

고지방식이에서 서로 다른 불포화 지방산 섭취가 쥐의 혈청과 조직의 Tocopherol 함량과 지질과산화물 형성에 미치는 영향

남 정 혜

경민전문대학 식품영양과

Effects of Dietary Polyunsaturated Fatty Acids on Tocopherol Contents and Lipid Peroxidation of Plasma and Tissues in Rats Fed High Fat Diet

Jeong-Hye Nam

Department of Food and Nutrition, Kyungmin Junior College,

Euijungbu-city, Kyungkido 562-1, Korea

Abstract

This study was observed the effect of n6 and n3 polyunsaturated fatty acids of dietary corn oil and fish oil which was supplemented with similar levels of tocopherol in high fat diet on the levels of tocopherol, malondialdehyde(MDA) productions of plasma and tissues of rats. Also RBC hemolysis, superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities in liver were determined. Male Sprague Dawley rats were fed high fat(40%Cal) diet which was different only in fatty acid composition for 6 weeks. Dietary fats were beef tallow(BT) as a source of saturated fatty acid, corn oil(CO) for n6 linoleic acid(LA) and fish oil(FO) for n3 eicosapentaenoic acid(EPA) + docosahexaenoic acid (DHA).

Plasma and liver tocopherol levels were lowered by n3 PUFA, but there was no difference in malondialdehyde(MDA) level by different dietary PUFA. However, MDA content of RBC and hemolysis were increased by n3 PUFA. MDA content, superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase(GSH-Px) activities in liver were increased in more unsaturated dietary fat groups. Especially, SOD activity was increased in proportion to the degree of fat unsaturation.

Key words : n3 fatty acids, tocopherol, malondialdehyde(MDA), superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase, hemolysis, fish oil

서 론

최근 급격한 경제성장으로 생활이 편리해지고 국민 생활수준의 향상과 서구식 식사패턴으로 점차 과다한 열량과 지방의 섭취가 증가하고 있는 실정이다. 지금까지 많은 역학연구¹⁻³⁾에 의하면 혈청내 cholesterol (Chol)이나 TG농도의 증가와 같은 지질대사의 비정상화로 비만율이 높아지고 이는 관상동맥성 심장질환(coronary heart disease: CHD)등으로 인한 사망률과 정의 상관관계가 있다고 하였으며, 식사중 지방함

량이 총 열량의 40%인 서구 유럽에서도 이로 인한 질환이 최근 수십년동안 계속 증가되어 왔으며, 현재 우리나라에서도 1990년도 사망원인중 순환계 질환이 약 30%로 1위를 차지하고, 이는 동물성 식품의 소비증가로 계속 증가추세에 있어 이에 대한 식이 대처 방안이 절실하다⁴⁾.

지금까지는 이러한 질병을 예방하기 위한 식이요법으로 n6 linoleic acid(LA)가 풍부한 옥수수기름과 같은 식물성 기름의 섭취가 중요시 되어 왔으나⁵⁻⁷⁾, 최근에는 생선이나 어유 등에 다량 함유되어 있는 n3 eicosapentaenoic acid(EPA)와 docosahexaenoic acid (DHA) 같은 고도불포화 지방산(polyunsaturat-

Corresponding author : Jeong-Hye Nam

ed fatty acid: PUFA)이 혈청내 지질함량을 더욱 효과적으로 감소시킴으로서 결국 동맥경화나 thrombotic disease와 같은 순환기계 질환의 혈전 방지에 관여하는 것이 밝혀져 결국 섭취하는 지방의 양과 종류가 질병의 예방에 어떠한 영향을 미치는가에 대한 연구들이 활발하다⁸⁻¹⁰. 특히 n3 PUFA에 의한 지질 감소 효과는 정상인에 비해 고지혈증환자에서 더욱 뚜렷하여 n3 PUFA가 풍부한 어유는 CHD예방에 더욱 전망이 있는 식품으로 대두되고 있다. 또 식이지방산에 의한 지질저하 효과는 섭취하는 지방의 양에 따라서도 다른데 특히 식이지방량이 총열량의 40%이상인 서구 유럽 국가에서는 고지방 식이로 인한 hypercholesterolemia가 심장질환의 주요 원인으로 지적되고 있다^{11, 12}.

한편 식이중 함유되어 있는 EPA나 DHA와 같은 n3 PUFA는 5~6개의 불안정한 *cis*형의 이중결합을 갖고 있으며 체내 membrane phospholipid속으로 쉽게 incorporate되므로 과량 섭취할 경우 이들 지방산 자체의 높은 불포화도로 인해 lipid peroxidation을 일으켜 peroxide와 free radical 등의 지질 과산화물질을 생성하고 결국 세포막의 손상을 초래한다고 하였으며^{13, 14}, 실제로 투여한 어유 중의 n3 EPA에 의해 세포막의 lipid peroxidation에 대한 susceptibility가 증가되었다고 하였다¹⁵. 따라서 이를 막기 위해서 tocopherol과 같은 강력한 항산화제의 필요량이 증가하게 되는데 이는 식이지방의 양과 지방산의 종류, PUFA량, P/S ratio, 투여기간에 따라 다르다고 하였다^{16, 17}. 또 저지방 식이보다 고지방 식이에서 plasma tocopherol이 더욱 감소된 것으로 보아 결국 식이지방수준이 높을수록 tocopherol의 필요량이 증가된다고 하였다¹⁸. 따라서 장기간의 고지방 식이시 n6 LA에 비해 어유에 함유된 n3 EPA와 DHA 지방산의 지질저하 효과는 훨씬 더 현저한 혈액내 지질함량의 저하 효과를 나타낼 것으로 기대되나, 저지방이나 중지방 식이에서와 다르게 충분한 양의 tocopherol을 투여할지라도 고지방 식이 자체로 인해 조직에서 PUFA와 tocopherol의 turn over가 다를지도 모르기 때문에 세포막의 integrity를 유지하기 위해서는 조직내에서 PUFA의 자동산화에 대한 문제가 고려되어야 한다.

그러므로 본 연구에서는 식이 지방량이 총 섭취열량의 40%인 고지방 식이시 n6 LA, n3 EPA와 DHA의 급원으로 corn oil, fish oil을 각각 충분한 양의 tocopherol과 함께 투여했을 때 plasma와 조직의 tocopherol함량과 RBC hemolysis, malondialdehyde (MDA)형성 및 지질과산화물 대사와 관련된 sup-

Table 1. Composition of experimental diets

Constituents	g/100g diet	
Corn starch	46.8	
Casein	23.4	
DL-Methionine	0.3	
Fat or oil ¹⁾		
	BT group	bt 20.8
	CO group	co 10.2 cc 10.6
	FO group	fo 9.7 co 0.8 cc 10.3
Salt mixture ²⁾	3.2	
Zinc mixture ³⁾	0.8	
Vitamin mixture ⁴⁾	1.0	
α -Cellulose	3.7	

- 1) 3 mg Vitamin A and 1.5 mg Vitamin D were dissolved in 150 g oil.
 - 2) Hubble Mendel Wakeman Mixture (per 100g) Calcium carbonate 54.3; Magnesium carbonate 2.50; Magnesium sulfate 7H₂O 1.60; Sodium chloride 6.90; Potassium chloride 11.20; Potassium phosphate monobasic 21.20; Ferric phosphate 2.05; Potassium iodide 0.008; Manganese sulfate H₂O 0.035; Sodium fluoride 0.1; Aluminium potassium sulfate 0.017; Copper sulfate 5H₂O 0.09
 - 3) Zinc mixture: 1.67g Zn-acetate /kg corn starch
 - 4) Vitamin mixture (per 100g) Thiamine-HCl 0.04; Riboflavin 0.08; Pyridoxine-HCl 0.05; Ca-pantothenate 0.40; Inositol 2.00; Menadione 0.04; Niacin 0.40; Choline dihydrogen citrate 42.38; Biotin premix (1%) 0.30; Vitamin B₁₂ premix (0.2%) 1.00; Corn starch 53.27; Folic acid 0.04
- BT, CO, FO: Different dietary fat groups
bt: beef tallow co: corn oil fo: fish oil cc: coconut oil

eroxide dismutase (SOD)와 glutathione peroxidase (GSH-Px)의 활성에 미치는 영향을 관찰하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물과 실험식이

생후 17주된 Sprague Dawley종 수컷쥐 (평균체중 360 g) 60 마리를 체중에 따라 난피법에 의해 BT (beef tallow), CO(corn oil), FO(fish oil)의 3군으로 나누어 각각의 실험식이를 6주간 공급하였다. 실험 식이는 Table 1에서와 같이 총 섭취 열량의 20%는 단백질로 같게 하였고, 당질 40%, 지방 40%인 고지방 식이로 하였으며 각 군에서 포화 지방산의 급원으로 beef tallow를 공급한 군을 BT군, n6 linoleic acid (LA) 급원으로 corn oil을 사용한 군을 CO군, n3 eicosapentaenoic acid(EPA)와 docosahexaenoic acid(DHA) 급원으로 fish oil concentrate를 사용한 군을 FO군이라 하였으며 각 실험식이군의 지방산 분포는 Table 2에 있다. 이때 각 군의 포화지방산과 monoenoic 지방산의 합을 거의 같게 조절하기 위해서 CO, FO군에 coconut oil을 공급하였고, FO군에 사용한 fish oil에는 지방의 산패를 막기 위해 dl- α -tocopherol(0.2%)이 강화되어 있으므로 CO군에도 FO군과 같은 수준으로 첨가하였다.

2. 시료준비

6주간의 식이투여 마지막날 overnight fasting후 복부 대정맥으로부터 혈액을 채취하여, 먼저 소량의 혈액에서 hemolysis를 측정하였고 나머지는 즉시 plasma를 분리하였다. 적혈구 (red blood cell)는 saline phosphate buffer (pH 7.4)로 씻어 약 50%의 hematocrit치가 되도록 RBC suspension을 만들어 -40°C에 냉동 보관하였다가 tocopherol과 MDA농도를 측정하였다. 간조직은 채취후 즉시 Geller와 Winge의 방법¹⁹⁾에 의해 cytosol fraction을 분리하여 Lowry 등의 방법²⁰⁾으로 단백질 함량을 분석하였으며 나머지는 -40°C에 보관한 후 tocopherol과 MDA 함량을 측정하였다.

3. 생화학적 분석

Plasma와 RBC suspension의 tocopherol함량은 Desai의 방법²¹⁾으로, MDA함량은 Yagi의 방법²²⁾으로 분석되었고, 간조직의 tocopherol함량은 Taylor 등의 방법²³⁾으로, MDA함량은 Buckingham의 방법¹⁷⁾으로 측정되었다. RBC hemolysis는 whole blood에서 Drapper와 Csallany의 방법²⁴⁾을 이용하여 측정하였다. Cytosol fraction의 superoxide dismutase (SOD) 활성은 Winterbourn 등의 방법²⁵⁾으로 분석하여 이때 1 enzyme unit는 NBT가 최대 환원을 나타내는 흡광도값의 반값으로 산출하고, 그때의 단백질 농도를 기준으로 specific activity로 나타내었다. Cytosol의 GSH-Px 활성은 Paglia와 Valentine의 방법²⁶⁾으로 분석하였고 이때 enzyme unit는 1분 동안

Table 2. Fatty acid composition of experimental diets(g/100g diet)

Dietary Groups	SFA ¹⁾	MFA	PUFA	L A	L L	EPA + DHA ²⁾
BT	10.36	8.69	0.83	0.65	0.13	—
CO	9.32	3.97	5.35	5.22	0.14	—
FO	10.06	3.61	4.59	0.58	0.01	3.59

BT: Beef tallow (control group)

FO: Fish oil group

MFA: Monounsaturated fatty acid

LA: Linoleic acid(n6)

DHA: Docosahexaenoic acid(n3)

1) Saturated fatty acid > C_{12:0}

2) Fish oil concentrate contains EPA 25% and DHA 12%.

CO: Corn oil group

SFA: Saturated fatty acid

PUFA: Polyunsaturated fatty acid

EPA: Eicosapentaenoic acid(n3)

산화된 NADPH의 μmoles 로 표시하였으며 역시 specific activity로 나타내었다.

4. 통계처리

실험식이 투여전과 투여후의 분석결과는 Scheffe test를 이용하여 $P < 0.05$ 수준에서 통계적 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 혈액의 Tocopherol과 MDA함량

고지방 식이시 plasma tocopherol과 MDA함량은 Table 3에 제시된 바와 같이 BT군에 비해 CO, FO군

에서 감소되었으며 특히 FO군에서는 유의성있게 낮았으며, plasma MDA함량은 군간에 아무런 차이가 없었다(Fig. 1, 2). 앞서의 많은 연구보고들^{15~18)}에 의하면 식이 지방산의 불포화도가 증가될수록 불포화 지방산 자체의 자동산화를 막기 위해 체내 tocopherol의 이용률이 높아져 plasma tocopherol이 감소되었다고 하였는데, 본 연구에서도 위의 연구들과서와 같은 결과를 얻었다. Tocopherol은 세포내에서 항산화작용을 하므로 부족될 경우 지질 과산화 반응이 증가되었다는 보고들^{27, 28)}이 많은데 Iritani²⁹⁾는 식이 kg당 80 mg의 dl- α -tocopherol이 첨가된 10% (w/w) corn oil 식이 투여시 tocopherol의 결핍으로 plasma MDA 형성이 높아졌으며 400 mg까지 증가시켜도 PUFA의

Table 3. Effect of dietary fats on levels of tocopherol and MDA in plasma of rats

	Dietary groups		
	B T	C O	F O
Tocopherol (μg /ml plasma)	8.90 \pm 1.55 ^a (10)	7.70 \pm 1.69 (10)	4.29 \pm 1.59 ^b (9)
M D A (nmole /ml plasma)	1.33 \pm 1.19 (10)	1.51 \pm 0.28 (10)	1.48 \pm 0.15 (9)

Values are Mean \pm S. D.

(): Number of rats

MDA : Malondialdehyde

Superscript a or b: Values with different alphabet were significantly different at $p < 0.05$ by Scheffe test.

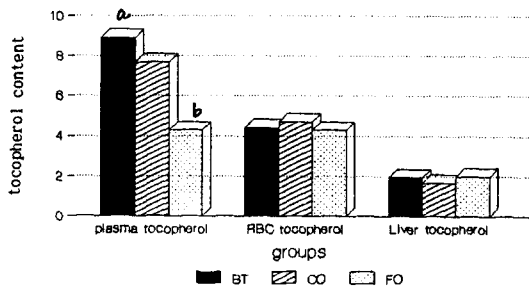


Fig. 1. Effect of dietary fats on the level of tocopherol of plasma($\mu\text{g}/\text{ml}$ plasma), RBC(mg/ml boold) and liver(mg/ml liver) in rats fed high fat diet.

a or b : significantly different at $p < 0.05$

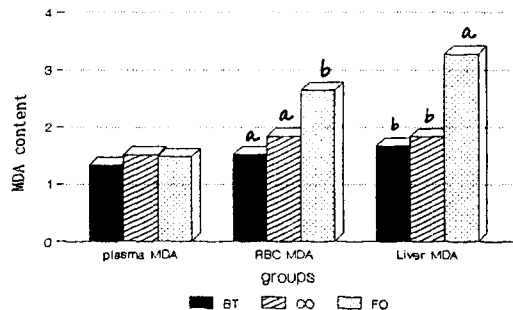


Fig. 2. Effect of dietary fats on the level of malondialdehyde (MDA) of plasma(nmole/ml plasma), RBC(nmole/ml blood) and liver (nmole/g liver) in rats fed high fat diet.

a or b : significantly different at $p < 0.05$

Table 4. Effect of dietary fats on levels of tocopherol, MDA and hemolysis in RBC of rats

	Dietary groups		
	B T	C O	F O
Tocopherol ($\mu\text{g}/\text{ml}$ blood)	4.43 \pm 1.64 (8)	4.71 \pm 0.84 (7)	4.29 \pm 1.59 (9)
M D A (nmole/ml blood)	1.52 \pm 0.68 ^a (8)	1.84 \pm 0.46 ^a (7)	2.64 \pm 1.40 ^b (8)
Hemolysis(%)	64.9 \pm 23.0 (7)	65.7 \pm 14.5 (8)	69.0 \pm 14.3 (8)

Values are Mean \pm S. D.

(): Number of rats

MDA: Malondialdehyde

RBC: Red blood cell

Superscript a or b: Values with different alphabet were significantly different at $p < 0.05$ by Scheffé test.

자동산화를 막지 못하였다고 하였다. 그러나 본 연구에서 고지방 식이와 함께 불포화도가 높은 기름을 투여한 결과 plasma tocopherol이 감소되었음에도 불구하고 plasma MDA에는 아무런 차이가 없었던 것으로 보아 고지방 식이에도 불구하고 실험식이와 함께 투여한 tocopherol량은 plasma내 MDA생성을 막기에는 충분한 양이었다고 사려된다.

2. RBC tocopherol, MDA함량

Horwitt등³⁰⁾에 의하면 *in vitro*에서 RBC membrane내의 tocopherol은 세포막 인지질에 부착되어 있는 불포화 지방산의 자동산화를 억제하고 free radical을 제거함으로써 세포막의 integrity를 유지하여 준다고 하였다. 본 연구에서 고지방 식이의 경우 RBC tocopherol은 BT, CO, FO군이 거의 같은 수준으로 plasma tocopherol과는 다른 변화양상을 보여 주었다 (Table 4, Fig. 1). 그간의 연구^{31, 32)}에서 plasma와 RBC의 tocopherol함량은 서로 직접적인 상관관계가 있다고 하였으나 최근의 보고들^{33~35)}에서 plasma tocopherol은 RBC tocopherol보다는 오히려 plasma내 지질함량과 관련이 있어 plasma 지질함량이 증가함에 따라 plasma tocopherol함량도 같이 증가된다고 하였다. RBC tocopherol의 변화와 관계없이 RBC MDA는 BT군에 비해 CO군과 FO군에서 모두 증가되었고 특히 FO군은 유의성 있게 높았다 (Table 4, Fig. 2). 따라서 RBC MDA는 RBC tocopherol보다

는 RBC 세포막내의 지방산 조성과 더 밀접한 관계가 있는 것으로 사려되며, Victor 등³⁶⁾도 식이중 long chain PUFA의 함량이 높을수록 RBC MDA가 증가되었다고 하였다.

3. RBC hemolysis

적혈구 세포막의 hemolysis test는 일반적으로 tocopherol의 영양상태를 판정하는데 사용되어온 방법으로 만약 tocopherol이 부족할 경우 RBC 세포막의 integrity가 불안정해져 지질 과산화를 일으키기 쉽고, 따라서 RBC hemolysis가 증가된다고 하였다³¹⁾. 본 연구에서 RBC MDA와 마찬가지로 RBC hemolysis는 유의성은 없었지만 식이지방의 불포화도가 높을수록 증가되었는데 (Table 4), 앞서의 여러 보고들^{15, 16, 30~33)}에 의하면 n3 PUFA는 체내 여러 조직의 세포막 인지질에 효과적으로 부착되며 자체내 높은 불포화도로 인해 세포막의 지질 과산화반응이 증가될수록 세포막 integrity가 불안정해져 hemolysis가 일어나기 쉽다고 하였다. 특히 peroxidized fat은 tocopherol의 turnover를 가속화시키고 결과적으로 적절한 양의 tocopherol에도 불구하고 tocopherol의 필요량을 증가시킨다고 하였다³⁷⁾.

또 Han과 Park의 보고³⁸⁾에서 RBC hemolysis는 plasma tocopherol과 역의 상관관계가 있다고 하였고, 이미 RBC tocopherol보다는 plasma tocopherol이 증가됨에 따라 RBC hemolysis가 감소되었다는 많

Table 5. Effect of dietary fats on levels of tocopherol, MDA, SOD and GSH-Px activity in liver of rats

	Dietary groups		
	B T	C O	F O
Tocopherol (mg /g liver)	1.95±0.59 (6)	1.69±0.51 (7)	2.01±0.86 (6)
M D A (nmole /g liver)	1.67±0.30 ^b (10)	1.83±0.49 ^b (10)	3.27±1.31 ^a (8)
S O D (U /mg protein)	6.01±1.25 (10)	6.52±1.73 (9)	9.15±4.92 (10)
GSH-Px ¹⁾	2.28±0.78 (9)	2.58±1.36 (9)	2.98±1.73 (9)

Values are Mean ± S. D.

(): Number of rats

GSH-Px: Glutathione peroxidase SOD: Superoxide dismutase

1) : Enzyme unit was expressed in μ moles of NADPH /min /mg protein

Superscript a or b: Values with different alphabet were significantly different at $p < 0.05$ by Scheffe test.

은 보고가 있다³⁷⁻³⁹⁾. 본연구에서도 n6 LA에 비하여 n3 EPA+DHA에 의해 plasma tocopherol이 유의성 있게 감소됨과 동시에 RBC MDA는 높아져 결국 hemolysis가 증가되었는데 hemolysis에 관한 기전으로는 생성된 lipid peroxide가 세포막의 지질구조에 손상을 주거나 erythrocyte acetyl choline esterase의 활성을 억제하기 때문으로 알려져 있다³¹⁾.

4. 간조직의 tocopherol과 MDA함량

고지방 식이시 간의 tocopherol도 plasma tocopherol과는 달리 일관성이 없었는데 (Table 5, Fig. 1), Bieri와 Evart⁴⁰⁾에 의하면 쥐에게 16%(w/w)수준의 고불포화 지방식을 tocopherol과 함께 투여했을 때 간의 tocopherol은 식이중 PUFA에 의해 아무런 영향이 없었다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 고지방 식이로 인해 지방과 함께 tocopherol의 섭취가 많기도 하였지만 앞서의 보고⁴¹⁾에서는 고지방 식이시 간에 TG가 더 유입되어 TG 함량이 높았는데 이때 tocopherol도 지방량에 비례해서 같이 저장되었을 수도 있다고 생각된다. 한편 간의 MDA는 RBC에서와 같은 양상으로 BT군에 비해 CO군과 FO군에서 증가되었으며 특히 FO군에서는 두 군에 비해 유의성 있게 증가되었다 (Table 5, Fig. 2). Hu 등¹⁴⁾에 의하면 쥐에

세 기름 kg당 50 IU의 tocopherol을 첨가한 CO(corn oil: lard=1:1)식이와 menhaden oil (MO)식을 10%(w/w) 수준으로 5주간 투여한 경우 MO식에 의해 간의 MDA가 더 높아졌다고 하였다. 또 쥐에게 4주간 marine oil을 투여한 경우 plasma와 간의 α -tocopherol은 유의성 있게 감소된 반면 MDA는 유의성 있게 증가되었다고 하였다²⁸⁾. Garrido 등¹⁵⁾에 의하면 MDA는 수용성이며 세포와 조직으로부터 혈액으로 대사되고 소변으로 배설되는 데 쥐에게 매일 체중 kg당 4 g의 sardine oil을 2주간 투여한 결과 소변내의 MDA가 높아졌으며 이는 식이중 n3 EPA에 의해 RBC membrane과 간의 microsome에 EPA와 DHA의 incorporation이 증가되어 지질 과산화반응이 빠르게 진행되고 결국 RBC와 간의 MDA가 높아진 데 기인한다고 하였다. Bieri 등³²⁾에 의하면 조직내 tocopherol은 plasma tocopherol에 비례한다고 하였고, Mouri 등²⁸⁾도 쥐에게 8%(w/w) 수준의 marine oil을 4주간 투여시 plasma와 간의 tocopherol이 모두 감소되었다고 하였다.

5. 간조직의 SOD와 GSH-Px 활성도

SOD는 superoxide anion을 제거시키는 효소로 SOD의 활성이 억제되면 superoxide anion이 hydro-

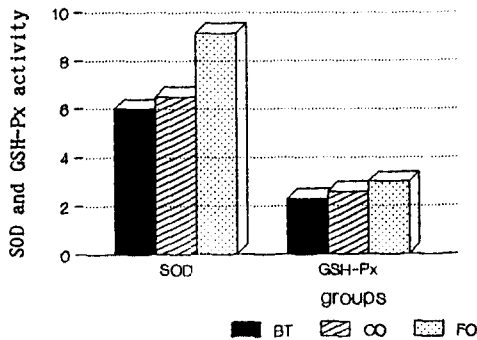


Fig. 3. Effect of dietary fats on liver SOD (U/mg protein) and GSH-Px (μ moles of NADPH/min/mg protein) in rats fed high fat diet.

gen peroxide와 반응하여 hydroxyl radical을 생성하고 지질 과산화반응이 촉진되어 세포막의 integrity가 손상되는 것으로 알려져 왔다⁴²⁾. 본 연구에서 SOD 활성은 Table 5에서와 같이 유의성은 없었지만 BO군에 비해 CO군과 FO군에서 증가되었고 FO군에서 더욱 높아 결국 불포화도가 높아짐에 따라 SOD도 증가됨을 알 수 있었다(Table 5, Fig. 3). Cherr 등⁴³⁾은 간의 MDA 증가와 함께 SOD의 활성도 높아지는 경의 상관 관계를 보였다고 하였으며, 식이중 n3 EPA에 의해 RBC membrane과 간의 microsome에 EPA와 DHA의 incorporation이 증가되어 지질 과산화반응이 빠르게 진행되고 결국 RBC와 간의 MDA가 높아졌다고 하였다. 앞서의 연구⁴¹⁾에서 저지방 식이인 경우 투여된 tocopherol은 식이지방산의 지질 과산화반응으로 인한 MDA형성을 막아줄 수 있었으나 본 연구에서와 같이 고지방 식이의 경우에는 지방산의 불포화도가 높아짐에 따라 RBC와 간의 tocopherol함량은 plasma에서와 다르게 일관성이 없었던 반면 MDA와 SOD 활성이 증가되었다.

GSH-Px는 selenium을 함유하면서 intracellular phospholipase A₂에 의해 분비되어 지질 과산화물의 해독기능을 갖고 있는 효소로서 식이내 불포화 지방산의 섭취가 증가됨에 따라 생체막에서 불포화 지방산의 비율이 높아지고 이에 대해 과산화 반응이 촉진되어 그 방어기전으로서 GSH-Px의 활성이 증가된다고 보고되고 있다^{44, 45)}. 본 연구에서는 BT군에 비해 CO군과 FO군에서 GSH-Px의 활성이 증가되었으나 SOD

보다는 식이 지방산에 의한 영향이 덜하였다. 최근에 Yoshioka 등⁴⁶⁾의 보고에 의하면 vitamin E-결핍식이 (1:6 mg α -tocopherol acetate /100g diet)를 먹인 쥐의 plasma와 간에서 tocopherol의 감소와 함께 lipid peroxide도 오히려 감소되었는데 이는 tocopherol의 결핍으로 SOD, GSH-Px, catalase와 같은 peroxide scavenging enzyme의 활성이 증가되어 lipo-peroxide의 합성과 조직으로의 축적을 막아주었기 때문이며 이러한 효과는 tocopherol이 더욱 강력하다고 하였다. 또 plasma tocopherol농도는 GSH-Px 활성과 역의 상관관계가 있다고 하였다. 본 연구에서는 SOD와 GSH-Px의 활성이 증가와 함께 RBC와 간조직 중의 MDA도 역시 증가된 것으로 보아 투여된 tocopherol이 고지방 식이의 경우 조직내의 지질 과산화물의 생성을 막기에 충분한 양은 아니었다고 사려된다.

요 약

본 연구에서는 생후 17주된 Sprague Dawley종 수컷쥐에게 식이지방량이 총섭취 열량의 40%인 고지방 식이시 n6 linoleic acid, n3 EPA와 DHA 지방산을 충분한 양의 tocopherol과 함께 6주간 투여하였을 때 이들 지방산이 plasma와 RBC, 간조직의 tocopherol, MDA함량과 간의 SOD, GSH-Px의 활성에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다

Plasma tocopherol은 지방산의 불포화도가 높을수록 감소되었으나 plasma MDA는 식이 지방산 종류에 의한 차이가 없었다. RBC MDA는 n6 LA에 비해 n3 LL와 EPA + DHA에 의해 증가되었고 RBC hemolysis도 증가되었다. 간과 RBC의 tocopherol 함량은 식이 지방산의 종류에 따른 영향이 없었으나 MDA 함량은 유의성 있게 증가되었다. 간조직의 SOD와 GSH-Px활성은 식이 지방산의 불포화도가 높을수록 모두 증가되었으나 GSH-Px는 SOD에 비하여 식이 지방산에 의한 영향이 덜하였다. 결론적으로, 고지방 식이를 할 경우 SOD와 GSH-Px 활성이 높아져도 RBC와 간조직의 MDA는 오히려 증가되어 지질 과산화물의 생성을 막아주지 못하였다. 최근 우리나라의 경우 동물성 식품의 지속적인 섭취 증가로 식이중 열

량과 지방의 양이 계속 증가되고 있는 추세이며 이로 인한 여러 순환기계질환의 예방을 위해 n3 PUFA를 섭취할 경우 결국 더 많은 tocopherol 섭취가 필요할 것으로 사려된다.

참고문헌

1. Kinsella, J. E., Lokesh, B. and Stone R. A. : Dietary polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease : possible mechanisms. *Am. J. Clin. Nutr.*, **52**, 1(1990)
2. Austin, M. A. : Plasma triglyceride and coronary heart disease. *Arteriosclerosis and thrombosis*, **11**, 1(1991)
3. Sterwart, J. R., Fryer, F. B. and Fryer, H. C. : Effect of dietary fiber, carbohydrate, lipid and protein levels on serum and liver lipids in rats. *J. Nutr.*, **117**, 605(1987)
4. 경제기획원 조사통계국, 1985년도 한국인 사망원인 통계. 한국통계연보 (1986)
5. Paul, R., Ramesha, C. S. and Ganguly, J. : On the mechanism of hypocholesterolemic effects of polyunsaturated lipid. *Adv. Lipid Res.*, **17**, 155(1980)
6. Dolecek, T. A. and Grandits, S. : Dietary polyunsaturated fatty acids and mortality in the multiple risk factor intervention trial. *World Rev. Nutr. Diet.*, **66**, 205(1991)
7. Simopoulos, A. P. : Summary of the NATO advanced research workshop on dietary ω 3 and ω 6 fatty acids : Biological effects and nutritional essentiality. *J. Nutr.*, **119**, 521(1989)
8. Health claims : Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Nutr. Rev.*, **50**, 150(1992)
9. Hwang, D. H., Boudreau, M. and Chanmugam, P. : Dietary linoleic acid and longer chain n-3 fatty acids: comparison of effects on arachidonic acid metabolism in rats. *J. Nutr.*, **118**, 427(1988)
10. Simopoulos, A. P. : Omega 3 fatty acids in health and disease in growth and development. *Am J. Clin. Nutr.*, **54**, 438(1991)
11. Harris, W. S. : Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: a critical review. *J. Lipid Res.*, **30**, 785(1989)
12. Schmidt, E. B., Kristensen, S. D., Caterina, R. D. and Illingworth, D. R. : The effects of n-3 fatty acids on plasma lipids and lipoproteins and other cardiovascular risk factors in patients with hyperlipidemia. *Atherosclerosis*, **103**, 107(1993)
13. Donzel, A. J., Guenot, L., Maupoil, V., Rochette, L. and Rocquelin, G. : Rat vitamin E status and heart lipid peroxidation : effect of dietary α -linolenic acid and marine n3 fatty acids. *Lipids*, **28**, 651(1993)
14. Hu, M. L., Frankel, E. N., Leiboritz, B. E. and Tappel, A. L. L. : Effects of dietary lipids and vitamin E on *in vitro* lipid peroxidation in rat liver and kidney homogenates. *J. Nutr.*, **119**, 1574(1989)
15. Garrido, A., Garrido, F., Guerra, R. and Valenzuela, A. : Ingestion of high doses of fish oil increases the susceptibility of cellular membranes to the induction of oxidative stress. *Lipids*, **24**, 833(1989)
16. Cogrel, P., Morel, I., Lescoat, G., Chevane, M., Brissot, P. and Cillard, P. : The relationship between fatty acid peroxidation and α -tocopherol consumption in isolated normal and transformed hepatocytes. *Lipids*, **28**, 115 (1993)
17. Buckingham, K. W. : Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. *J. Nutr.*, **115**, 1425(1985)
18. Lehmann, J., Marshall, M. W., Slorer, H. T. and Lacono, J. M. : Influence of dietary fat level and dietary tocopherols on plasma tocopherols of human subjects. *J. Nutr.*, **107**,

- 1006(1977)
19. Geller, B. L. and Winge, D. R. : Subcellular distribution of superoxide dismutase in rat liver. *Methods in Enzymology*, **105**, 114(1984)
 20. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. T. : Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
 21. Desai, I. D. : Vitamin E analysis methods for animal tissues. *Methods in Enzymology*, **105**, 138(1984)
 22. Yagi, K. : Lipid peroxidations in biology and medicine. Academic press, N. Y. P. 223(1982)
 23. Taylor, S. L., Lamden, M. P. and Trappel, A. L. : Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis. *Lipids*, **11**, 530(1976)
 24. Drapper, H. H. and Csallany, A. S. : A simplification hemolysis test for vitamin E deficiency. *J Nutr.*, **98**, 390(1969)
 25. Winterbourn, C. C., Hawkins, R. E., Brian, M. and Carrell, R. W. : The estimation of red blood cell superoxide dismutase activity. *Methods in Enzymology*, **105**, 88(1984)
 26. Paglia, D. E. and Valentine, W. N. : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione. *J. Lab. Clin. Med.*, **70**, 158(1967)
 27. Machlin, L. J. and Bendich, A. : Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB. J.*, **1**, 441(1987)
 28. Mouri, K., Ikesu, H., Esaka, T. and Igarashi, O. : The influence of marine oil intake upon levels of lipids α -tocopherol and lipid peroxidation in serum and liver of rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **30**, 307(1984)
 29. Iritani, N., Fukuda, E. and Kitamura, Y. : Effect of corn oil feeding on lipid peroxidation in rats. *J. Nutr.*, **110**, 924(1980)
 30. Horwitt, M. K., Harvey, C. C., Duncan, G. D. and Wilson, W. C. : Effect of limited tocopherol intake in man with relationships to erythrocyte hemolysis and lipid oxidations. *Am. J. Clin. Nutr.*, **4**, 408(1956)
 31. Bieri, J. G. and Poukka, R. K. H. : *In vitro* hemolysis as related to rat erythrocyte content of α -tocopherol and polyunsaturated fatty acids. *J. Nutr.*, **100**, 557(1970)
 32. Bieri, J. G., Thorp, S. L. and Tolliver, T. J. : Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on tissue vitamin E status. *J. Nutr.*, **108**, 392(1978)
 33. Choi, I. S. and Jin, B. H. : Effect of sardine oil on plasma lipids, fatty acids composition of erythrocyte membrane phospholipids and lipid peroxide levels of plasma and liver in rats. *Korean J. Nutr.*, **20**, 330(1987)
 34. Steinberg, D. : Antioxidant vitamins and coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.*, **328**, 1487(1993)
 35. Sokol, R. J., Devereaux, M. and Khandwala, R. A. : Effect of dietary lipid and vitamin E on mitochondrial lipid peroxidation and hepatic injury in the bile duct-ligated rat. *J. Lipid Res.*, **32**, 1349(1991)
 36. Victor, C. G., Miller, J. S. and Ikharebha, S. O. : Effect of polyunsaturated fatty acids and antioxidants on lipid peroxidation in tissue cultures. *J. Lipid Res.*, **22**, 763(1981)
 37. Kubow, S. : Lipid peroxidation products in food and atherogenesis. *Nutr. Rev.*, **51**, 33(1993)
 38. Park, H. S. and Han, S. H. : Effect of n3 polyunsaturated fatty acids on serum lipoprotein and lipid compositions in human subjects. *Korean J. Nutr.*, **21**, 61(1988)
 39. Urano, S., Hashizume, M. H., Tochigi, N., Matsuo, M., Shiraki, M. and Ito, H. : Vitamin E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposomes to oxidative stress in aged diabetics. *Lipid* **26**, 58

- (1991)
40. Bieri, J. B. and Ewart, R. P. : Effect of plasma lipid level and obesity on tissue stores of α -tocopherol. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **149**, 500(1975)
 41. Nam, J. H. and Park, H. S. : Plasma lipid lowering effect of n6 and n3 polyunsaturated fatty acids in rats fed high carbohydrate diet. *Korean J. Nutr.*, **24**, 420(1991)
 42. Keen, C. L., Tamura, T., Lonnerdal, B., Hurley, L. S. and Halsted, C. H. : Changes in hepatic superoxide dismutase activity in alcoholic monkeys. *Am. J. Clin. Nutr.*, **41**, 929 (1985)
 43. Cherr, S. Z., Keen C. L., Lonnerdal, B. and Hurley, L. S. : Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in the rat : developmental correlations affected by manganese deficiency. *J. Nutr.*, **113**, 2498(1983)
 44. Chen, L. C., Boissonneault, G., Hayek, M. G. and Chow, C. K. : Dietary fat effects on hepatic lipid peroxidation and enzymes of H₂O metabolism and NADPH generation. *Lipids*, **28**, 657(1993)
 45. Kok, F. J., de Bruijn, A. M. and Verneeren, R. : Serum selenium, vitamin antioxidants, and cardiovascular mortality : a 9-year follow-up study in the Netherlands. *Am. J. Clin. Nutr.*, **45**, 462(1987)
 46. Yoshioka, T., Motoyama, H., Yamasaki, F., Ando, M., Yamasaki, M. and Takehara, Y. : Protective effect of vitamin E against lipoperoxides in developing rats. *Biol. Neonate.*, **51**, 170(1987)
-
- (1994년 12월 2일 수리)