

어유섭취시 식이 비타민 E 수준에 따른 흰쥐 체내 비타민 E, A, 글루타치온 상태의 기간별 변화*

조성희 · 임정교 · 최영선**

효성여자대학교 가정대학 식품영양학과

대구대학교 가정대학 식품영양학과**

Periodic Changes in Vitamin E, A and Glutathione Status in Rats Fed Fish Oil Diet with Different Levels of Vitamin E

Cho, Sung-Hee · In, Jung Gyo · Choi, Young-Sun*

Department of Food Science and Nutrition, Hyosung Women's University

*Department of Food and Nutrition**, Taegu University, Kyungbuk, Korea*

ABSTRACT

To investigate the role of vitamin E in protection against lipid per-oxide formation and to monitor the changes in the status of vitamin E, A and reduced glutathione(GSH) in fish oil feeding, male Sprague-Dawley rats were divided into four groups. Control group was fed soybean oil and fish oil groups(FO, FI, FII) fed menhaden oil and soybean oil(9 : 1) mixture at the level of 10% (w/w), respectively. Dietary vitamin E levels were 30 T.E. for control and FI, 2 T.E. for FO and 140 T.E. for FII. Feeding periods were 4, 8, and 16 weeks.

Throughout all periods, plasma vitamin E levels (either per ml or per mg lipid) of FO group were extremely low and liver and adipose tissue vitamin E levels were also the lowest among four groups. Plasma vitamin E levels per ml were lower in FI and FII than control but per mg lipid were in the order of FII>FI>control, but vitamin E level per mg lipid did not differ in liver and adipose tissue. As feeding prolonged, vitamin E levels in plasma and other tissue were decreased in FO but increased in the other groups.

Plasma and liver thiobarbituric acid-reactive substance(TBARS) values were elevated in FO. While plasma TBARS values as per ml plasma were similar or lower in FI and FII as compared to control, plasma TBARS values as per mg lipid and liver TBARS values were in the order of FI>FII>control.

Plasma and liver vitamin A, blood GSH but not liver GSH appeared to be in the order

of FII, control > FI > FO and this was most significant in 8 weeks.

This result suggests that both type of dietary oil and level of vitamin E affect not only lipid peroxidation but also the status of other physiological antioxidants which have the potential to spare the role of vitamin E.

KEY WORDS : fish oil · vitamin E · TBARS · Vitamin A · GSH.

서 론

Greenland Eskimo를 대상으로 조사한 연구¹⁾가 시초가 되어 인식하게 된 魚類와 海産物의 지질 성분인 n-3 다불포화지방산의 특이한 생리학적 역할과 영양적 필수성은 지난 10여년간의 많은 연구들²⁾을 통하여 점차로 강조되고 있다. Eicosapentaenoic acid(EPA, C20 : 5, n-3)와 docosahexaenoic acid(DHA, C22 : 6, n-3)를 주요지방산으로 하는 魚油를 섭취할 경우, 혈청지질을 감소시키고 혈소판 응집을 저해하며 혈압을 낮추므로, 임상영양분야에서는 순환계 질환의 예방과 치료로 魚油의 섭취를 적극 권장하고 있다²⁾³⁾. 뿐만 아니라, 이러한 n-3 지방산은 지방조직의 확대를 막고⁴⁾ 종양세포의 증식을 억제한다고²⁾⁵⁾ 보고되어 전반적으로 성인병 발생을 저하시키는 것으로 기대되고 있다.

그러나 n-3 다불포화지방산은 고도의 불포화도로 인하여 체내외에서 지질과산화가 촉진될 가능성이 다른 식이지방에 비하여 높고, 생성된 과산화 산물들은 체조직의 노화 및 여러 종류의 퇴행성 질환을 유발시킬 문제점을 내포하고 있다. 본 연구자⁶⁾⁷⁾를 비롯한 국내외의 연구자들⁸⁾⁹⁾의 동물실험결과에 의하면 魚油나 EPA+DHA 농축물을 섭취한 흰쥐들이 단일불포화지방(쇠기름, 채종유)이나 식물성 다불포화지방(대두유, 들기름)을 섭취한 쥐들에 비하여 혈청과 간에 TBARS값이 높았고 조직내의 vitamin E 함량이 감소하는 경향이였다. 또 최근에 Burns와 Wagner¹⁰⁾는 n-3 지방산이 강화된 leukemic ccl를 Fe⁺²촉매하에 산화를 유도했을 때 ethane생성이 증가하였음을 보고하였다. Hu등¹¹⁾¹²⁾은 식이 vitamin E의 양이 식이지방의 종류보다 체조직 TBARS 축적에 미치는 영향이 크다고 보고하였으나 vitamin E의 수준이 같을 경우 魚油섭

취군의 간조직이 옥수수유섭취군보다 *in vitro*에서 유도된 산화에 반응도가 훨씬 높았다.

인체실험은 아직 별로 많지 않으나 동물실험에서 얻은 결과를 뒷받침하는 보고들이¹³⁾¹⁴⁾ 발표되었다. Meydani등¹³⁾에 의하면 1.7g EPA+0.7g DHA 가 함유된 魚油 capsule을 6 IU의 vitamin E와 함께 여자들에게 섭취하게 하였을때, 1개월 후부터 혈장 과산화지질이 증가하여 3개월 실험종료까지 높은 값으로 유지된 상태였으며 3개월에는 혈장 vitamin E양도 낮아짐이 밝혀졌다. Haglund등¹⁴⁾은 vitamin E 함량이 다른 두 종류의 魚油를 남,녀에게 3주 공급하였는데, vitamin E양이 적은 魚油를 섭취한 사람들의 혈장 malondialdehyde(MDA)의 양이 증가되었을 뿐 아니라 중성지방의 강하정도가 감소하는 현상을 발견하였다. 그러나 이들에 앞서 시행된 Piche등¹⁵⁾의 결과에서는 魚肝油(cod liver oil)를 섭취할 때는 尿 MDA 배설이 증가 되었으나 Maxepa(100 ppm의 dodecyl gallate가 항산화제로 들어 있는 魚油농축물)를 50일 섭취하였을 때 MDA 배설에 변화가 없어 시판 Maxepa의 안전성을 옹호하기도 하였다. 이러한 엇갈린 결과들은 섭취한 魚油의 양과 항산화제의 종류, 섭취기간등 여러 실험조건에 의하여 인한 것으로 보여 좀 더 체계적이고 일관성 있는 연구들이 요구된다고 보겠다.

포유동물세포는 여러 종류의 산화방어 물질들을 보유하고 있는 바, vitamin E 이외에도 vitamin C, uric acid와 환원형 glutathione이 free radical scavenger로 작용하며, vitamin A의 vitamin E와의 항산화 공유작용도 잘 알려져 있고¹⁶⁾, carotene의 역할에 대하여도 최근 점점 인식이 높아져 가고 있다. 따라서 上記 여러 결과들에서 본 바와 같이, 魚油섭취시 체내 지질과산화물의 증가와 함께 vitamin E의 소모가 있다면 vitamin E외에 항산화작용에 관련이

있는 여러 물질들의 함량에 변화를 주는지 여부는 매우 관심있는 문제이다. 만일 이들의 변화가 있게 되면 과산화로 야기되는 문제와 함께, 이들의 여타 고유 기능들도 영향을 받을 수 있다는 것이다. 대체로 정상적으로 사육된 동물의 vitamin E 체내수준은 저하되는 경우라도, 고갈되려면 상당한 기일이 요구된다고 알려져 있으므로 타 항산화물질의 상태변화를 조사하기 위하여는 식이실험을 長期로 하여 기간별 변화를 추적하여야 될 것으로 생각된다. 그러므로 본 연구에서는 흰쥐를 사용하여 vitamin E 수준을 달리한 魚油食이를 短期와 長期間 섭취시켜 혈장과 조직의 과산화물 형성과 vitamin E 수준의 변화를 측정하고 관련물질로 vitamin A 와 glutathione의 상태를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 식이의 조제와 동물의 사육

魚油는 미국 Zapata-Haynie 회사에서 공급 받은 실험동물 식이용 menhaden oil을, 대두유는 해표 식용유를 사용하였고, 식이성분은 vitamin E를 제외하고 미국 TEKLAD 회사(Madison, WI, USA)로부터 구입하였고, vitamin E 는 Sigma 회사제품인 DL-tocopheryl acetate를 사용하였다. Menhaden oil은 도착되는 즉시 TBHQ(t-butylhydroquinone, 미국 Eastman Kodak제)를 0.02% 되도록 첨가하여 氣層을 질소로 채워 -60°C의 냉동고에 나누어 보관하였다가 사용하였고¹⁷⁾, 대두유도 같은 방법으로 처리하였다. 식이는 실험군에 따라 네종류를 Table 1에 나타난 구성에 따라 조제하였으며, 식이지방의 지방산 조성은 Table 2와 같다. 魚油군 (F0, FI, FII)의 식이에는 linoleic acid의 결핍을 방지하기 위하여 지방성분으로 menhaden oil+대두유(9:1)의 혼합유를 사용하였고, 대조식에는 대두유만을 사용하였으며, 모든 실험군의 지방량은 10%(w/w)으로 하였다. 식이내의 vitamin E 수준은 대조군(control)은 30 T.E./Kg 이었고, 魚油군의 경우는, F0군은 2 T.E./Kg, FI군은 30 T.E./Kg, FII군은 140 T.E./Kg 으로 하였다. 식이에 포함된 魚油의 산패를 최소화하기 위하여 식이는 3일마다 새로 만들고, -20

°에서 보관하였다가 매일 새로 공급하였다. 실험 동물로는 5주령된 Sprague-Dawley 종의 숫쥐를 국립보건 안전연구원으로부터 구입하여 일주일정도 일반식으로 환경에 적응시킨 후 무작위로 네군으로 나누어 上記 각 실험군에 6-8마리씩 배정한 후

Table 1. Compositions of experimental diets

Dietary group Vitamin E(T.E.)	Control	F0	FI	FII
	30	2	30	140
	per Kg			
Starch			370g	
Glucose			190g	
Casein			240g	
Mineral mix(AIN-76A)			40g	
Vitamin E-free vitamin mix ¹			10g	
Cellulose			40g	
Choline			0.5g	
I-inositol			0.5g	
DL-methionine			2.2g	
Soybean oil	100	10	10	10g
Menhaden oil		90	90	90g
DL-tocopheryl acetate	19	0	42	206mg

¹Vitamin E-free vitamin mix(per Kg) contained thiamin HCl, 0.6g, riboflavin, 0.6g, pyridoxine HCl, 0.7g, nicotinic acid, 3.0g, Ca-pantothenate, 1.6g, folic acid, 0.2g, biotin, 0.02g, vitamin B₁₂, 0.001 g, retinyl acetate, 4.0×10⁵ units, ergocalciferol, 1.6×10⁵ units, menadione, 0.075g, glucose 992.5g.

Table 2. Fatty acid compositions and peroxide values of Dietary Oils

Fatty acid	SO	MO+SO(9:1)
	%	
14:0	0.1	7.3
15:0	ND ¹	0.4
16:0	10.8	16.7
16:1	0.2	9.9
18:0	3.6	4.5
18:1	20.5	14.8
18:2(n-6)	55.7	10.7
18:3(n-3)	7.3	3.8
18:4(n-3)	ND	4.2
20:5(n-3)	ND	12.6
22:1	ND	1.4
22:5(n-3)	ND	1.6
22:6(n-3)	ND	8.8
Peroxide value	1.0±0.5	5.3±2.2

¹Not detected

4, 8, 16주간 기간별로 사육하였다. 사육실의 온도는 $25 \pm 4^\circ\text{C}$ 였고, 습도는 55 ± 10 이었다.

2. 시료의 채취

각 식이기간이 지난 다음, 사육한 4군의 쥐를 희생시키기 16시간전에 切食시키고 실험당일 쥐를 ether로 마취시켜 heart puncture로 혈액을 취한 후 간과 지방(epididymal fat)을 절취하였다. 혈액의 일부는 heparin으로 처리한 시험관에 받아 혈장시료를 준비하였고 나머지는 同量の 1 M HClO₄로 처리한 후 혈액 glutathione 분석시료로 사용하였다. 절취한 간조직은 청광한 후 0.9% saline용액으로 세척한 후, 액체질소로 급속동결시켜 여러 종류의 화학분석을 시행하기 전까지 -60°C 에 보관하였다. 혈장과 지방조직도 간조직과 함께 분석전까지 같은 온도에 보관하였다.

3. 시료의 분석

간조직의 과산화지질함량은 조직의 homogenate (1.15% KCl/0.01 M 인산완충용액)를 시료로 사용하여 산성조건에서 2-thiobarbituric acid와 반응하여(TBARS) 발색되는 정도를 분광법으로서 정량하였고¹¹⁾ 혈장의 TBARS는 형광법¹⁸⁾으로 측정하였다. 표준품으로는 1, 1',3, 3'-tetraethoxypropane을 사용하였다. 혈장의 vitamin A와 E는 Bieri등의 HPLC법¹⁹⁾에 따라, retinyl acetate와 tocopheryl acetate를 internal standard로 사용하여 UV 280 nm의 detection을 이용하여 정량하였다. 간조직의 vitamin A는 동결건조시킨 조직 약 300mg에 50g/ml BHT를 포함한 CHCl₃ 10ml을 가하여 지질을 추출한 뒤 추출액에 있는 retinyl ester를 10% NaOH/ 90% ethanol로 가수분해하고 hexane으로 추출하여²⁰⁾ 역시 HPLC로 정량하였으되, UV detection 파장은 320nm로 하였다. 간과 지방조직의 vitamin E는 조직의 지질을 hexane으로 추출한 후 ester형태를 KOH로 가수분해시킨 다음, 총 vitamin E량을 ferric chloride-dipyridyl법²¹⁾에 따라 분광학적으로 정량하였다. 혈액과 간조직의 glutathione은, 조직을 3배 부피의 1 M HClO₄로 추출한 후 K₂CO₃로 중화시켜 얻은 시료에서 효소법²²⁾으로 측정하였다.

4. 통계처리

실험결과와 유의도는 oneway analysis of variance로 판정하고, 군간의 차이는 Tukey test에 의하였다.

결 과

1. 동물의 성장

쥐들의 성장은 5주까지는 군간의 차이를 볼 수 없다가 그 이후부터 F0군의 체중이 급격히 감소하여, 8주의 실험을 위하여 희생시킨 다음에 16주까지 살아 남은 것은 한 마리에 불과하였다(Fig. 1). 통계적인 유의성은 없었으나 10주까지는 대체로 대조군에 비하여 魚油군들(FI, FII)의 체중증가가 적었다. 그러나 대조군이 10주이후 체중의 감소경향이 보였던 반면 魚油군들은 10주의 체중이 16주까지 그대로 유지되었다. 식이기간 前半部에 魚油군의 체중증가가 느린 것이 魚油섭취시 지방조직 hypertrophy가 적게 일어나는 것⁴⁾과 상관이 있는 것으로 생각된다.

2. 혈장과 간조직의 지질과산화물의 함량

Thiobarbituric acid(TBA)로 측정된 혈장과 간조

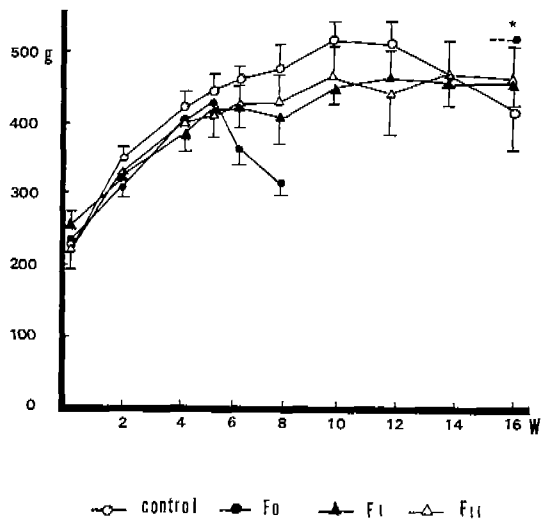


Fig. 1. Changes in rat weight during 16 weeks of Experimental Diet. Mean \pm S.D. *The number of animal was one.

직의 지질과산화물의 함량이 식이기간별로 Fig. 2에 나타나 있다. 혈장 ml당 TBARS값(Fig. 2A)을 보면, 4주 때에는 대조군과 FII군이 가장 낮고 FI, F0군으로 높았으며, 魚油군내에서는 TBARS값이 식이 vitamin E수준과 역비례함을 보여 주었고, 이러한 경향은 8주와 16주에서도 동일하였다. 한편, 혈장 mg lipid당 TBARS값(Fig 2B)은 전시기에 걸쳐 魚油군들이 대조군에 비하여 높은 수준이었으며, 魚油군들간에 식이 vitamin E의 수준에 따른 영향이 혈장 ml 당 TBARS값보다 덜 뚜렷하였다. 간조직의

지질과산화물 함량(Fig.2C)은 전기간에 걸쳐 魚油군이 control에 비하여 높았는데, 魚油군들사이에서는 식이 섭취기간에 따라 차이를 보여주었다. 즉, 4주에는 vitamin E 수준에 따른 차이가 없었으나 8주에는 FI, FII 군이 F0보다 낮았고, 16주에는 FII군이 FI군보다 낮아 대조군의 수준으로 감소되었다. 기간별로 보면 4주에 가장 높고 16주로 가면서 감소하는 추세였는데, 이것은 4주 실험시까지 사용하였던 油脂의 과산화가(SO ; 1.4meq/kg, MO+SO(9 : 1) ; 7.3meq/kg)가 그 이후 사용하던 것들(SO ; 0.7meq/kg, MO+SO(9 : 1) ; 4.1 meq/kg)보다 두 배정도 높은 것과 관련이 있다고 사료되나, 4주후의 성장 발달과도 관련이 있을 것으로 생각된다.

3. 혈장, 간, 지방조직의 Vitamin E 함량

Fig. 3에 실험군들의 혈장 vitamin E 함량 (A ; ml당, B ; mg lipid당)과 간(C), 지방조직의 함량(D)이 나타나 있다. 혈장의 결과(A,B)를 보면, F0군은 4주 부터 아주 낮은 수준이었으며 식이기간이 진행됨에 따라 더 감소되는 반면, 대조군과 FI, FII군은 증가하는 추세를 볼 수 있다. 혈장 ml당 측정된 값(A)은 대조군이 FI, FII군에 비하여 높았으나 mg lipid당으로 환산한 값(B)을 보면, 식이 vitamin E수준이 대조군과 같았던 FI은 대조군과 같거나 오히려 다소 높기도(8주) 하였다. 魚油군에서 혈장 ml당 vitamin E 수준이 낮은 것은 혈장 지질 농도 저하와 관련이 있음을 알 수 있었으며, 대조군과 FI군에 비해 식이 vitamin E 수준이 4.5 배나 되는 FII군의 혈장 vitamin E 수준이 두 군에 비하여 높은 경향이나 그 정도는 식이 수준을 반영하지는 못한 것으로 보인다. 간조직의 vitamin E의 함량(C)은 F0을 제외한 나머지 세 군에서 식이기간이 길어짐에 따라 증가하였다. 간에서도 F0군이 지속적으로 낮은 값을 가지는 경향이었으나, 혈장에서의 극미량에 비하여 상당량을 지속적으로(16주는 개체가 하나였지만) 유지하였다. 혈장(A)에서와는 달리 魚油군(FI, FII)이 대조군(Control)보다 높은 경향이었고, FII군이 FI군보다 높아 식이함량의 영향을 다소 볼 수 있었지만 그 반영

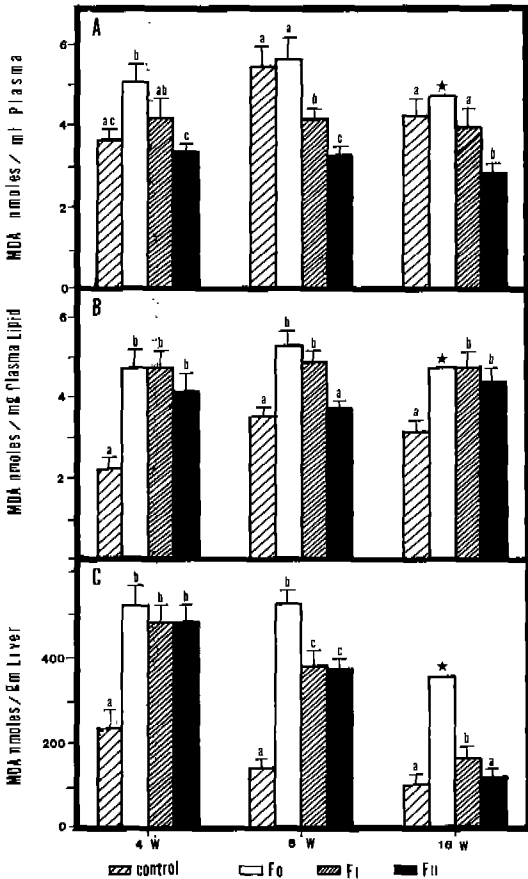


Fig. 2. Levels of plasma TBARS per ml(A) and per mg lipid(B) and liver TBARS(C) in rats fed four experimental diets during 16 weeks.

Values are means \pm S.D. and those with different alphabets at each period are significantly different from each other at $p < 0.05$. *The number of animal was one.

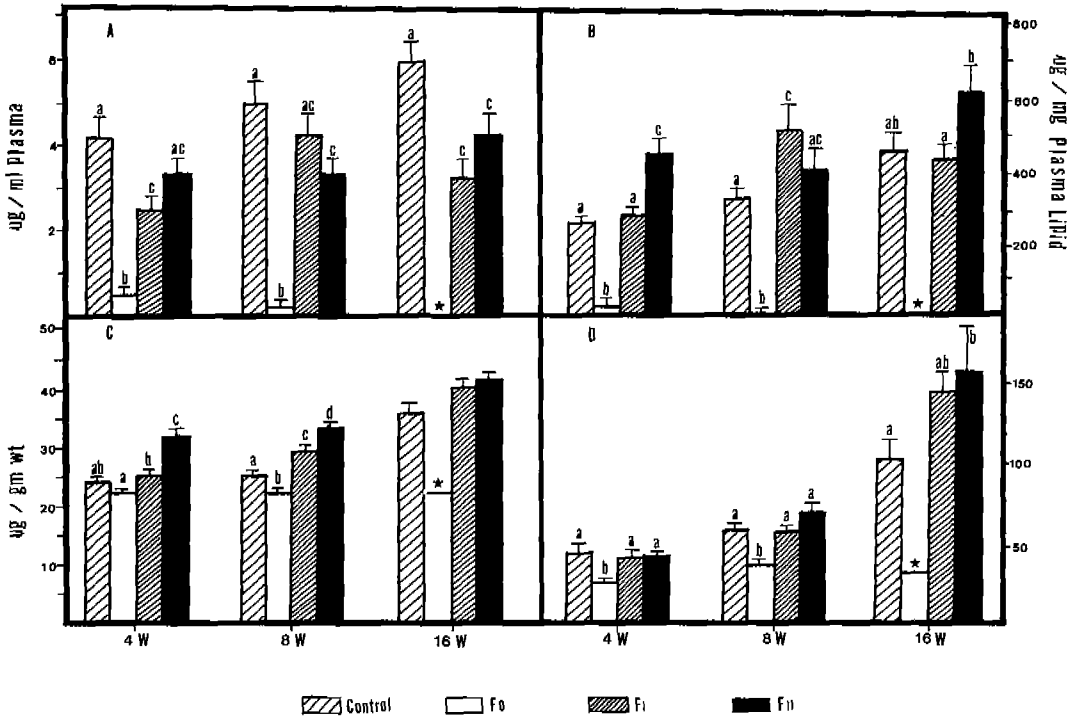


Fig. 3. Vitamin E levels of plasma per ml(A) and per mg lipid(B), liver(C) and adipose tissue(D) in rats fed experimental diets during 16 weeks.

Values are means \pm S.D. and those with different alphabets at each diet period are significantly different from each other at $p < 0.05$.

*The number of animal was one.

정도는 혈장에서보다 낮았다. 지방조직 vitamin E 함량(D)은 F0군을 제외하고 식이 vitamin E의 수준이 정상 이상이었던 대조군, F1, FII군에서 식이 기간이 길어짐에 따라 지방조직내의 vitamin E 축적이 혈장이나 간조직보다 현저하여 16주에는 4주의 2~3 배나 되었다. 식이 vitamin E 수준에 따른 차이는 F0에서 가장 낮았으나 F1군과 FII군간에는 차이가 없었다. 16주까지 살았던 한마리의 F0군 쥐가 체중도 다른군들과 거의 같고(Fig. 1) 외관상 건강하게 보였으나, vitamin E는 분석한 모든 조직에서 최저수준이었음을 확인할 수 있었다.

4. 혈장과 간조직의 Vitamin A의 함량

Fig. 4에 기간별로 혈장(A)과 간조직(B)의 vitamin A 함량이 나타나 있다. 혈장의 결과(A)를 보면, 4주에는 실험군간의 유의적인 차이가 없이 F0군도

다른 군들과 비슷한 수준이었으나 식이기간이 길어지면서 F0군은 대조군과 FII군에 비하여 뚜렷이 낮은 값을 가졌다. 8주에서는 식이지방의 종류(Control 對 F1)와 식이 vitamin E의 수준(F0 對 F1 對 FII)이 혈장 vitamin A에 미치는 영향이 매우 분명하게 나타났다. 즉, n-6지방보다 n-3지방 섭취시 혈장 vitamin A수준은 낮아지고, vitamin E의 보강으로 그 수준이 만회되는 것으로 보였다. 그러나 16주의 식이 후 Control, F1, FII군간에 차이를 볼 수 없어 이에 관하여는 차후에 다시 조사해 볼 여지가 있겠으나 8주이후에 계속 성장이 지속되었던 점(Fig. 1)을 고려할 때, 다른 항산화 기전의 발달과 관련이 있을 것으로 사료된다. 간조직(B)의 vitamin A 함량을 보면, F0군은 전기간을 통하여 낮은 경향이었고, 16주의 F1과 FII군의 vitamin A 함량은 대조군보다 유의하게 낮게 나타났다.

어유섭취시 식이 비타민 E 수준에 따른 흰쥐 체내 비타민 E, A, 글루타치온 상태의 기간별 변화

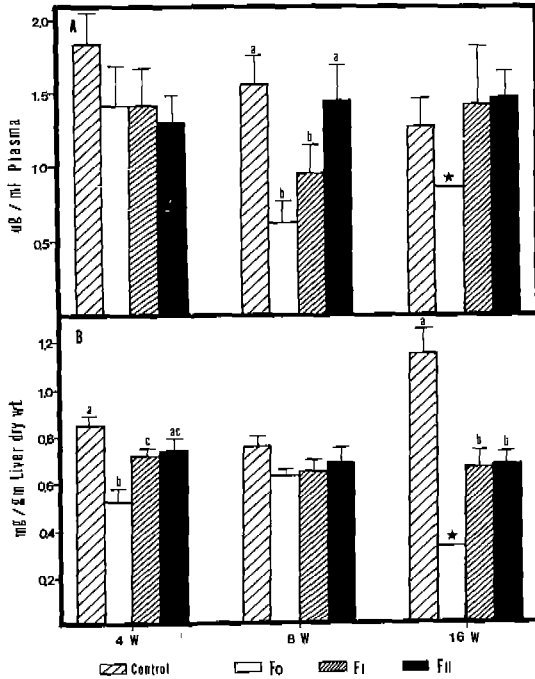


Fig. 4. Vitamin A levels of plasma(A) and liver(B) in rats fed four experimental diets during 16 weeks. Values are means \pm S.D. and those with different alphabets at each period are significantly different from each other at $p < 0.05$. *The number of animal was one.

5. 혈액과 간조직의 환원형 Glutathione의 함량

Fig. 5에 혈액(A)과 간조직(B)에서 측정된 환원형 glutathione의 함량이 나타나 있다. 혈액에서 측정되는 glutathione은 대부분 적혈구내에 존재하는데 Fig. 5에서 보듯이 혈액(A)에서는 4주의 수준이 다른 기간들의 값보다 전반적으로 낮았다. 8주와 16주에서 F0군이 최저 수준이었고, 8주에서는 F1, FII군도 대조군보다 낮았으나 16주에서는 F1군만 대조군보다 낮았고, FII군은 대조군의 수준으로 증가되었다. 간조직(B) 환원형 glutathione의 함량은 사육기간이 길어지면서 다소 증가되는 추세이나 식이군간의 유의적인 차이는 없었고, 식이 vitamin E 수준이 극미량인 F0군도 다른 군들과 같은 수준으로 유지되었다.

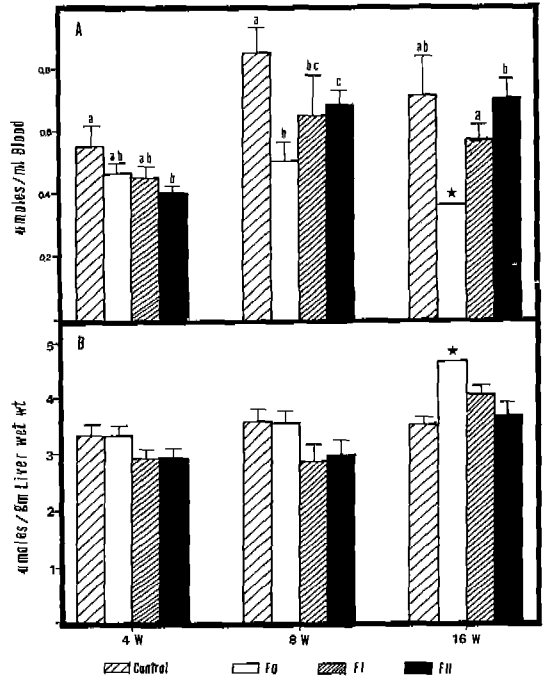


Fig. 5. Levels of reduced glutathione in blood(A) and liver(B) of rats fed four experimental diets during 16 weeks. Values are means \pm S.D. and those with different alphabets at each diet period are significantly different from each other at $p < 0.05$. *The number of animal was one.

고 찰

본 실험은, 결과에서 나타난대로 魚油군은 대두유군과 같은 식이수준의 vitamin E를 섭취할 경우 16주 까지 거의 전기간에서 혈장(per mg lipid)과 간에서 높은 TBARS의 값을 가지는 것으로 나타났고, 또한 초기에는 과량의 식이 vitamin E 공급에도 적정수준의 대두유보다 TBARS 값이 높은 것이 발견되어 어유섭취시의 체내 과산화물 축적이 문제가 되고 있음을 확인시켜주었다. 같은 魚油군에서 식이 vitamin E의 함량과 따라서 체조직내의 농도가 증가됨에 따라 TBARS의 값이 낮아져서 vitamin E의 항산화기능이 분명히 드러나기는 하였

지만 Leibovitz 등¹²⁾이 분석한 상관도($r = -0.8$)보다는 낮아 보인다. 그렇게 되는 이유 중의 하나가 특히 4주의 결과에서 FII군의 높은 vitamin E함량에도 불구하고 TBARS의 값의 감소가 별로 뚜렷하지 않은데 기인 한다고 보겠다. 본 실험에서 사용한 식이魚油(menhaden oil : 대두유, 9 : 1)의 과산화가는 대부분의 실험에서 사용하는 魚油의 초기 과산화가의 범위(6-22meq/Kg)¹⁷⁾에 들어가는 5.3 ± 2.2 meq/kg을 실험종료시까지 유지하였지만 대두유(1.0 ± 0.5 meq/kg)보다 높아 체내에서 측정된 TBARS의 일부가 외인성이라고 사료된다. 식이성 TBARS는 24시간 후 약 14% 정도가 lymph에서 발견된 반면 식이로 공급한 iodometry peroxide는 거의 발견되지 않았다는 Iritani등의 보고²³⁾를 참작할 때, 식이에 존재하는 여러 과산화물중 어느 정도가 TBARS인지 또 흡수과정 중에 TBARS로 전환되는지는 조사되어야 할 사항으로 남아 있다. 그러나 外因性 TBARS는 vitamin E에 의하여 변화되지 못하므로 본 결과에서 체조직내의 vitamin E와 TBARS 함량간의 상관도가 낮은 것은 이러한 외적요인이 작용했으리라고 생각된다. 그런데 본 실험과 유사한 조건에서 실시한 Tappel 연구진의 魚油식이 실험¹¹⁾¹²⁾²⁴⁾에서 魚油의 과산화가를 추적한 결과가 보고되어 있지 않아 그들의 결과와 차이를 해석하는데 어려움이 있었다. 본 실험魚油는 Fritsche와 Johnson¹⁷⁾, 그리고李 등²⁵⁾이 보고한 산화유의 과산화가 보다 훨씬 낮고, 일반적으로 산화유에서 볼 수 있는 지방산조성의 변화¹⁷⁾²⁶⁾를 식이 종료시까지 발견할 수 없었던 것으로 미루어, 측정된 TBARS는 체조직 다불포화 지방산들로부터 유래되는 즉, 內因性이 대부분이라고 생각된다. 이것은 8주이후에 vitamin E의 TBARS 강하효과와 함께 더욱 분명하여졌다고 생각된다. 그럼에도 불구하고 여기에서 지적하고 싶은 것은 魚油실험에서 이러한 外因적 과산화물에 대한 관련성이 추가되어야 한다는 것이며, 최근 조사에 의하면 시판어유 capsule이 자체내 항산화제가 들어 있음에도 과산화성 지방중합체가 생성되었다는 결과²⁷⁾를 볼 때, 어유 및 그 가공품의 식품과 의약품으로서의 안전성에 대한 고려가 더욱 필요하다는 것을 보여 주고 있다.

식이 vitamin E의 수준 증가에 따른 체조직의 함량은 혈장, 간, 지방조직에서 각각 특색있게 나타났다. F0군의 낮은 수준은 혈장에서 매우 현저하게 나타났고 지방조직, 간조직 순으로 그 정도가 감소되었으며, 식이 vitamin E가 적정수준이상인 경우(대조군, FI, FII)에서 식이기간이 길어짐에 따라 지방조직에서의 축적도가 상당히 증가된데 비하여 혈장과 간에서의 증가도가 낮은 것은 체내에서 필요한 vitamin E가 혈장, 간조직에 존재하는 것이 가장 용이하게 사용된다는 Machlin등의 결과²⁸⁾와 일치한다. 한편 본 결과에서 나타난 식이수준에 따른 간조직 함량차이가 다른 연구자들의 결과¹²⁾²⁹⁾보다 작았는데 그것은 실험시작시에 사용한 쥐들이 본 실험에서보다 어리거나 체중이 작았던데 기인한다고 본다. 식이기간 중 8주에서 vitamin E 함량과 TBARS 함량간의 역상관관계가 다른 기간보다 잘 나타난 것은 4주에 비하여 外因性 과산화물의 영향이 적고 체내 vitamin E의 축적이나 glutathione peroxidase(GPx)의 활성도가 16주의 수준으로 증가되지 않은 상태(미발표자료)였기 때문으로 사료되는데, 이 때에 혈액과 간의 vitamin A, glutathione 함량의 변화가 vitamin E의 변화와 같은 추세였다는 것은 매우 의의있는 결과로 생각된다.

Retinol은 화학적인 성격으로 일찍부터 식품내에서 항산화 기능이 있다고 알려져 왔으나, 체내에서의 효과에 대하여는 확실히 밝혀지고 있지 않다. Kon'등³⁰⁾은 vitamin A를 결핍시킨 흰쥐의 간 microsome에서 지질과산화물의 증가가 나타나지 않았다고 보고한 반면에, Pentjuk등³¹⁾은 vitamin A 결핍이 glutathione 대사에 관련된 효소들의 활성을 증가시키므로써 지질과산화가 억제되어진다고 보고하였다. 한편 Ayalogu등³²⁾의 결과에서는 glutathione 대사에 관련된 효소들의 활성, GSH 함량 및 microsomal mixed function oxidase 활성 증가도 없었고, vitamin A와 생체내의 항산화기능과 무관한 것으로 나타났다. 이렇게 vitamin A의 *in vivo* 항산화기능에 대하여는 엇갈리고 있으나, vitamin E 결핍시 혈장과 간의 vitamin A가 정상 20% 미만으로 저하되었다는 Yang등²⁹⁾의 결과는, 본 실험의

결과와 같은 맥락으로 체내 vitamin E 수준이 vitamin A 상태에 영향을 미치고 있음을 보여 주고 있다.

Glutathione은 세포내에서 transferase, peroxidase 등의 효소반응을 통하여 과산화물을 제거하여 준다고 알려져 있다. 여러 보고에서 glutathione이 핵막³³⁾, 간 microsome³⁴⁾, 혈소판³⁵⁾의 지질과산화 방지에 필요한 vitamin E의 양을 감소시켜주는 것으로 나타나 체내에서 vitamin E의 절약작용을 나타낼 수 있다. 수용성인 glutathione의 지질막의 항산화 기능의 기전으로는 上記의 알려진 효소반응 외에도 막에서 항산화 기능을 하는 막단백질의 thiol기를 유지시키며³⁶⁾ 이 작용은 glutathione 외에 다른 thiol 화합물³⁷⁾이나 dihydrolipoate³⁸⁾도 가지고 있음이 보고되었다. 그러나 체내에서 문제가 되는 것은 glutathione 총량과 환원형(GSH)의 유지상태라고 볼 수 있다. Izaki등²⁶⁾은 가열유를 섭취시킨 쥐의 간조직에 GSH가 높은 것이 가열유 섭취로 인하여 GSH가 고갈되어 합성을 정상치 이상으로 촉진시키기 때문이라고 하였다. 그러나 본 실험에서는 魚油가 다소 과산화가는 높아도 심하게 산화되지는 않았기 때문에 그러한 합성의 overshooting을 기대할 수 없다고 판단되며 vitamin E가 감소되는 상태에서 E와 상호의존도를 가진 GSH³⁷⁾의 감소가 있었다고 본다. 또한 glutathione reductase(GR)반응을 통하여 GSH가 재생될 때 필요한 NADPH는 주로 glucose-6-phosphate dehydrogenase반응에서 공급되는데, 魚油食에서 이 효소의 활성 저하³⁹⁾가 GSH 감소에 또 다른 요인으로 작용하였을 것으로 사료된다.

결론적으로 어유섭취시는, n-6계 식물성유 섭취시 정하여 높은 vitamin E의 적정 수준을 증량하여야 할 것으로 생각되며, 증가분에 대한 단계적 연구가 더 필요하다. 그리고 동시에 다른 항산화 영양소들도 복합적으로 작용하고, vitamin E의 증량만으로 과산화물양이 대조군 수준으로 감소되지 않으므로 항산화영양소 전반에 대한 바람직한 섭취 수준을 재고해야 할 것으로 본다. 뿐만 아니라 vitamin E가 prostaglandin 및 다른 활성 eicosanoid들의

합성에 영향을 주는 것으로 알려져 있어^{35)40~42)} 다른 항산화물질에 대한 필요성을 더욱 높여 주고 있다. 이러한 의미에서 carotene의 영향과 그 외 천연 항산화제⁴³⁾의 역할에 대하여서도 상세한 연구가 요망된다.

요 약

魚油섭취시 식이 vitamin E의 변화가 체내의 과산화물생성과 여러 종류의 생리적인 항산화물질의 상태에 주는 변동을 조사하기 위하여, 체중 150±15g의 Sprague-Dawley종의 숫쥐를 실험식이에 따라 대조군, FO, FI, FII군으로 나누어 4, 8, 16주 동안 사육하였다. 식이지방수준은 10% (w/w)로 대조군에게는 대두유를, 魚油군들(F)에게는 menhaden oil : 대두유(9 : 1)의 혼합유를 주었고, vitamin E 수준은 대조군 30, FO군 2, FI군 30, FII군 140 T.E.이었다.

FO군의 혈장 vitamin E는 극미량이었고, 간과 지방조직에서도 제일 낮았으며, 기간이 길어짐에 따라 감소하였다. FI, FII군의 혈장 vitamin E 수준은 ml당으로는 대조군에 비하여 낮았으나, mg lipid 당으로는 같거나 높았고, 간에서는 8주에, 지방조직에서는 16주에 그 함량이 높은 현상을 보였고, 모든 조직에서 FII군이 FI군보다 높은 경향이였다. 혈장 TBARS값도 ml당으로 보면, FI, FII군이 대조군보다 낮은 추세였으나 mg lipid당으로는 높았고, FII군은 FI군에 비하여 낮은 경향이였다.

그러나 간조직 지질과산화물은 16주에 FII군만 제외하고, 어유군들이 대조군에 비하여 높아 FO > FI > FII > 대조군 순이었다. 혈장과 간조직의 vitamin A, 혈액 GSH는 대체로 FII과 대조군이 비슷하게 제일 높고, FI, FO순으로 낮아지는 경향이였다.

따라서 본 연구에서 식이지방의 종류와 vitamin E의 수준이 체내 과산화물 생성뿐 아니라 체내의 여러 항산화기능 관련물질의 상태에 영향을 주고 있다고 결론을 지을 수 있다.

Literature cited

- 1) Bang HO, Dyerberg J. Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic west-coast Eskimos. *Lancet* 1(7701) : 1143-1146, 1971
- 2) Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* 54 : 438-463, 1991
- 3) Barlow SM, Young VK, Duthie IF. Nutritional recommendation for n-3 polyunsaturated fatty acids and the challenge to the food industry. *Proc Nutr Soc* 49 : 13-21, 1990
- 4) Parrish CC, Pathy DA, Angel A. Dietary fish oils limit adipose tissue hypertrophy in rats. *Metabolism (Clinical and Experimental)*, 39 : 217-219, 1990
- 5) Carroll KK. Biological effects of fish oils in relation to chronic diseases. *Lipids* 21 : 731-732, 1986
- 6) 박명희 · 최경원 · 장경숙 · 조성희. 魚油섭취가 출생후 발달과정의 흰쥐의 간과 뇌조직의 지질과산화와 그 관련기능에 미치는 영향. *한국영양학회지* 20 : 111-121, 1987
- 7) 최경원 · 박명희 · 장경숙 · 조성희. 魚油섭취가 흰쥐의 간과 뇌조직의 지질과산화물 형성과 항산화계에 미치는 영향-성의 차이를 중심으로. *한국영양학회지* 16 : 147-155, 1987
- 8) 최임순 · 진복희. 정어리유 섭취가 흰쥐의 혈장 지질, 적혈구막 인지질의 지방산 조성 및 지질의 과산화에 미치는 영향. *한국영양학회지* 20 : 330-340, 1987
- 9) Kobatake Y, Kuroda K, Jinouchi H, Nishide E, In-nami S. Dietary effect of w-3 type polyunsaturated fatty acids on serum and liver lipid levels in rat. *J Nutr Sci Vitaminol* 29 : 11-21, 1983
- 10) Burns CP, Wagner BA. Heightened susceptibility of fish oil poly-unsaturate-enriched neoplastic cells to ethane generation during lipid peroxidation. *J Lipid Res* 32 : 79-87, 1991
- 11) Hu M-L, Frankel EN, Leibovitz BE, Tappel AL. Effect of dietary lipids and vitamin E on *in vitro* lipid peroxidation in rat liver and kidney homogenates. *J Nutr* 119 : 1574-1582, 1989
- 12) Leibovitz BE, Hu M-L, Tappel AL. Lipid peroxidation in rat tissue slices : Effect of dietary vitamin E, corn oil-lard and menhaden oil. *Lipids* 25 : 125-129, 1990
- 13) Meydani M, Natiello F, Goldin B, Free N, Woods M, Schaefer E, Blumberg JB, Gorbach SL. Effect of longterm fish oil supplementation on vitamin E status and lipid peroxidation in women. *J Nutr* 121 : 484-491, 1991
- 14) Haglund O, Luostarinen R, Wallin R, Wibell L, Saldeen T. The effects of fish oil on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in humans supplemented with vitamin E. *J Nutr* 121 : 165-169, 1991
- 15) Piche LA, Draper HH, Cole PD. Malondialdehyde excretion by subjects consuming cod liver oil vs a concentrate of n1-3 fatty acid. *Lipids* 23 : 370-371, 1988
- 16) Slater TF, Block G. ed. Antioxidant Vitamins and Carotene in Disease Prevention. *Am J Clin Nutr Supp* to 53(1), 1991
- 17) Fritsche KL, Johnson PV. Rapid autoxidation of fish oil in diets without added antioxidants. *J Nutr* 118 : 425-526, 1988
- 18) Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med* 15 : 212-216, 1976
- 19) Bieri JG, Tolliver TJ, Catignani GL. Simultaneous determination of tocopherol and retinol in plasma or red cells by high pressure liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* 32 : 2143-2149, 1979
- 20) De Leenheer AD, Nelis HJ, Lambert WE, Bauwens RM. Chromatography of fat-soluble vitamins in clinical chemistry. *J Chromatography* 429 : 3-58, 1988
- 21) 최민숙 · 송지현 · 최혜미 · 박현서 · 이양자. 출생 전후의 식이 필수지방산의 수준이 흰쥐의 혈청 및 뇌와 간세포의 vitamin E 농도에 미치는 효과. *한국영양학회지* 16 : 287-295, 1983
- 22) Bernt E, Bergmeyer HU. Glutathione In : Methods of Enzymatic Analysis. 2nd ed. Bergmeyer HU. pp. 1643-1647, Academic Press, New York and London, 1974
- 23) Iritani N, Fukuda E, Kitamura Y. Effect of corn oil feeding on lipid peroxidation in rats. *J Nutr* 110 : 924-930, 1980
- 24) Hu M-L, Frankel EN, Tappel AL. Effect of dietary menhaden oil and vitamin E on *in vivo* lipid peroxi-

어유섭취시 식이 비타민 E 수준에 따른 흰쥐 체내 비타민 E, A, 글루타치온 상태의 기간별 변화

- dation induced by iron. *Lipids* 25 : 194-198, 1990
- 25) 이경숙 · 이순재. 가열유가 흰쥐간장내의 지질과 산화에 미치는 영향. *한국영양학회지* 20 : 15-24, 1987
- 26) Izaki Y, Yoshikawa S, Uchiyama M. Effect of ingestion of thermally oxidized frying oil on peroxidative criteria in rats. *Lipids* 19 : 324-331, 1984
- 27) Shukla VKS, Perkins EG. The presence of oxidative polymeric materials in encapsulated fish oils. *Lipids* 26 : 23-26, 1991
- 28) Machlin LJ, Keating J, Nelson J, Brin M, Filipiski R, Miller ON. Availability of adipose tissue tocopherol in the guinea pig. *J Nutr* 109 : 105-109, 1979
- 29) Yang NYJ, Desai ID. Effect of high levels of dietary vitamin E on liver and plasma lipids and fat soluble vitamins in rats. *J Nutr* 107 : 1418-1426, 1977
- 30) Kon' IY, Gorgoshidze LS, Vasil'eva ON, Kulakova SN. Vitamin A and lipid peroxidation : The influence of a retinol deficiency. *Biochemistry* (Translated from Biokhimiya) 51 : 57-63, 1986
- 31) Pentyuk AA, Yakovleva OA, Konovalova GG, Lankin VZ. Activity of glutathione-dependent enzymes, catalase and superoxide dismutase in the livers and heart of vitamin A-deficient rats. *Biochemistry* (Translated from Biokhimiya) 52 : 872-875, 1987
- 32) Ayalogu EO, Phillipson CE, Preece N, Ioannides C, Parke DV. Effect of vitamin A on rat hepatic mixed-function oxidases, glutathione transferase activity and generations of oxygen radicals. *Ann Nutr Metab* 32 : 75-82, 1988
- 33) Tirmenstein M, Reed DJ. Effect of glutathione on the tocopherol-dependent inhibition of nuclear lipid peroxidation. *J Lipid Res* 30 : 959-965, 1989
- 34) Leedle RA, Aust SD. The effect of glutathione on the vitamin E requirement of liver microsomal lipid peroxidation. *Lipids* 25 : 241-245, 1990
- 35) Calzada C, Vericel E, Lagarde M. Decrease in platelet reduced glutathione increases lipoxygenase activity and decrease vitamin E. *Lipids* 26 : 696-699, 1991
- 36) Burk RF. Glutathione-dependent protection by rat liver microsomal protein against lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta* 757 : 21-28, 1983
- 37) Wefers H, Sies H. The protection by ascorbate and glutathione against microsomal lipid peroxidation is dependent on vitamin E. *Eur J Biochem* 174 : 353-357, 1988
- 38) Scholich H, Murphy ME, Sies H. Antioxidant activity of dihydroli-poate against microsomal lipid peroxidation and its dependence ont ocopherol. *Biochim Biophys Acta* 1001 : 256-261, 1989
- 39) 조성희 · 서미영 · 김혜명 · 나혜경. Effect of dietary n-3 fats on hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase and malic enzyme in rat. *한국생화학학회지* 23 : 402-407, 1990
- 40) Chan AC, Thackeray E, Pritchard, Choy PC. Differential effects of dietary vitamin E and antioxidants on eicosanoid synthesis in young rabbits. *J Nutr* 113 : 813-819, 1983
- 41) Cunnane SC. Vitamin E intake affects serum thromboxane and tissue essential fatty acid composition in the rat. *Ann Nutr Metab* 32 : 90-96, 1988
- 42) Colli CMS, Medini L, Stragliotto E, Maderna P, Tremoli E, Galli C. Vitamin E influences the effects of fish oil on fatty acids and eicosanoid production in plasma and circulating cells in the rat. *Biochemical Pharmacol* 37 : 3415-3421, 1988
- 43) 이효상 · 최임순. 정어리유 섭취시 지질과산화 억제를 위한 몇가지 산화 방지제의 효과. *한국영양학회지* 22 : 466-475, 1989