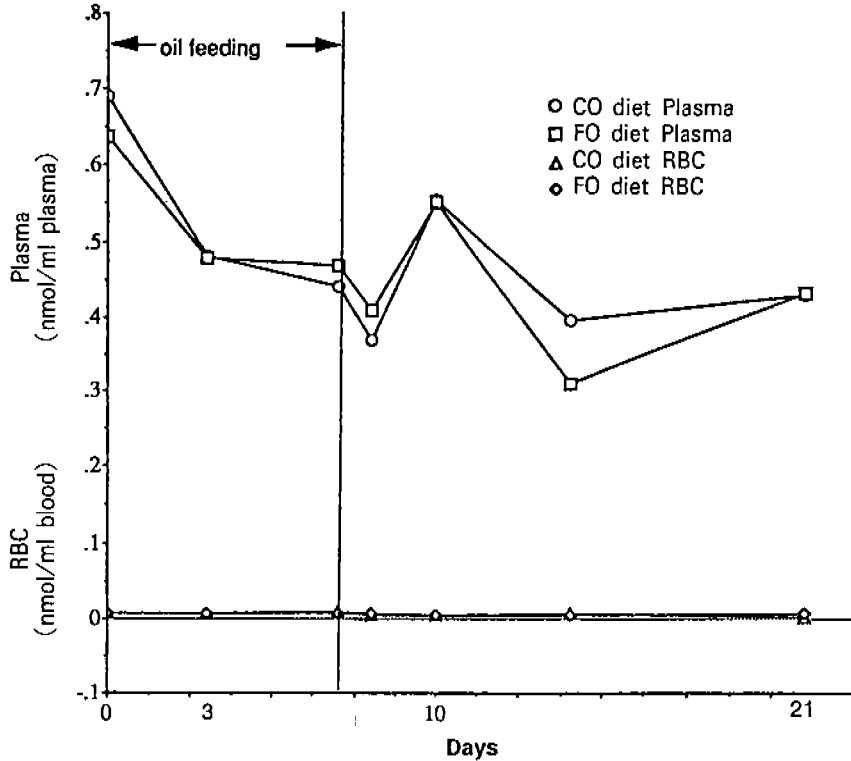


Fig. 3. Variations of plasma and red blood cell malondialdehyde levels of human subjects fed $\omega 6/\omega 3$ polyunsaturated fatty acids.

또 plasma MDA 농도와 hemolysis의 관계를 보면 (Fig. 4), hemolysis는 실험식이를 투여하는 동안 plasma tocopherol이 급격하게 증가하는 것에 반비례하여 감소하였다고 실험식이를 중단한 이후에 tocopherol이 감소되자 hemolysis는 다시 증가하는 추세를 보였다. 그러나 plasma MDA형성의 변화는 실험식이 투여기간 동안 약간 감소했다가 투여를 중단한 이후에는 큰 변화없이 계속 비슷한 수준을 유지한 점으로 보아 RBC의 hemolysis는 plasma MDA 농도와는 무관했던 것으로 사려된다.

5. Total Cholesterol

Plasma chol 농도는 실험식이를 투여하는 7일동안 두 군다 뚜렷한 변화양상을 관찰할 수 없었으며 (Table 3) 이것은 Sander³³⁾의 연구결과와 일치하였다. 그러나 식이투여를 중단한 후 3일째 (day-10)에는 유의성 있게 감소하다가 7일째 (day-

14)부터는 투여전과 거의 같은 수준을 유지하였는데 아마 이것은 실험식이로 많은 양의 지방을 섭취하다가 실험식이보다도 지방의 함량이 낮은 보통의 식이로 되돌아 감으로 인해서 일시적으로 그 농도가 감소하였다가 다시 원래의 수준으로 복귀된 것이 아닌가 사려된다.

6. HDL-Cholesterol

Table 3에서 보면 HDL-chol은 실험식이를 투여하는 기간 3일째는 유의성 있게 감소하였지만 7일째에는 다시 증가하였으나 여전히 원래 수준보다는 낮았다. 실험식이 투여를 중단한 후 HDL-chol 농도는 day-8일까지는 같은 수준이었으나 day-21일에는 실험식이 전과 거의 같은 수준을 유지했다. 이때 HDL-chol 농도는 두 군간에 유의성 있는 차이는 보이지 않았다. 본 연구에서는 실험식이 투여를 7일간 하였기 때문에 투여한 지방산 종류

Table 4. Variations of plasma lipoprotein pattern in human subjects fed different polyunsaturated fatty acids¹⁾

Parameters ²⁾	Days						
	0	3	7	8	10	14	21
CO group							
HDL	42.7±5.1	45.5±2.0	42.8±3.3	45.6±4.2	44.0±1.8	43.6±4.0	42.9±5.1
LDL	44.5±2.5	41.8±3.2	46.2±2.8 ^a	42.0±1.4 ^b	40.8±2.0 ^b	42.4±3.6	42.7±2.0
VLDL	12.8±4.7	12.7±3.3	10.9±3.8	12.4±4.1	15.3±3.3	14.1±3.8	14.4±6.2
FO group							
HDL	43.4±6.6	45.2±3.7	46.8±2.4 ^a	43.3±4.7	42.3±3.8 ^b	46.0±3.2	40.8±6.6 ^b
LDL	43.7±5.6	45.7±4.7	42.8±1.7 ^a	46.7±4.0	44.7±3.5	43.3±2.3	47.5±3.2 ^b
VLDL	12.8±7.1	9.1±2.7	10.4±2.3	10.0±2.1	13.2±1.2	10.7±2.1	11.7±5.4

1) Mean±S.D.

Significance for the value of day -7, -8, -10, -14, -21 was indicated by small letter ($p<0.05$).

2) All values are expressed in the relative % of total lipoprotein fraction.

HDL : high density lipoprotein

LDL : low density lipoprotein

VLDL : very low density lipoprotein

에 따라 HDL-chol 농도변화의 차이를 보지는 못하였지만 PUFA 양과 투여기간을 달리한 다른 연구에서는³³⁾³⁷⁻³⁹⁾ 섭취한 양과 기간에 비례하여 HDL-chol 농도가 변화하였다고 보고했다. 따라서 최소한 본 연구의 결과에 의하면 HDL-chol 농도의 변화를 관찰하고자 한다면 실험식이 투여기간을 최소한 2주일 이상 지속해야 한다고 볼 수 있겠다.

7. Triglyceride

Chol 농도와는 달리 TG 농도는 실험식이 시작 후 day-3일에는 약간 감소된 경향을 보였으나, day-7일에는 다시 증가되어 식이 투여 전과 거의 같은 수준이었으며 식이투여 중단 후 더 증가되어 day-14일에는 식이투여가 끝난 직후에 비해서 유의성 있게 증가되었으며, 이때 두 군은 거의 같은 수준을 유지했다. 실험 대상자들과의 면담조사에 의하면 실험식이 투여가 끝남에 대한 심리적인 해방감으로 먹지 못했던 또는 억제해 왔던 고당질음식(빵, 떡, 크래커, 초코렛, 아이스크림), 튀김류, 각종음료 등의 음식을 마음껏 먹었다고 한 것으로 보아 이로 인하여 TG 농도가 day-21일까지 유지할 것이 아닌가 사려된다.

8. Phospholipid와 Total Lipids

Plasma PL과 total lipid 농도의 변화(Table 3)는 실험식이를 투여한 7일 동안에는 유의성 있는 변화를 주지 못하였지만 투여를 중단한 day-10에는 total lipid는 감소되었다가 다시 증가되어 day-21일에는 실험식이 투여 전과 거의 같은 수준으로 되었으며 실험기간 동안 두 군간에는 큰 차이를 보이지 않았다. PL은 식이를 중단한 후 day-14까지 계속 감소하는 추세를 보이다가 day-21일에는 다시 투여 전과 거의 같은 수준을 유지하였다. PL에서도 실험기간 동안 두 군간의 차이는 보이지 못했다.

9. Lipoprotein Pattern

실험식이를 투여하는 동안 lipoprotein pattern의 변화는(Table 4) 유의성은 없었으나 CO군의 경우 실험식이 투여 7일째에는 HDL은 변화가 없었지만

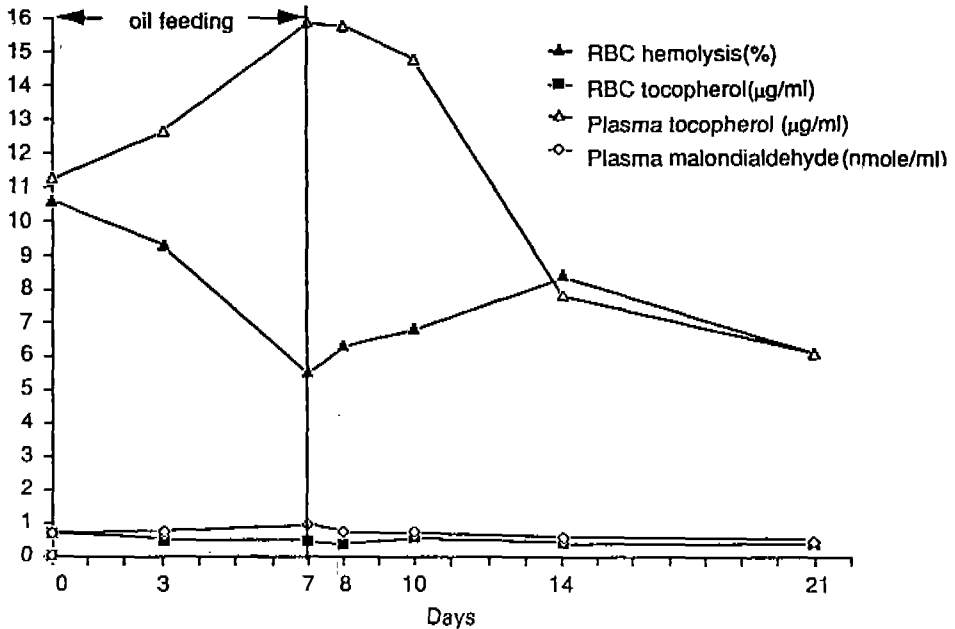


Fig. 4. Variations of hemolysis, tocopherol and malondialdehyde levels of human subjects fed corn oil diet.

VLDL은 약간 감소하였고 LDL은 약간 증가하는 경향을 보였으며 FO군에서는 HDL은 약간 증가하였으며 VLDL과 LDL은 약간 감소하는 추세를 나타냈다. 그러나 실험식이를 중단한 후 CO군의 경우 LDL은 처음에는 유의성 있게 낮아졌다가 점차 높아졌으며 VLDL은 투여를 중단한 후 유의성은 없었지만 더 높은 수준을 유지했다. 반면에 FO군에서는 투여를 중단한 후에는 HDL은 점차 유의성 있게 감소되었으며 LDL은 유의성 있게 증가되었다. 그러나 VLDL은 일관성이 없었고 거의 같은 수준이었다. 이와같이 실험식이를 7일간 투여하였을 때는 plasma lipoprotein pattern이나 지질농도에 영향을 줄 수 있을 만큼 충분한 기간이 아니었다고 사려된다.

결 론

1. Tocopherol 농도는 tocopherol을 식이와 같이 섭취함에 따라 plasma와 RBC에서 증가했으며, 이때 함께 섭취한 PUFA의 불포화도에 따른 차이는 보이지 않았다. Tocopherol 섭취를 중단한 후에는

감소하는 경향이었으며 RBC보다 plasma tocopherol 농도가 더욱 민감하게 반응하였다.

2. MDA 농도는 RBC와 tocopherol 농도의 변화와 같지 않았으며 RBC MDA 농도변화는 거의 무시해도 좋은 정도였고 plasma에서도 MDA 형성은 실험식이 투여하는 기간 동안은 약간 감소하였다가 중단한 후에는 거의 변화가 없었던 점으로 보아 실험대상자가 섭취하는 tocopherol양이 충분해서 MDA 형성에 영향을 주지 않았을 것이라고 본다.

3. RBC hemolysis는 plasma tocopherol의 함량과 더 밀접한 역비례 관계가 있었다.

4. 실험식이를 7일간 투여하는 것은 plasma의 lipoprotein pattern이나 지질농도에 영향을 줄 수 있을 만큼 충분한 기간이 아니었으며 실험식이 투여를 중단한 후에도 plasma 지질농도에 뚜렷한 변화를 주지 않았다.

Literature cited

- 1) Grandy SM: Treatment of hypercholesterole-

- mia. *Am J Clin Nutr* 30 : 985-992, 1977
- 2) Lipid research clinics program : The lipid research clinics coronary primary prevention trial results. The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease, total cholesterol lowering. *J Am Med Assoc* 251 : 365-374, 1984
 - 3) Dyerberg J, Bang HO, Hjorne N : Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am J Clin Nutr* 28 : 958-966, 1975
 - 4) Bang HO, Dyerberg J, Hjorne N : The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med Scand* 200 : 69-73, 1976
 - 5) Bang Ho, Dyerberg J : Plasma lipids and lipoproteins in Greenlandic West Coast Eskimos. *Acta Med Scan* 192 : 85-94, 1972
 - 6) Bang Ho, Dyerberg J, Sinclair HM : The composition of the Eskimos food in North Western Greenland. *Am J Clin Nutr* 33 : 2657-2661, 1980
 - 7) Bang HO, Dyerberg J : Lipid metabolism and ischemic heart disease in Greenland Eskimos. *Adv Nutr Res* 3 : 1-22, 1980
 - 8) Bieri JG, Everts RR : Tocopherols and polyunsaturated fatty acids in human tissues. *Am J Clin Nutr* 28 : 717-720, 1975
 - 9) Witting La : Vitamin E-polyunsaturated lipid relationship in diet and tissues. *Am J Clin Nutr* 27 : 952-959, 1974
 - 10) Horwitt MK : Vitamin E and lipid metabolism in man. *Am J Clin Nutr* 8 : 451-461, 1966
 - 11) Harmon EM, Witting LA, Horwitt MK : Relative rates of depletion of α -tocopherol and linoleic after feeding polyunsaturated fats. *Am J Clin Nutr* 18 : 243, 1966
 - 12) Mouri K, Ikesu H, Esaka, Igarashi O : The influence of marine oil intake upon levels of lipid, α -tocopherol and lipid peroxidation serum and liver of rats. *J Nutr Sci Vitminol* 30 : 307-318, 1984
 - 13) Han SH, Park HS : Effect of n³ polyunsaturated fatty acids on serum lipoprotein and lipid composition in human subjects. *Korean J Nutr* 21(1) : 61-74, 1988
 - 14) Burnstein M, Scholinck HR, Morfin R : Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res* 11 : 583-586, 1970
 - 15) Fletche MJ : A colorimetric method for establishing serum triglyceride. *Clin Acta* 22 : 393-398, 1968
 - 16) Bartlett GR : Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 234 : 466-468, 1959
 - 17) Desai ID : Vitamin E analysis methods for animal tissues. *Method in Enzymology* 105 : 138-155, 1984
 - 18) Yagi K : Lipid peroxidation in biology and medicine. p223, *Academic Press* : N.Y. 1982
 - 19) Drapper HH, Csallany AS : A simplified hemolysis test for vitamin E deficiency. *J Nutr* 98 : 390-394, 1968
 - 20) Bieri JG, Poukka RKH : In vitro hemolysis as related to rat erythrocyte content of α -tocopherol and PUFA. *J Nutr* 100 : 57-564, 1970
 - 21) Lehmann J, Marshall MW, Slover HT, Iacono JM : Influence of dietary tocopherol on plasma tocopherol of human subjects. *J Nutr* 107 : 1006-1015, 1977
 - 22) Leonhart E, Tore G : Effects of vitamin E on serum cholesterol and TG in hyperlipidemic patients treated with diet and clofibrate. *Am J Clin Nutr* 31 : 100-105, 1978
 - 23) Bunnel RH, De Ritter E, Rubin SH : Effect of feeding PUFA with a low vitamin E diet on blood levels of tocopherol in men performing hard physical labor. *Am J Clin Nutr* 28 : 706-711, 1975
 - 24) Christiansen MW, Wilcox EB : Dietary polyunsaturates and serum α -tocopherol in adults. *J Am Diet Assoc* 63 : 138-142, 1973
 - 25) Lehmann J : Comparative sensitivities of tocopherol levels of platelets, RBC and plasma for

Dietary $\omega 6/\omega 3$ PUFA and Tocopherol, MDA and Hemolysis

- estimating vitamin E nutritional status in the rat. *Am J Clin Nutr* 34 : 2104-2110, 1981
- 26) Bieri JG, Thorp SL, Tolliver TJ : Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on tissue vitamin E status. *J Nutr* 108 : 392-398, 1978
- 27) Buckingham KW : Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipids peroxidation in the rats. *J Nutr* 115 : 1425-1435, 1985
- 28) Hafeman DG, Hoekstra WG : Lipid peroxidation in vivo during vitamin E and selenium deficiency in the rat monitored by ethane evolution. *J Nutr* 107 : 666-672, 1977
- 29) Binder HJ, Spiro HM : Tocopherol deficiency in man. *Am J Clin Nutr* 20 : 594, 1967
- 30) Jager FC : Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous hemolysis in vitro. *Nutr Diet* 10 : 215, 1968
- 31) Mino M, Nakagawa S, Tamai H, Miki M : Clinical evaluation of red blood cell tocopherol. *Ann New York Acad Sci* : 175-178, 1982
- 32) Horwitt MK, Century B, Zeman A : Erythrocyte survival time and reticulocyte levels after tocopherol depletion in man. *Am J Clin Nutr* 12 : 99-106, 1963
- 33) Sanders TAB, Vickers M, Haines AP : Effect on blood lipids and homeostasis of supplement of cod liver oil, rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids, in healthy young man. *Clin Science* 61 : 317-324, 1981
- 34) Bronsgeest-Schoute HC, van Gent CM, Luten JB : The effect of various intake of $\omega 3$ fatty acids on the blood lipid composition in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr* 34 : 1752-1757, 1981
- 35) Bang HO, Dyerberg J : Plasma lipids and lipoprotein pattern in Greenlandic West Coast Eskimos. *Lancet* 1 : 1143-1146, 1971
- 36) Fehily AM, Burr ML, Phillips KM : The effect of fatty fish on plasma lipids and lipoprotein concentrations. *Am J Clin Nutr* 38 : 349-351, 1983
- 37) Saynor R, Verrel D, Gillott T : The long term effect of dietary supplementation with fish lipid concentrate on serum lipids, bleeding time, platelets and angina. *Atherosclerosis* 50 : 3-10, 1984
- 38) Lossonzy et al : The effect of a fish diet on serum lipids in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr* 31 : 1340-1346, 1978
- 39) Fehily AH, Milbank JE, Yornell JWG : Dietary determinants of lipoproteins, total cholesterol viscosity, fibrinogen and blood pressure. *Am J Clin Nutr* 36 : 890-896, 1982
- 40) Electrophoresis and laboratory procedures by Helena laboratory. ed. Golias TL. Vol. 7. Helena lipoprotein electrophoresis procedure, 1976
- 41) Statistical methods. Snedecor GW, Cochran WG. 6th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1967