

식이 Vitamin E 수준이 Cadmium 중독된 흰쥐 뇌조직의 지질과산화와 항산화효소활성에 미치는 영향

정선영 · 이순재* · 양정아

대구효성가톨릭대학교 식품영양학과

Effect of Dietary Vitamin E Levels on Lipid Peroxidation and Enzyme Activities of Antioxidative System in Brain of Cadmium Administered Rats

Sun-Young Jung, Soon-Jae Rhee* and Jeong-Ah Yang

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyongsan 713-702, Korea

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of dietary vitamin E levels on the enzymes such as superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px) and glutathione S-transferase (GST) involved in antioxidative defense system and lipid peroxidation in brain of cadmium administered rats. Sprague-Dawley male rats weighing $60 \pm 5g$ were divided into control and experimental groups. The experimental groups were divided into Cd-0E(vitamin E free diet), Cd-40E(40mg vitamin E/kg diet) and Cd-400E(400mg vitamin E/kg diet) according to the level of vitamin E supplementation. After each group was fed diet *ad libitum* for 2 or 4 weeks, 2.5mg cadmium per kg body weight was injected intraperitoneally once a day for 4 days. The rats were sacrificed for examination on the next day after the last injection of cadmium. The results are as follows: SOD activities of rat brain were lower in Cd-0E, but had a similar tendency to Cd-40E, Cd-400E groups compared with control group. GSH-Px activities of rat brain were decreased in Cd-400E, Cd-40E and Cd-0E groups. GST activities of rat brain were decreased in Cd-0E, Cd-40E groups and not significantly different in Cd-400E compared with control group. Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) of rat brain was increased in Cd-0E, Cd-40E, Cd-400E in that order, TBARS was lower in Cd-40E, and Cd-400E by 28.8% and 44%, respectively, than Cd-0E group. The present result suggests that high level of dietary vitamin E protects against lipid peroxidative damage in rat induced by cadmium.

Key words: cadmium toxicity, lipid peroxidation of brain tissue, antioxidative defense enzyme, vitamin E

서 론

Cd은 생체에 흡수되면 미량일지라도 잘 배설되지 않고 축적되어 발생되며 대사장애로는 만성 중독증인 Itai-Itai병을 비롯하여 중추신경계 이상, 체중감소, 빈혈, 간과 신장 등의 변화, 고혈압, 당뇨병, 골연화증 등을 일으킨다(1,2).

또한 선행연구(2)에서 Cd은 생체내에서 free radical의 유도물질(inducer)으로써 작용하여 조직의 과산화적 손상을 일으키는 것이 관찰되었다. 특히 포유동물의

중추신경계는 다른 조직에 비해 복합지질 성분을 함유하고 있고(3), Neuringer와 Connor(4)는 뇌조직은 산소소모량이 높고 산화되기 쉬운 불포화지방산 및 catecholamines 함량이 많은 반면 catalase 및 glutathione peroxidase(GSH-Px) 등 세포내 항산화 기전들의 활성이 다른 조직에 비해 낮아서 상대적으로 지질과산화가 쉬운 특성을 지니며 이로 인하여 뇌의 세포손상과 노화에 중요한 역할을 담당한다고 보고하였다.

한편 생체내에는 이러한 과산화적 손상의 요인이 되는 free radical을 제거해 주는 superoxide dismutase

* To whom all correspondence should be addressed
본 연구는 대구효성가톨릭대학교의 연구비에 의하여 연구되었음

(SOD)(5), GSH-Px(6), glutathione S-transferase(GST) (7)와 같은 효소적 방어계와 glutathione(GSH), vitamin E(8)와 같은 비효소적인 방어계가 있다. 그러나 이러한 방어계가 만약 생체의 병리적 혹은 외인적 요인에 의해 그 활성이 저하되면 생체는 과산화적 손상을 입게되지만, 식이내에 Se나 vitamin E 등의 첨가로 동물의 영양상태를 달리했을 때는 이러한 제거체를 강화시킬 수 있다는 보고(9,10)가 주목받고 있다.

지금까지 Cd은 체내에서 주로 신장과 간장에 축적되므로 그에 대한 연구는 많이 시행되고 있으나 뇌조직의 Cd에 의한 과산화적 손상과 그에 대한 항산화적 방어계에 대한 연구가 드물며 박(11)이 Cd 중독된 뇌조직의 과산화적 손상에 미치는 Se의 영향에 대한 보고 외에는 별로 없다.

따라서 본 연구는 Cd에 중독된 흰쥐 뇌조직에서의 vitamin E의 섭취수준에 따른 지질과산화물의 생성도와 그와 관련된 효소계의 활성 변화를 관찰하고자 시도 하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 식이

실험 동물은 체중이 $60 \pm 5g$ 되는 Sprague-Dawley 종 흰쥐 숫컷을 1주일간 예비사육한 후 난괴법(randomized complet block design)에 의해 Table 1과 같이 대조군과 실험군으로 나눈 후 실험군을 다시 식이내에 비타민 E를 급여하지 않은 군(Cd-0E), 비타민 E를 정상수준(40mg/kg diet)으로 급여한 군(Cd-40E), 비타민 E를 다량으로(400mg/kg diet) 급여한 군(Cd-400E) 등 각 10마리씩 4군으로 나누어 각각 2주 및 4주간 사육하였다.

비타민 E는 식이에 첨가하여 급여하였고 Cd은 식이

Table 1. Classification of experimental groups

Group	Vitamin E ¹⁾	Cd injection ²⁾
	(mg/kg diet)	(2.5mg Cd ⁺⁺ /kg of body wt)
Control	40	-
Cd-0E	0	+
Cd-40E	40	+
Cd-400E	400	+

¹⁾Vitamin E: DL- α -tocopherol acetate

²⁾Male rats treated as cadmium dichloride(CdCl₂ · 2½H₂O) were given 2.5mg Cd⁺⁺/kg of body weight by intraperitoneally injection once a day for 4 days
The rats were sacrificed for examination within 24hrs after the last injection

Table 2. Composition of basal diet

Ingredients	Basal diet(g/kg diet)
Corn starch ¹⁾	668
Casein ²⁾	180
DL-methione ³⁾	2
Corn oil ⁴⁾	50
Vitamin mix ⁵⁾	10
Salt mix ⁶⁾	40
Cellulose ⁷⁾	50
<hr/>	
kcal/kg	3850

¹⁾Pung jin Chem. Co.

²⁾Lactic Casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board, Wington, N. Z.

³⁾Sigma Chem. Co.

⁴⁾Dong Bang Oil Co.

⁵⁾Vitamin E free mix: according to NRC(19)

⁶⁾Salt mix: according to Haper's(19)

⁷⁾Sigma Chem. Co.

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

급여 2주 및 4주 후에 체중 kg당 2.5mg을 일정시간에 하루 한번씩 4일간 투여하였고 마지막 투여 후 24시간 뒤에 쥐를 희생시켰다.

기본 실험식이의 조성은 Table 2와 같다.

체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

식이와 식수 섭취량 및 체중은 전 실험기간을 통하여 매일 일정한 시간에 측정하였다. 식이 효율은 전 체중 증가량을 같은 기간 동안의 식이 섭취량으로 나누어 줌으로써 계산하였다.

분석시료의 전처리

사육한 실험 동물을 가벼운 ether 마취하에서 희생시킨 후 뇌조직을 적출하여 생리식염수로 씻어내고 무게를 측정된 후 액체질소로 급동결시켜 -80°C에 보관하였다. 뇌조직을 Potter-Elvehjem homogenizer를 사용하여 0.25M Sucrose/0.5mM ethylene diamine tetra-acetic acid(EDTA)/5mM N-2-hydroxyethyl piperazine-N-2-ethane sulfonic acid(HEPES)용액으로써 10%(w/v) 마쇄액을 만들어서 박(11)의 방법에 따라 전처리하였다.

Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase 활성 측정

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund(12)의 방법, GSH-Px의 활성은 Lawrence 및 Burk(13)의

방법, GST 활성도 측정은 Habig 등(14)의 방법에 의하여 측정하였다.

과산화지질 정량

과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid와 반응하여 생성되는 TBARS를 측정하는 Satoh방법(15)을 이용하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 표준차이가 있는가를 검증하기 위하여 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며, 분산분석결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's HSD test(16) 의해 분석하였다.

결 과

체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 뇌의 무게

실험 2주간과 4주간의 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율을 관찰한 결과는 Table 3과 같다.

전 실험기간 동안 체중변화를 관찰한 결과 2, 4주 모두 대조군에 비해 실험군 모두 유의적으로 감소했다. 식이 섭취량은 2주때는 각 실험군 간에 유의적인 차이가 없었으나, 4주간 사육한 경우 대조군에 비해 Cd-0E 군만이 유의적으로 낮았다. 한편, 식이 효율은 2주 및 4주 모두 대조군에 비해 실험군들이 모두 낮았으나 실험군간에는 차이가 없었다.

뇌 무게는 Table 3에서 보는 바와 같이 대조군에 비해 실험군 모두 유의적인 차이가 없었다

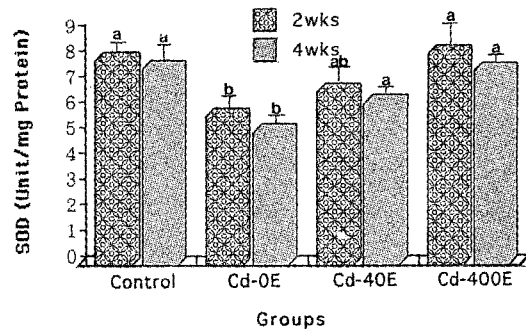


Fig. 1. Effect of dietary vitamin E on the activity of superoxide dismutase in brain of cadmium administered rats.

Foot notes are the same as in Table 3.

Superoxide dismutase(SOD), Glutathione(GPX) 및 Glutathione S-transferase(GST) 활성

SOD의 활성을 관찰한 결과 Fig. 1과 같다. 실험 2주 및 4주 후 SOD의 활성은 모두 대조군에 비해 Cd-0E 군이 유의적으로 낮았으나 Cd-40E와 Cd-400E군은 차이가 없었다. 그러나 실험군간에는 2주의 경우 Cd-400E군이 유의적으로 높았다.

GSH-Px 활성을 측정된 결과 Fig. 2와 같다. 실험 2주, 4주 후 GSH-Px 활성은 모두 대조군에 비해 실험군인 Cd-400E, Cd-40E, Cd-0E군 순으로 각각 16%, 32%, 44% 감소하였으며, Cd-0E군에 비해 Cd-40E군간은 차이가 없었으나 Cd-400E군은 그 활성이 높아 유의성이 인정되었다.

GST 활성을 측정된 결과는 Fig. 3와 같다. 실험 2주, 4주 후 GST 활성은 모두 대조군에 비해 Cd-0E, Cd-40E군에서는 유의적으로 낮았으나 Cd-400E군은 차

Table 3. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio and brain weight of experimental rats

Groups	Body weight gain	Food intake	FER	Brain
	(g)	(g/day)		(g/100g of body weight)
2wks				
Control	116.20 ± 9.12 ^a	21.51 ± 2.10 ^{NS}	0.33 ± 0.02 ^a	0.47 ± 0.02 ^{NS}
Cd- 0E	40.12 ± 12.13 ^b	16.49 ± 1.92	0.16 ± 0.03 ^b	0.41 ± 0.12
Cd- 40E	43.10 ± 9.12 ^b	16.11 ± 2.11	0.17 ± 0.04 ^b	0.48 ± 0.03
Cd-400E	46.28 ± 5.15 ^b	17.44 ± 2.55	0.19 ± 0.03 ^b	0.45 ± 0.02
4wks				
Control	206.54 ± 10.15 ^a	19.91 ± 0.84 ^a	0.34 ± 0.02 ^a	0.50 ± 0.02 ^{NS}
Cd- 0E	133.33 ± 6.15 ^b	16.45 ± 0.56 ^b	0.28 ± 0.01 ^b	0.49 ± 0.02
Cd- 40E	154.25 ± 8.14 ^b	17.88 ± 1.25 ^{ab}	0.27 ± 0.02 ^b	0.51 ± 0.05
Cd-400E	148.54 ± 9.52 ^b	17.66 ± 2.54 ^{ab}	0.27 ± 0.03 ^b	0.49 ± 0.04

All values are mean ± SE(n=10)

Values within a column with different superscript are significantly different at p<0.05 by tukey's test

^{NS}Not significant

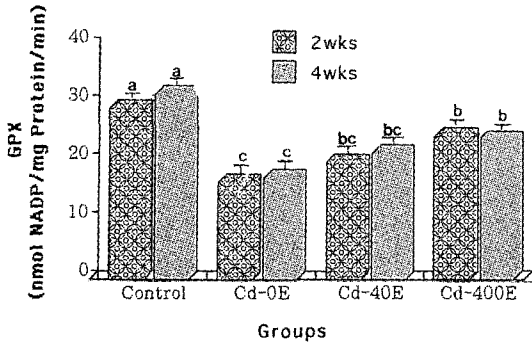


Fig. 2. Effect of dietary vitamin E on the activity of glutathione peroxidase in brain of cadmium administered rats. Foot notes are the same as in Table 3.

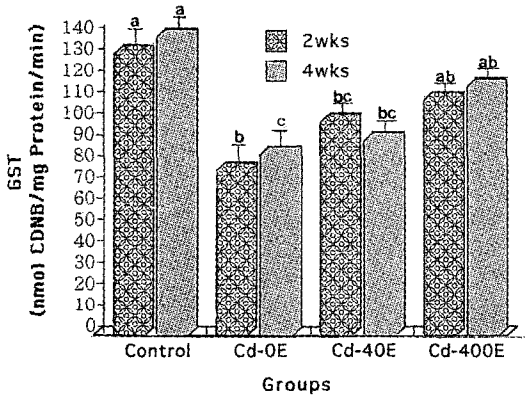


Fig. 3. Effect of dietary vitamin E on the activity of glutathione S-transferase in brain of cadmium administered rats. Foot notes are the same as in Table 3.

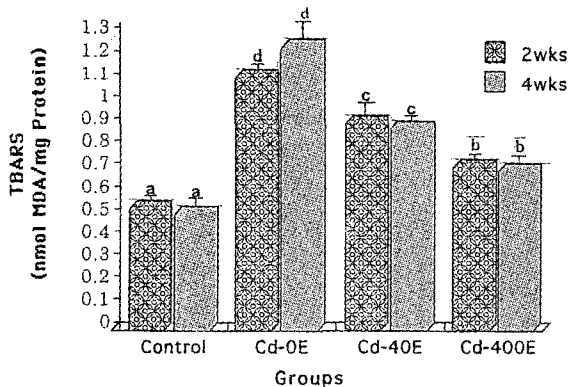


Fig. 4. Effect of dietary vitamin E on the contents of TBARS in brain of cadmium administered rats. Foot notes are the same as in Table 3.

이가 없었으며 실험군간에는 Cd-0E군이 Cd-400E군에 비해 유의적으로 낮았다.

과산화지질 함량

생체조직의 지질과산화적 손상의 지표로 알려져 있는 과산화지질 함량을 측정된 결과 Fig. 4와 같다. 과산화지질 함량은 대조군에 비하여 실험군 Cd-0E, Cd-40E, Cd-400E군은 각각 2.5배, 1.8배, 1.4배 증가하였으며, 실험군간에는 Cd-400, Cd-40E군이 Cd-0E군에 비해 그 함량이 44%, 28.8%씩 낮았다.

이상의 결과를 미루어 볼 때 Cd 중독시 식이 중 vitamin E가 쥐 뇌조직의 여러 항산화효소계의 반응을 강화함으로써 지질과산화적 손상을 완화시켜 준다고 볼 수 있다.

고 찰

본 연구는 식이 vitamin E 수준이 Cd 중독된 흰쥐 뇌조직의 지질과산화와 항산화효소활성에 미치는 영향을 알아보고자 시도하였다.

생체는 내인적 혹은 중금속과 같은 외인적 요인에 의하여 유리산소를 생성하고 이 산소의 환원과정에서 생성되는 free radical에 의하여 지질과산화물이 형성되어 세포막에 손상을 주며(17), 아울러 단백질, 특히 효소의 sulfhydryl기의 산화 및 DNA의 손상을 일으켜 생체에 비가역적인 상해를 초래하여 노화, 성인병, 암, 퇴행성질환 등을 유발하게 된다(18).

SOD는 superoxide radical을 환원시켜 H₂O₂로 바꾸어 주며, 또 여기서 생성된 H₂O₂는 다시 GSH-Px와 catalase의 작용에 의해 H₂O로 배설됨으로써 산소독으로부터 생체를 보호하는 효소들이다(5). 본 실험에서 SOD 효소활성은 대조군에 비해 vitamin E 비투여군인 Cd-0E군이 유의적으로 낮았으나 Cd-40E, Cd-400E군과는 차이가 없었다. 김 등(2)의 연구에 의하면 Cd를 투여한 흰쥐 간조직에서의 SOD활성이 감소하였으나 항산화물질인 Se를 투여시에는 그 활성이 증가한 보고와 비슷한 경향으로 vitamin E도 항산화방어를 강화함으로써 SOD 효소활성이 증가한 것으로 사료된다.

GSH-Px는 생체내에서 H₂O₂와 GSH로부터 불과산화형 glutathione(GSSG)를 생성하는 1반응과 기타 과산화물(ROOH)과 GSH로부터 GSSG, alcohol(ROH) 및 물을 생성하는 반응을 촉매함으로써 조직의 과산화적 손상을 방지하고 산소독을 해독한다(6). 본 실험에

서 GSH-Px 활성도는 대조군에 비하여 실험군이 Cd-400E, Cd-40E, Cd-0E순으로 낮았으며 실험군간에는 vitamin E를 다량 투여한 Cd-400E군이 유의적으로 증가하였다. 한편, GST는 변이성 물질, 발암성 물질, 독성물질 등의 대사산물, 그리고 내인성 독소들 중에서 친전자성 물질 등에 환원형 glutathione을 포함시켜 glutathione thioester(R-S-G)를 형성하는 반응을 촉매하는 효소이다(7). 본 실험에서 GST활성은 대조군에 비해 Cd-0E, Cd-40E에서는 낮았으나 Cd-400E군과는 유의적인 차이가 없었다.

이러한 연구 결과는 납중독으로 GSH-Px, GST 활성이 감소되었으나 식이내 vitamin E를 충분히 첨가한 경우 대조군에 비해 실험군의 GSH-Px, GST 활성이 증가하였다는 보고(19)와 일치하였다. 따라서 GSH-Px, GST 활성 저하는 Cd 투여로 인한 조직의 과산화적 손상에 기인하며, vitamin E 첨가시는 세포막을 과산화로부터 보호하는데 기여하기 때문인 것으로 생각된다.

지질과산화물 함량은 대조군에 비하여 Cd-0E, Cd-40E, Cd-400E군은 각각 2.5배, 1.8배, 1.4배 증가하였고, Cd-40E, Cd-400E는 Cd-0E군에 비해 각각 29%, 44% 낮아졌다. Yu와 Young(20)이 다량의 불포화지방산과 vitamin E 결핍식으로 사육한 닭의 뇌혈관 내피 세포성분의 변성과 과산화적 손상을 보고하였으며, 또한 최(21)의 연구에서 당뇨병 유발군에서 식이 vitamin E 공급수준이 증가함에 따라 과산화지질가가 감소되었다는 보고와 일치하였는데 이러한 결과는 vitamin E가 세포막의 불포화지방산의 지질과산화과정에서 자동연쇄반응으로 생성되는 peroxy radical 형성을 저하시키는 역할을 하는 것으로 생각된다.

이상의 결과로 Cd투여군에서 vitamin E 비투여시, SOD, GSH-Px, GST 활성이 현저히 감소되면서 지질과산화도는 증가하였으나 vitamin E를 40, 400mg/kg of diet를 첨가하였을 때는 vitamin E 함량에 비례하여 SOD, GSH-Px, GST 활성이 증가되었으며 지질과산화합량은 감소되었다.

결론적으로 Cd 중독된 흰쥐에서는 대조군에 비해 지질과산화반응이 촉진되었으나 식이내 vitamin E의 적절한 첨가시에는 항산화계 효소활성이 증가됨으로 인하여 지질과산화가가 감소하게 된 것으로 보인다. 이는 vitamin E가 뇌세포에 다량 존재하는 다불포화지방산에 대해 chain-breaking antioxidant로써 작용하여 세포 소기관들을 지질과산화로부터 보호하여 효소활성의 최적상태를 유지시켜줌으로써 Cd에 의한 뇌조직의 손상을 완화시켜주는 것으로 볼 수 있다.

요 약

식이 vitamin E 수준이 Cd 중독된 흰쥐 뇌조직내의 지질과산화와 항산화계에 미치는 영향을 알아보기 위해 체중 $60 \pm 5g$ 되는 Sprague-Dawley종 흰쥐 숫컷을 식이내 vitamin E 함량을 0, 40, 400mg/kg of diet로 나누어 각각 2주 및 4주간 사육한 후 체중 kg당 2.5mg Cd을 하루에 한번씩 4회 투여하여, 실험 종료 후 쥐를 희생시켜 뇌조직내의 SOD, GSH-Px, GST의 항산화 효소활성 및 지질과산화가를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 전 실험기간 동안 체중변화를 관찰한 결과 대조군에 비해 실험군들이 모두 유의적으로 감소하였고, 식이 섭취량은 2주간 사육한 대조군과 각 실험군간에 차이가 없었으나, 4주간 사육한 대조군에 비해 Cd-0E군만이 유의적으로 낮았다. 식이 효율도 2주 및 4주 모두 대조군에 비해 실험군들이 모두 낮았다. 뇌, 간장 및 신장의 무게는 대조군과 실험군 간에 유의적인 차이가 없었다. SOD의 활성을 관찰한 결과 대조군에 비해 Cd-0E군이 유의적으로 낮았으나 Cd-40E와 Cd-400E군과는 차이가 없었다. GSH-Px 활성은 대조군에 비해 실험군이 Cd-400E, Cd-40E, Cd-0E순으로 낮았다. GST 활성을 측정된 결과는 대조군에 비해 Cd-0E, Cd-40E군에서는 유의적으로 낮았으며, Cd-400E와는 차이가 없었다. 뇌조직의 지질과산화가를 측정된 결과, 대조군에 비하여 Cd-0E, Cd-40E, Cd-400E군은 각각 2.5배, 1.8배, 1.4배 증가하였다. 그리고 Cd-40E, Cd-400E는 Cd-0E군에 비해 각각 28.8%, 44% 지질과산화가가 각각 낮았다. 2주 및 4주 동안 실험기간의 효소활성 및 과산화지질 함량은 유의적인 차이가 없었다. 결론적으로 Cd 중독된 흰쥐 뇌조직에서는 대조군에 비해 지질과산화 반응이 촉진되었으나 식이내 vitamin E의 적절한 첨가는 항산화계를 강화시킴으로써 뇌조직의 과산화적 손상을 완화시키는데 기여함을 알 수 있었다.

문 헌

1. Page, A. L. and Chang, A. C. : Cadmium. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, p.33(1986)
2. 김성옥, 이순재, 최원경, 조성희 : Cd투여 흰쥐 간장내의 과산화적손상에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, 21, 601(1992)
3. Neuringer, M., Anderson, G. J. and Connor, W. E. : The essentiality of ω 3 fatty acids for development and function of the retina and brain. *Ann. Rev. Nutr.*, 8, 517(1988)
4. Neuringer, M. and Connor, W. E. : ω -3 fatty acid in the brain and retina ; Effect of their essentiality. *Nutr.*

- Rev.*, **44**, 285(1986)
5. Forman, H. J. and Fridovich, I. : Superoxide dismutase : A comparison of rate constants. *Arch. Biochem. Biophys.*, **158**, 396(1973)
 6. Awasthi, Y. C., Beulat, E. and Srivastara, S. K. : Purification and properties of human erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.*, **250**, 5114(1975)
 7. Bompert, G. J., Prevot, D. S. and Bascands, J. L. : Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and S-transferase activity : application to cisplatin-induced toxicity. *Clin. Biochem.*, **23**, 501(1990)
 8. Palamanda, J. R. and Kehrer, J. P. : Involvement of vitamin E and protein thiols in the inhibition of microsomal lipid peroxidation by glutathione. *Lipid*, **28**, 427(1993)
 9. Miguel, J., Quintanilha, A. T. and Weber, H. : Selenium and lipid peroxidation in human and experimental cardiovascular disease. In "Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine" CRC Press, Florida, Vol. 2, p.237(1989)
 10. Tappel, A. L. : Vitamin E as the biological lipid antioxidant. *Vitamin and Hormones*, **20**, 493(1962)
 11. 박미향 : Cadmium 투여 흰쥐 뇌조직의 과산화적 손상과 항산화계에 미치는 식이 selenium의 투여기간별 영향. *한국노화학회지*, **4**, 14(1994)
 12. Marklund, S. and Marklund, G. : Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, **47**, 469(1974)
 13. Lawrence, R. A. and Burk, R. F. : Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **71**, 952(1976)
 14. Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B. : Glutathione-S-transferase : The first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130(1974)
 15. Satoh, K. : Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, **90**, 37(1978)
 16. Misra, H. P. : Generation of superoxide free radical during the autoxidation of the thiols. *J. Biol. Chem.*, **249**, 2152(1974)
 17. Rolando, F. D. M., Howard, H. T., Jacob, B., Manfred, P. and Karl, E. A. : Free radicals mediators of tissue injury. *Acta Physiol. Scand.*, **492**, 43(1980)
 18. Halliwell, B., Murcia, M. A., Chirico, S. and Aruoma, O. A. : Free radical and antioxidants in food and *in vivo*. What they do and how they work. *Critical Rew. in food science and nutrition*, **35**, 7(1995)
 19. 이순재, 박규영, 김관유 : 식이 vitamin E와 selenium이 납중독 흰쥐에 있어서 조혈 작용과 항산화적 해독기구에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **22**, 651(1993)
 20. Yu, W. A. and Young, P. A. : Ultrastructural changes in the cerebrovascular endot helium induced by a diet high in linoleic acid deficient in vitamin E. *Exp. Mol Path.*, **21**, 289(1974)
 21. Choe, W. K., Rhee, S. J. and Ha, T. Y. : The effect of vitamin E on the antioxidative defense mechanism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nippon Eiyo Shokryo Gakkaishi*, **48**, 451(1995)

(1996년 5월 25일 접수)