

지방산 및 비타민 E 보충 식이가 제 2세대 흰쥐 간조직과 혈청의 항산화체계에 미치는 영향

황혜진[†] · 박정화* · 엄영숙* · 정은정** · 김수연* · 이양자*

동의대학교 식품영양학과

*연세대학교 식품영양학과

**강남대학교 교양학부

Effects of Fatty Acids and Vitamin E Supplementation on Antioxidant Systems in the Liver and Serum of the Second Generation Rat

Hye Jin Hwang[†], Jung Hwa Park*, Young Sook Um*, Eun Jung Chung**,
Soo Yeon Kim* and Yang Cha Lee-Kim*

Dept. of Food & Nutrition, Dongeui University, Busan 614-714, Korea

*Dept. of Food & Nutrition, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

**General Education, Kangnam University, Kyunggido 449-702, Korea

Abstract

Effects of dietary fatty acids and vitamin E on antioxidant system were studied in rat liver and serum. Sources of dietary fat (10 wt%) were safflower oil (SO) poor in ω 3 fatty acid and mixed oil (MO) with computer-adjusted fatty acid ratios (AA/DHA=1.4, ω 6/ ω 3=6.3, P/M/S=1.0/1.5/1) with (ME) and without (MO) vitamin E (500 mg/kg diet). Rats were fed the three kinds of diet from 3~4 wks prior to the conception. At the age of 3 and 9 wks of the second generation rat, antioxidant vitamins and glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD) activities were measured in the liver and serum. The concentrations of β -carotene were lower in ME than in MO and SO in the liver at the age of 3 wks. It seemed that vitamin E has an inhibitory action on the uptake of β -carotene or acts as a preferred antioxidant to β -carotene. The concentrations of lycopene were lower in SO than in MO in the liver at the age of 3 wks. The concentrations of cryptoxanthin showed no significant changes within groups. The activities of GSH-Px tended to increase in ME compared to MO and the ratios of SOD/GSH-Px tended to decrease in ME compared to MO in the liver at the age of 3 weeks. The activities of antioxidant enzyme at the age of 3 weeks and 9 weeks were similar. This suggested that the activity level of antioxidant enzymes reached to the adult level at the age of 3 weeks which is the end point of lactation period.

Key words: fatty acids, vitamin E supplementation, antioxidant vitamins, glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD)

서 론

과량의 불포화도가 높은 LCPUFA(long chain polyunsaturated fatty acid) 섭취가 장기간 계속되면 자유기(free radical)이 형성되는데, 이는 세포기능의 장애를 촉진하는 것으로 알려져 있다(1). 이러한 free radical을 제거해주는 제거계(scavenging system)로 효소적 항산화계(superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px), glutathione S-transferase(GST), catalase)와 비효소적 항산화계(glutathione(GSH), 비타민 A, C, E)가 있다(2-4). 자연에 있는 carotenoids는 현재까지 600여종이 밝혀졌고 그 중에서 10%

정도만이 비타민 A로 전환되며, 그 밖의 비타민 A 전구체는 아니지만 lutein, lycopene, zeaxanthin 등을 포함하여 식품 중에 많은 carotenoids가 조직 중에 분포하고 있다. Carotenoids는 심혈관계 질환이나 암과 같은 만성질환에 예방효과가 있는 것으로 보고되고 있으며, 이는 carotenoids가 singlet oxygen이나 free radical의 활성을 낮추어 지질산화의 개시 단계를 방해하거나 DNA손상을 막아주는 역할을 하기 때문으로 생각되고 있다(5,6). 비타민 E는 불포화지방산의 peroxidation과정에서 세포의 정상적인 기능을 유지하는 역할을 한다(7,8). 이는 비타민A에 대해 절약효과(sparing effect)가 있다고 알려져 있고(9), 비타민 A의 장내 흡수뿐 아니라 간에

[†]Corresponding author. E-mail: hhj2001@dongeui.ac.kr
Phone: 82-51-890-1594. Fax: 82-51-890-1579

서의 비타민 A의 저장을 늘려 준다고 한다.

대부분의 포유동물 조직의 낮은 산소 분압에서 항산화제로 작용하는 β -carotene은 산소가 높은 농도일 때 효율적인 비타민 E의 작용과 구분되는데(10), β -carotene은 lipid peroxidation동안에 peroxy radical과 작용하여 propagating step을 억제하는 것으로 보이며 가장 효과적인 hydroxyl radical의 scavenger인 비타민 E와의 상호작용은 세포의 항산화 능력을 향상시킬 수 있다고 하였다(11). 또한 Bendich등은 β -carotene뿐 아니라 vitamin A로 전환되지 않는 canthaxanthin역시 free radical의 quenching과 관련되는 기전에 의해 B lymphocyte의 반응을 증진시킬 수 있음이 보고되었다(12).

항산화 효소로 알려져 있는 SOD는 superoxide radical을 H_2O_2 로 전환시켜 제거시키는 효소로 그 활성이 억제되면 지질의 과산화 반응이 점진적으로 개시되어 세포막의 integrity가 손상된다(13). 이 H_2O_2 는 catalase와 GSH-Px에 의해 H_2O 로 전환되므로 뇌에서 SOD/(GSH-Px+catalase)의 비율이 조직의 산화적 스트레스에 중요한 요소가 된다고 한다(14).

본 연구에서는 흰쥐의 임신과 수유기 동안에 서로 다른 지방산 조성 및 비타민 E를 첨가한 실험 식이를 공급하여 제2세대 쥐의 간과 혈청에서 항산화 비타민 농도와 항산화 효소의 변화를 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 실험식이 조성

Sprague Dawley strain 흰쥐를 이용하여 환경에 적응시킨 뒤 임신 3~4주전부터 실험식이를 공급하여 교배시켰다. 출생한 새끼쥐에게는 어미와 같은 실험식이를 공급하여 생후 3주와 9주에 각각 희생시킨 뒤 각 실험군 당 6마리씩 간과 혈청을 분리하여 분석에 이용하였다.

실험식이 조성은 Table 1과 같다. 식이 지방 수준은 전체 무게의 10%로서, ω 3계 지방산을 결핍시킨 군(safflower oil: SO)과 ω 6 및 ω 3계 지방산을 적절한 비율(15,16)로 공급한 군(mixed oil: MO), 비타민 E를 보충한 군(MO+비타민 E: ME)으로 분류하였다.

여러 종류의 기름 지방산 조성을 컴퓨터에 입력하여 P/M/S 비율(1.0:1.5:1), ω 6/ ω 3 비율(6.3), arachidonic acid(AA)/docosahexaenoic acid(DHA) 비율(1.4)의 조건을 만족하는 기름의 배합을 구하여 혼합유군(MO)으로 하였다. 즉, 혼합유(MO)군은 corn oil(삼양사): soy bean oil: palm oil: canola oil(주식회사 농심 제공): menhaden oil(Zaphata, USA 제공): arachidonic acid의 비율을 18:5:45:25:5:2로 혼합한 것이었다(Table 2). 비타민 E의 수준은 모든 군에 50 mg α -tocopherol acetate/kg diet을 기본적으로 첨가하였고, 비타민 E를 보충한 군(ME)에는 500 mg α -tocopherol acetate/kg diet을 더 보충하였다. Vitamin mixture와 mineral mixture는 AIN-76(ICN, USA)을 사용하였다.

Table 1. Composition of experimental diets (%)

Ingredient	Experimental groups		
	Safflower oil (SO)	Mixed oil (MO)	MO+Vit. E (ME)
Carbohydrate ¹⁾	65.0	65.0	65.0
Protein: Casein	17.9	17.9	17.9
DL-Met	0.1	0.1	0.1
Fat: Safflower oil	10		
Corn oil		1.8	1.8
Soy bean oil		0.5	0.5
Palm oil		4.5	4.5
Canola oil		2.5	2.5
Menhaden oil		0.5	0.5
Arachidonic acid		0.2	0.2
Mineral mixture ²⁾	4	4	4
Vitamin mixture ³⁾	1	1	1
CMC ⁴⁾	2	2	2
α -Tocopherol acetate supplementation (mg/kg diet)	-	-	500

¹⁾Starch: sucrose = 80:20.

²⁾AIN-76 mineral mix (g/kg of mix): CaHPO₄, 500; NaCl, 74; K₂H₆O₇·H₂O, 220; K₂SO₄, 52; MgO, 24; MnCO₃, 3.5; FeC₆H₅O₇, 6; CuCO₃, 0.3; Na₂SeO₃·5H₂O, 0.01; KIO₃, 0.01; CrK (SO₄)₂·12H₂O, 0.55; sucrose, finely powdered, 118.03.

³⁾AIN-76 vitamin mix (g/kg of mix): thiamin HCl, 0.6; riboflavin, 0.6; pyridoxine HCl, 0.7; nicotinic acid, 3; D-calcium pantothenate, 1.6; folic acid, 0.2; D-biotin premix (1%), 2; cyanocobalamin (0.1%), 1; retinyl palmitate (vitamin A) pre-mix (250,000 IU/gm), 1; cholecalciferol (400,000 IU/g), 0.25; menaquinone, 0.05; sucrose, 990; α -tocopherol, 5.

⁴⁾Carboxymethyl cellulose sodium salt.

Table 2. Fatty acid composition of dietary oils¹⁾

Fatty acid	Safflower oil (SO)	Mixed oil (MO)
14:0	0.08	0.83
16:0	5.45	23.83
18:0	5.84	3.16
18:1	8.60	39.33
18:2 ω 6	77.65	24.06
18:3 ω 3	ND ²⁾	2.58
20:0	ND	Tr ³⁾
20:3 ω 6	ND	ND
20:4 ω 6	0.18	0.6
20:5 ω 3	ND	0.7
22:1	ND	Tr
22:5 ω 6	ND	0.1
22:6 ω 3	ND	0.5
Total ω 6 ⁴⁾	77.83	24.66
Total ω 3 ⁵⁾	-	3.9
Total ω 6/ ω 3		6.3
P	77.83	28.1
M	9.1	40.0
S	11.4	28.0
P/M/S ⁶⁾	6.9/0.8/1	1.0/1.5/1

¹⁾Values are expressed as relative % of total fatty acids.

²⁾ND: Not detected.

³⁾Tr: Trace amount.

⁴⁾Total ω 6 = 18:2+20:3+20:4+22:5.

⁵⁾Total ω 3 = 18:3+20:5+22:6.

⁶⁾P: Polyunsaturated fatty acids, M: Monounsaturated fatty acids, S: Saturated fatty acids.

간조직과 혈청의 항산화 비타민 농도 분석

Chemical reagents : 모든 유기용매(methanol, ethanol, n-hexane, acetonitrile, tetrahydrofuran(Fisher Chemical Co., USA)와 d-H₂O(Fisher Chemical Co., USA)는 모두 HPLC grade를 사용하였으며, 사용전에 organic solvent용도인 0.5 µm membrane filter(Gelman Science, USA)로 여과하여 탈기한 후에 사용하였다.

Carotenoid[α -carotene, β -carotene, lycopene(Sigma Chemical Co., USA), zeaxanthin, cryptoxanthin, lutein(F. Hoffman La Roche Chmical Co., Switzerland)]와 retinol(Sigma Chemical Co. USA), 그리고 tocol(F. Hoffman La Roche Chmical Co., Switzerland)을 구입하여 -70°C에서 보관하였으며 자외선이 차단된 상태에서 취급하였다.

Carotenoids, retinol 농도 측정 : 간조직 균질액(40%) 또는 혈청 0.5 mL에 internal standard인 tocol 용액을 각각 150 µL씩 넣고, absolute ethanol 2.5 mL을 가하여 잘 섞은 후, 70°C water bath에서 2분간 가열하였다. 이 혼합액에 25% Na-ascorbate 0.5 mL과 5% NaOH 1 mL를 가한 후 70°C water bath에서 30분간 가열하였다. 가열이 끝나면 식힌 후에 증류수 0.5 mL과 hexane 5 mL을 가하고 2분간 세게 교반한 후, 1,940×g에서 30분간 원심분리하여 상층액(hexane층)을 모아서 vacuum evaporator를 이용해 40°C에서 건조시켰다. 비타민 추출액을 HPLC(high performance liquid chromatography) grade ethanol 100 µL를 가하여 잘 섞은 후 그 중 50 µL를 취하여 HPLC system에 주입하여 분석하였다. 이 모든 실험 과정은 자외선이 차단된 환경에서 실행하였다.

HPLC system은 reverse phase system으로 기기 조건은 Table 3과 같다. Waters 996 photodiode array detector의 파장을 carotenoid 분석을 위해서는 450 nm, retinoids 분석을 위해서는 340 nm에 맞추어 동시에 분석하였다. 모든 정량 및 정성 분석은 Millennium analysis system을 이용하였다.

간조직의 항산화효소 활성 분석

Superoxide dismutase(SOD) 활성 측정 : SOD활성은 Marklund와 Marklund(17) 및 Zidenberg-Cherr 등(18)의 방법을 수정하여 pyrogallol의 자동산화율 SOD가 억제하는 정도를 통하여 측정하였다. Total SOD 활성을 측정하기 위해 간조직 0.1 g에 4배의 0.25 M sucrose를 가하여 균질화하고

1,000 rpm에서 30분간 원심분리하였다(20% homogenate). 상층액 20 µL에 Tris buffer 3 mL과 pyrogallol 20 µL를 순서대로 가한 후 거꾸로 세워 혼합하였다. 이 혼합액을 Gilford Spectrophotometer(Stasar III, 1220)를 이용하여 파장 420 nm에서 5분동안 흡광도가 증가되는 정도를 측정하였다. Enzyme 1 unit는 pyrogallol의 auto oxidation을 50% 방해하는데 필요한 효소의 양으로서 산출하고 specific activity는 cytosol의 1 mg protein에 해당하는 enzyme unit로 환산하였다.

Glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성 측정 : 간조직의 GSH-Px 활성은 Paglia와 Valentine(19) 및 Deagen 등(20)의 방법을 수정하여 과산화수소를 기질로 이용한 coupled enzyme procedure로 측정하였다. 간조직 0.1 g에 0.1 M ice-cold phosphate buffer(0.25 M sucrose 함유한 pH 7.0인 buffer)를 가하여 glass teflon homogenizer를 이용하여 균질화시켰다. 이 균질액(20%)을 14,000 rpm에서 1시간 동안 원심분리한 후, 얻은 상층액을 0.1 mL 취하였다. 0.8 mL 반응 혼합물(4.5 mM EDTA, 4.7 mM sodium azide를 포함한 0.125 M phosphate buffer, pH 7.0과 2.8 nM NADPH, 49.9 nM reduced glutathione, 0.67 units glutathione reductase를 함유)을 가한 후, 0.25 mM H₂O₂ 0.1 mL을 가하여 반응을 일으킨 즉시 spectrophotometer를 이용하여 파장 340 nm에서 산화형 glutathione(GSSG)의 형성에 따른 NADPH의 흡광도가 감소되는 속도를 3분동안 측정하였다. GSH-Px의 존재 하에 H₂O₂의 첨가에 의하여 환원형 glutathione(GSH)이 생성되고, reaction mixture 내 glutathione reductase와 NADPH가 개입되어 GSSG가 다시 GSH로 환원되는 속도를 흡광도의 변화를 통해서 관찰함으로써 GSH-Px의 활성을 산출하였다. 효소 1 unit는 간조직 1 g당 1분동안 산화된 NADPH의 nM로 나타내었고, specific activity는 1mg 단백질에 해당하는 효소 unit으로 환산하였다.

혈청의 GSH-Px 활성 분석

혈청 20 µL에 증류수를 가하여 100 µL로 채운 후 간조직과 같은 방법으로 분석한다.

단백질 정량

간조직과 혈청의 단백질 함량은 Lowry 등(21)의 방법으로 정량하였고, 표준 단백질로는 BSA(bovine serum albumin)를 이용하였다.

Table 3. Instrument and operating conditions of HPLC system

HPLC system : Reverse phase gradient system	
• Instrument	: Alliance Waters 2690-separating module
• Detector	: Waters 996 photodiode array detector (PDA), 474 fluorescence detector (FD)
• Column	: C18 Novapak 3.9×15 cm column (Waters, Milford, MA)
• Mobile phase	: Solvent A (CH ₃ CN : THF : d-H ₂ O = 50 : 30 : 20, v/v/v) : Solvent B (CH ₃ CN : THF : d-H ₂ O = 50 : 44 : 6, v/v/v)
• Flow rate	: 1.2 mL/min
• Gradient procedure	: 100% solvent A for 1 minute → 10 minute linear gradient to solvent B → 6 minute hold at 100% solvent B → 4 minute linear gradient back to 100% solvent A → 2 minute equilibrium at 100% solvent A
• Wavelength	: 290 nm, 340 nm, 450 nm
• Peak identification & Quantification	: Millennium analysis system

통계처리

모든 자료의 통계분석은 SAS(statistical analysis system) 프로그램을 이용하였고, 측정치는 평균과 표준오차로 표시하였다. 실험군간의 차이에 대한 검증은 일원 분산분석(one-way analysis of variance) 이용하였고, $p < 0.05$ 수준에서 Least Significant Difference Test로 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

간조직과 혈청의 항산화 비타민 농도의 변화

LCPUFA는 체내외에서 산화되어 free radical과 peroxide를 생성할 가능성이 높으며, 생성된 과산화물은 세포막 파괴 등 생체에 치명적인 영향을 줄 수 있는 것으로 알려져 왔다(1). Table 4에는 식이지방산과 비타민 E의 보충에 따른 항산화비타민의 농도를 나타내었다. Retinol농도는 간조직에서는 생후 3주와 9주 모두 실험 군간의 유의적인 차이를 나타내지 않았고, 생후 3주의 혈청에서는 비타민 E를 첨가한 ME군에서 MO군보다 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

β -carotene농도는 생후 3주의 간조직과 생후 9주의 혈청에서 비타민 E를 보충한 ME군이 MO군보다 유의적으로 감소되어 나타났다($p < 0.05$). 이는 비타민 E를 첨가할 경우에 길항 작용(antagonistic effect)이 있는 것으로 알려진 β -carotene의 흡수를 저해하거나 β -carotene에 앞서 비타민 E가 일차적으로 항산화 역할을 수행하는 것으로 추측된다. 간조직의 β -carotene농도는 SO군과 MO군간에는 차이가 나타나지 않았으며, 혈청에서는 생후 9주에 MO군이 SO군보다 높은 수치를 보였으나 유의적인 차이를 나타내지는 않았다.

Lycopene농도는 생후 3주의 간에서 MO, ME군에 비하여 SO군에서 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 혈청에서는 생후 3주와 9주 모두 실험군간의 차이를 나타내지 않아 혈청은 식이지방의 불포화도나 비타민 E의 보충에 영향을 받지

않은 것으로 보인다.

Cryptoxanthin의 농도는 간과 혈청에서 생후 3주와 9주 모두 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 본 연구의 이전 연구인 뇌조직에서의 cryptoxanthin의 농도는 식이 지방산의 균형을 고려하지 않은 SO군에서 MO군과 ME군보다 더 높은 양상을 보인 바 있다(22).

이외의 항산화비타민으로 알려진 비타민 E의 농도는 생후 3주의 간에서 SO군 $189.2 \pm 34.2 \mu\text{g/g}$, MO군 $214.8 \pm 45.8 \mu\text{g/g}$, ME군 $248.3 \pm 28.3 \mu\text{g/g}$ 을 나타내어 $\text{SO} < \text{MO} < \text{ME}$ 의 경향을 보였으며, SO군과 ME간에는 유의적인 차이($p < 0.05$)를 나타내었음이 보고된 바 있다(23). 이전 연구에서 뇌조직의 비타민 E 농도는 식이지방산이나 비타민 E 보충에 따른 변화 없이 실험군간의 유의적 차이를 나타내지 않아, 뇌조직의 비타민 E는 다른 조직에 비해 turn over가 느린 것으로 보여(22), 간조직의 결과와 다른 양상을 나타내었다. 간조직에서 불포화도가 높은 식이를 섭취한 SO군의 비타민 E농도가 MO군보다 낮게 나타난 것은 자유라디칼의 공격으로부터 세포막지질의 불포화지방산을 보호해주는 방어제로 많이 쓰였기 때문으로 보인다고 하였다(23,24).

간조직과 혈청의 항산화효소의 활성 변화

Table 5에는 간조직의 GSH-Px의 활성을 나타내었다. 식이지방산에 따른 항산화효소 활성의 변화를 보면 간조직에서는 SO군과 MO군간의 GSH-Px의 활성은 유의한 차이를 나타내지 않았고, 비타민 E의 첨가에 따라 변화가 나타나 ME군에서 MO군보다 유의적으로 감소되었고($p < 0.05$), 생후 9주에서는 이러한 차이가 관찰되지 않았다. 이전 연구에서 간조직의 SOD의 활성은 생후 3주에서 식이지방산의 불포화도에 따라서는 차이를 나타내지 않았고, 비타민 E의 첨가시 유의적으로 감소되었다고 보고된 바 있다(23). 이에 GSH-Px의 활성에 대한 SOD 활성의 비율(SOD/GSH-Px)을 계산해 본 결과 생후 3주에서 MO군과 ME군은 차이를 나타내지 않

Table 4. Antioxidant vitamin concentrations in rat liver and serum at the age of 3 and 9 weeks

Antioxidant vitamins	Groups ¹⁾	Liver ($\mu\text{g/g}$)		Serum ($\mu\text{g/L}$)	
		3rd week	9th week	3rd week	9th week
Retinol	SO	$14.24 \pm 0.37^{2)}$	11.2 ± 1.57	1.16 ± 0.45^b	1.34 ± 0.59
	MO	12.52 ± 0.67	15.6 ± 1.90	1.08 ± 0.27^b	1.45 ± 0.85
	ME	19.33 ± 5.47	13.0 ± 2.54	2.26 ± 0.27^a	1.25 ± 1.08
β -carotene	SO	$5.04 \pm 1.33^{3)}$	6.03 ± 1.71	0.46 ± 0.17	0.39 ± 0.19^{ab}
	MO	5.08 ± 0.47^a	5.01 ± 0.69	0.21 ± 0.05	0.57 ± 0.05^a
	ME	2.87 ± 0.43^b	4.12 ± 0.26	0.29 ± 0.13	0.21 ± 0.06^b
Lycopene	SO	1.08 ± 0.18^b	1.28 ± 0.66	0.59 ± 0.25	0.77 ± 0.13
	MO	2.71 ± 0.36^a	1.45 ± 0.81	0.64 ± 0.31	0.84 ± 0.17
	ME	2.75 ± 0.86^a	1.76 ± 0.69	0.86 ± 0.59	0.66 ± 0.13
Cryptoxanthin	SO	1.48 ± 0.37	1.64 ± 0.83	0.48 ± 0.32	0.29 ± 0.12
	MO	1.76 ± 0.31	1.35 ± 0.26	0.19 ± 0.41	0.29 ± 0.22
	ME	1.58 ± 0.27	1.74 ± 0.22	0.34 ± 0.44	0.19 ± 0.09

¹⁾SO: Safflower oil, MO: Mixed oil, ME: MO+vitamin E.

²⁾Values are mean \pm SEM of 6 rats.

³⁾Values with different alphabets within the same column are significantly different from the others at $p < 0.05$.

Table 5. Antioxidant enzyme activities in rat liver at the age of 3 and 9 weeks

Antioxidant enzymes	Groups ¹⁾	Liver	
		3rd week	9th week
GSH-Px (U/mg prot)	SO	39.16 ± 5.18 ²⁾³⁾	52.23 ± 12.01
	MO	42.70 ± 4.95 ^b	69.13 ± 5.95
	ME	63.85 ± 2.84 ^a	58.23 ± 18.02
SOD/GSH-Px	SO	0.42 ± 0.06 ^a	0.23 ± 0.06
	MO	0.28 ± 0.05 ^a	0.14 ± 0.04
	ME	0.06 ± 0.01 ^b	0.09 ± 0.02

¹⁾SO: Safflower oil, MO: Mixed oil, ME: MO+vitamin E.

²⁾Values are mean ± SEM of 6 rats.

³⁾Values with different alphabets within the same column are significantly different from the others at $p < 0.05$.

았으며, 비타민 E의 첨가시 MO군보다 유의적으로 감소되었다. 이는 비타민 E가 superoxide radical로 생긴 H_2O_2 를 무독성의 H_2O 로 전환시켜주는 GSH-Px의 활성을 증가시켜 조직의 산화적 스트레스를 감소시키는 역할을 하는 것으로 보인다.

Fig. 1에는 혈청의 GSH-Px활성을 나타내었다. 혈청에서는 생후 3주의 경우 불포화도가 높은 SO(42.49 ± 5.63 U/mg prot)군에서 MO(30.06 ± 1.82 U/mg prot)군보다 GSH-Px 활성이 유의적으로 높게 나타났는데, 이는 불포화도가 높은 식이를 섭취한 SO군의 혈청에서 항산화효소의 요구량이 증가된 것으로 사료된다. 또한 비타민 E첨가에 따른 GSH-Px의 활성 변화를 보면 생후 3주에서는 ME군에서 MO군보다 다소 증가하는 경향을 나타내었으나 유의적인 차이를 보이지는 않았고, 9주에서도 MO군과 ME군간의 유의적인 차이가 관찰되지 않았다.

항산화비타민의 첨가시 효소의 활성 변화에 대해서는 많은 상반된 결과가 보고되고 있는데, Lee 등의 연구(25)에서는 항산화비타민의 첨가시 간에서의 SOD의 활성은 변화가 없었으나, GSH-Px의 활성은 증가되었다는 실험 결과를 보였

고, Kim(26)은 비타민 E를 하루 400 IU씩 4주간 보충시 SOD와 catalase의 활성은 변화가 없었고, GSH-Px의 활성은 감소되었다고 하여, 비타민 E의 보충량과 그 섭취기간이 항산화 효소 활성에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 또한 식이지방산과 항산화효소와의 연관성에 대한 다른 연구결과를 보면 흰쥐에 DHA 함량이 높은 생선기름을 흰쥐에 투여한 경우 세포 및 간조직내 GSH 함량의 감소와 GSH-Px활성감소가 보고되었으며(27), 간조직내 α -tocopherol 및 ascorbic acid 등 항산화 비타민의 감소가 관찰되었다. 이에 반해 다량의 PUFA의 섭취에 따라서 생체막에서 PUFA의 비율이 높아지고, 이에 따라 과산화 반응이 활발히 진행되어 그 방어기전으로 GSH-Px 활성이 증가된다고 보고되었다(28).

본 연구에서 SO군에서 MO군보다 GSH-Px의 활성이 높게 나타난 것은 식이의 불포화도뿐 아니라 monounsaturated fatty acid인 oleic acid(18:1)의 함량차이에 의한 결과로도 생각될 수 있다고 본다. 최근 oleic acid가 항산화효소를 변화시킨다는 연구가 진행되고 있는데(29,30), 즉 oleic acid가 HDL₃의 산화적 손상으로부터 보호하는 역할을 함이 보고된 바 있다(29). 본 연구에서 식이 중 oleic acid의 함량을 보면 SO군 8.60%, MO군 39.33%로서 oleic acid의 함량이 낮은 SO군에서 산화적 손상이 진행됨에 따라 항산화효소인 GSH-Px활성이 증가되었다고 생각된다.

이와 같이 식이 지방산과 비타민 E 첨가 식이는 간과 혈청의 항산화비타민 체계에 서로 다른 영향을 미치는 것으로 나타났다. 혈청에서의 GSH-Px의 활성은 SO군에서 MO군보다 높게 나타났고, 비타민 E의 보충시 생후 3주의 간에서 GSH-Px는 증가 경향, SOD는 감소 경향을 나타내어, 이들 항산화효소들의 반응성에 관한 규명과 함께 또한 다른 항산화체계들과의 상호관계에 대한 연구가 요구된다고 본다.

요 약

ω 3계 지방산 결핍군인 safflower oil(SO)군, 지방산을 바람직한 비율로 공급한 mixed oil(MO, P/M/S ratio=1.0 : 1.5 : 1, ω 6/ ω 3 ratio=6.3)군 및 비타민 E를 보충시킨(MO+비타민 E 500 mg/kg diet, ME군)식으로 임신되기 3~4주전부터 섭취시키고, 이로부터 출생한 제 2세대 쥐의 간과 혈청에서의 항산화비타민과 항산화효소의 활성을 측정하였다. 식이 지방산과 비타민 E의 보충에 따른 항산화비타민 농도의 변화를 보면 생후 3주의 간조직과 생후 9주의 혈청에서 비타민 E를 보충한 ME이 MO군보다 β -carotene의 농도가 유의적으로 감소($p < 0.05$)되어 나타났다. Lycopene농도는 생후 3주의 간에서 MO, ME군에 비하여 SO군에서 유의적으로 낮게 나타났으며($p < 0.05$), 혈청에서는 생후 3주와 9주 모두 실험군간의 차이를 나타내지 않았으며, cyptoxanthin의 농도는 간과 혈청에서 생후 3주와 9주 모두 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 간조직의 SO군과 MO군간의 항산화 효소의 활성은

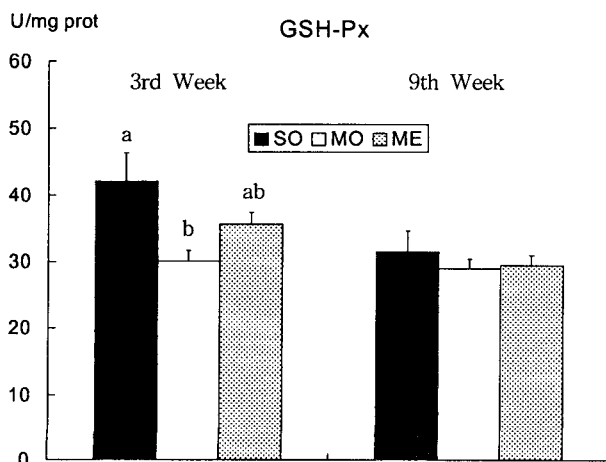


Fig. 1. Glutathione peroxidase (GSH-Px) activities in the rat serum at the age of 3 and 9 weeks.

SO: Safflower oil. MO: Mixed oil. ME: ME+vitamin E.

생후 3주와 9주 모두 유의한 차이를 나타내지 않았다. 비타민 E의 첨가시 생후 3주의 간에서 GSH-Px의 활성은 유의적으로($p < 0.05$) 증가하였고, SOD/GSH-Px의 비율은 식이지방산의 불포화도에 따른 차이는 관찰되지 않았으며, 비타민 E의 첨가시 생후 3주에서 유의적으로 감소되어 나타났다. 생후 9주에서는 이러한 실험군간의 차이가 나타나지 않았는데, 이는 생후 9주가 되면서 식이에 어느 정도 적응된 결과라고 사료된다. 혈청에서의 GSH-Px의 활성은 생후 3주의 경우 불포화도가 높은 식이를 섭취한 SO군에서 MO군보다 유의적으로 높게 나타났다. 이는 SO 식이의 높은 불포화도로 인하여 방어기전으로 항산화효소의 활성이 증가되었을 가능성과 동시에 최근 항산화체계에 관련성이 있다고 연구되고 있는 oleic acid(18:1)의 비율과도 관련이 있을 것으로 보여 여러 항산화계의 균형성과 상호작용 측면에서 종합적인 결과로 해석해야 함을 지적해 주었다.

문 헌

- Hu ML, Frakel EN, Leibovitz BE, Tappel AL. 1989. Effect of dietary lipids and vitamin E on *in vitro* lipid peroxidation in rat liver and kidney homogenates. *J Nutr* 119: 1574-1582.
- Bompart GJ, Prevot DS, Bascands JL. 1990. Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and s-trans-ferase activity: Application to cisplatin-induced toxicity. *Clin Biochem* 23: 501-504.
- Adams JDJ, Lauterburg BH, Mitchell JR. 1983. Plasma glutathione and glutathione disulfide in the rat: regulation and response to oxidative stress. *J Pharmacol Exp Ther* 227: 749-753.
- Packer L. 1993. Vitamin E: Biological activity and health benefits. In *Overview in vitamin E in health and disease*. Packer L, Fuchs J, eds. Marcel Dekker, New York, USA.
- Kohlmeier L, Hastings S. 1995. Epidemiologic evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention. *Am J Clin Nutr* 62 (suppl): 1370s-1376s.
- Poppel G, Goldbohm RA. 1995. Epidemiologic evidence for β -carotene and cancer prevention. *Am J Clin Nutr* 62 (suppl): 1393s-1402s.
- Panganamala RV, Cornwell DG. 1982. The effect of vitamin E on arachidonic acid metabolism. *Ann NY Acad Sci* 393: 376-393.
- Uranos S, Midori HH, Tochihi N, Matsuo M, Shiraki M, Ito H. 1991. Vitamin E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposomes to oxidative stress in aged diabetics. *Lipids* 26: 58-61.
- Moore T. 1940. The Effect of vitamin E deficiency on the vitamin A reserves of the rat. *J Biochem* 34: 1321-1325.
- Burton GW. 1989. Antioxidant action of carotenoids. *J Nutr* 119: 109-111.
- Krinsky NI. 1991. Effects of carotenoids in cellular and animal systems. *Am J Clin Nutr* 53: 238s-246s.
- Bendich A, Shapiro SS. 1986. Effect of β -carotene and canthaxanthin on the immune response of the rat. *J Nutr* 116: 2254-2262.
- Keen CL, Amura T, Lonnerdal B, Hurlry LS, Halsted CH. 1985. Changes in hepatic superoxide dismutase activity in alcoholic monkey. *Am J Clin Nutr* 41: 929-932.
- Hann JB, Cristiano F, Lannello RC, Kola I. 1995. Cu/Zn superoxide dismutase and glutathione peroxidase during aging. *Biochem & Molecular Biol Internal* 35: 1281-1297.
- Crawford MA. 1993. The role of essential fatty acids in neural development: implications for perinatal nutrition. *Am J Clin Nutr* 57(suppl): 703S-710S.
- Uauy-Dagach R, Mena P. 1995. Nutritional role of omega-3 fatty acids during the perinatal period. *Clinics in Perinatology* 22: 157-175.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European J Biochem* 47: 469-474.
- Zidenberg-Cherr S, Keen CL, Lonnerdal B, Hurley LS. 1983. Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in the rat: developmental correlations affected by manganese deficiency. *J Nutr* 113: 2498-2504.
- Paglia DE, Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidation. *J Lab & Clin Med* 70: 158-169.
- Deagen JT, Butler JA, Beilstein MA, Whagner PD. 1987. Effects of dietary selenite, selenocysteine and selenomethionine o-selenocysteine lyase and glutathione peroxidase activities and on selenium levels in rat tissues. *J Nutr* 117: 91-98.
- Lowry OH, Resebrioch NJ, Fern AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Park JH, Hwang HJ, Kim MK, Lee-Kim YC. 2001. Effects of dietary fatty acids and vitamin E supplementation on antioxidant vitamin status of the second generation rat brain sections. *Korean J Nutr* 34: 754-761.
- Hwang HJ. 2001. Effect of $\omega 3/\omega 6$ fatty acids and vitamin E supplementation on lipid peroxidation in liver and serum of the rat. *J Center for Human Ecology Dong-eui University* 5: 67-78.
- Chow CK. 1991. Vitamin E and oxidative stress. *Free Radical Bio Med* 11: 215-232.
- Lee BJ, Park JN, Lee SS. 1998. Effects of P/S ratios of dietary lipids and antioxidant vitamin supplements on the level of serum lipids and liver lipid peroxidation in rats treated with DMBA. *Korean J Nutr* 31: 906-913.
- Kim YJ. 1998. Effects of vitamin E supplementation on antioxidant status and immune response with different aged women. *PhD Dissertation*. Ewha Womans University.
- Saito M, Nakatsugawa K. 1994. Increased susceptibility of liver to lipid peroxidation after ingestion of a high fish oil diet. *Int J Vitamin Nutr Res* 64: 144-51.
- Chance B, Sies H, Boveris A. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59: 527-605.
- Sola R, La Ville AE, Richard JL, Motta C, Bargallo MT, Girona J, Masana L, Jacotot B. 1997. Oleic acid rich diet protects against the oxidative modification of high density lipoprotein. *Free Radic Biol Med* 22: 1037-1045.
- Ruiz-Gutierrez V, Perez-espinoza A, Vazquez CM, Santamaria C. 1999. Effects of dietary fats (fish, olive and high-oleic acids) on lipid composition and antioxidant enzymes in rat liver. *Br J Nutr* 82: 233-241.

(2001년 11월 9일 접수; 2002년 1월 19일 채택)