

스트레스로 인한 뇌조직의 산화적 손상에서 Vitamin E의 방어 효과

박미현[§] · 강상모* · 정혜영** · 홍성길

(주) 이롬라이프 생명과학연구원, 건국대학교 미생물공학과, * 경원전문대학교 생활과학과**

Protecting Effects of Vitamin E against Immobilization Stress-Induced Oxidative Damage in Rat Brain

Park, Mi Hyun[§] · Kang, Sang Mo* · Jung, Hye Young** · Hong, Seong Gil

Eromlife R&D Center, Eromlife Co. Ltd. Seoul 135-010, Korea

*Department of Microbiological Engineering, * Konkuk University, Seoul 143-701, Korea*

*Department of Human Life Science, ** Kyungwon College, Seongnam, Kyonggi 461-702, Korea*

ABSTRACT

The remarkable change of phenomenon induced by stress increase energy metabolism that can induce many reactive oxygen species (ROS) production. ROS can peroxidize cellular macromolecules including lipid and protein. The object of this study was to investigate whether stress may induce cellular damage by producing ROS and whether vitamin E, as a strong lipid-soluble antioxidant, can protect cells against reactive oxygen species produced by noise and immobilization stress in SD rats. The stress group increased 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA), one of the stress hormone, in brain tissue and free fatty acid in plasma. Vitamin E treatment had no effect on 5-HIAA but free fatty acid contents decreased with a fortified vitamin E diet. Furthermore, the body weight of vitamin E-treated rats increased more than that of the stress group. Lipid peroxidation and protein degradation as an index of oxidative damage in brain tissue decreased with the use of the fortified vitamin E diet supplement. The results suggest that vitamin E supplements have a protective effect against noise and immobilization stress-induced oxidative damage in brain tissue. (*Korean J Nutrition* 36(6) : 570~576, 2003)

KEY WORDS : stress, oxidative damage, brain, antioxidant, vitamin E.

서 론

스트레스는 1925년경 Walter Cannon이 처음 사용한 용어로서 “투쟁 또는 도피 반응”에 관련된 용어로 사용되기 시작하면서 의학과 생물학에 도입되었다.¹⁾

생체는 스트레스를 받게 되면 catecholamine 계통의 스트레스 호르몬 및 스테로이드 호르몬을 분비하고, 이들은 다음에 가해질지도 모르는 스트레스를 대비하기 위하여 생체내 에너지 대사를 증진시키므로 산소 소모량이 증가한다.²⁾ 산소는 유기호흡을 하는 생물에게 있어서 필수적인 존재이지만 에너지 대사 과정에서 불완전하게 환원되어 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)을 발생시킨다. ROS

는 단백질, DNA 및 지질과 같은 세포내 중요 구성성분을 산화시킴으로서 세포의 항상성을 파괴시켜 종래에는 사멸을 유도하고, 이러한 세포 손상의 누적이 노화 및 다양한 퇴행성 질환의 원인으로 알려져 있다.³⁾

이러한 고반응성의 ROS는 정상적인 에너지 대사 과정에서 1~5% 정도의 산소가 불완전하게 환원되어 발생하며, 이외에도 xanthine oxidase와 같은 다양한 oxidase의 작용이나 cytochrome P450과 같은 약물 대사 효소의 반응상에서도 발생한다.^{4,5)} 따라서, 스트레스에 의한 에너지 대사의 증가는 ROS의 발생을 더욱 촉진시킬 수 있다.

유산소 호흡을 하는 생물은 이러한 ROS의 독성을 억제하기 위하여 superoxide dismutase (SOD), catalase와 같은 효소적 방어 체계와 glutathione, vitamin C와 같은 비효소적 방어 체계로 구분되는 항산화 방어시스템을 구축하고 있다. 그러나 순간적인 외부 환경 변화로 인하여 과량의 ROS가 발생하거나 또는 만성적인 ROS의 발생 환경

접수일 : 2003년 4월 29일

채택일 : 2003년 7월 1일

[§]To whom correspondence should be addressed.

하에서 ROS와 항산화 방어시스템간의 균형이 무너지면 세포는 손상을 받게 된다.^{6,7)}

현재까지 ROS의 독성을 억제하기 위하여 체내의 항산화 시스템을 강화시키는 방법이 다양하게 연구되고 있다. 이러한 시도중 SOD 등의 효소를 직접 투여하는 방법은 아직까지 소화관에서의 흡수 및 조직으로의 전달 문제로 많은 난점이 있어 비효소적 물질을 투여함으로써 이 문제를 해결하고자 하는 노력이 진행되고 있다.⁸⁾

특히, 생체막의 비효소적인 ROS 연쇄반응으로 인한 과산화반응은 여러 가지의 질병, 발암, 노화 현상에도 깊은 관계가 있고, 이 산화 반응에 대하여 천연항산화제인 vitamin E가 높은 방어 능력이 있는 것으로 밝혀짐에 따라서 vitamin E의 중요성은 더욱 부각되고 있다.^{9,10)}

Vitamin E는 체내에서 다른 항산화 물질과는 다르게 매우 적은 농도만이 존재하고 있으나 지용성 성분으로 세포지질막에 삽입되어 있는 형태로 존재하여 ROS에 의한 지질과산화물을 억제하는데 탁월한 효과가 있다.⁹⁾ 또한, vitamin C, glutathione 등 세포질내의 다양한 수용성 항산화제들에 의하여 산화된 vitamin C는 빠른속도로 환원되어 재활용되는 경로가 존재하여 적은 농도의 vitamin E임에도 불구하고 생체내에서 가장 중요한 항산화제의 하나로 꼽히고 있다.¹¹⁾ 따라서, 본 연구에서는 스트레스로 인한 뇌조직의 산화적 손상을 지용성 항산화제인 vitamin E의 투여로 억제함을 확인하여 vitamin E의 항스트레스 효능을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물의 사육 및 스트레스 조건

실험 동물은 140~160 g의 체중을 가지는 웅성 SD rat를 대한실험동물센터로부터 분양받아 사용하였다. 실험동물은 난괴법으로 대조군 (No stress, NS), 스트레스군 (Stress, SNE) vitamin E 식이군 (Stress + vitamin E, SE)으로 분류하였다 (N = 7).

실험 기간동안 급식한 식이의 조성은 Table 1과 같으며, 스트레스군과 대조군에게는 대조식이 (control diet)를 vitamin E 투여군에는 Vitamin E 함유 식이를 자유 섭취하게 하였다.

스트레스군과 vitamin E 투여군은 매일 noise와 immobilization stress를 주었다. Noise는 85 dB로 고정하였고 immobilization은 원통형 병에서 직립형으로 서 있게 하는 방법을 택하였다.¹²⁾

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredients	Control diet (%)	Vitamin E diet (%)
Sucrose	45.23	44.83
Corn starch	20	20
Casein (vitamin free)	20	20
Cellulose	5	5
Lard	5	5
Mineral mixture ¹⁾	3.5	3.5
Vitamin mixture ²⁾	1.0	1.0
Choline chloride	0.2	0.2
DL-methionine	0.07	0.07
Vitamin E ³⁾	0	0.4
Sum	100	100

1) Composition of mineral mixture (g/kg mixture): CaHPO₄ 500 g, NaCl 74 g, K₂SO₄ 52 g, potassium citrate monohydrate 220 g, managanous carbonate (43 - 48% Mn) 3.5 g, MgO 24 g, ferric citrate (16 - 17%) 6.0 g, zinc carbonate 1.6 g, Na₂SeO₃·5H₂O 0.01 g, cupric sulfate 0.55 g, KIO₃ 0.01 g, chromium potassium sulfate 0.55 g, sucrose finely powdered 118.0 g

2) Composition of vitamin mixture (mg/g mixture): thiamine HCl 590 mg, riboflavin 590 mg, pyridoxine HCl 290 mg, nicotinic acid 2940 mg, folic acid 20 mg, D-cacium pantothenate 2350 mg, D-biotin 10 mg, Vit.B₁₂ 2 mg, Vit.A 932 mg, Vit.D₃ 5.82 mg, Vit.K 60 mg, Vit.E 13.3 mg

3) Vitamin E: dl- α -tocopherol 50% (Roche)

2. 실험동물의 희생 및 시료 조제

4주간 사육한 쥐를 희생 전 12시간 절식시킨 다음 decapitation 법에 의해 희생시킨 후 뇌 조직을 즉시 적출하여 생리식염수로 씻어 내고 무게를 측정하였으며 Potter-Elvehjem homogenizer를 사용하여 균질화하여 조직 시료액으로 사용하였다. 또한, 혈액 시료는 5 unit/ml heparine이 들어 있는 tube에 받아 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장과 혈구로 분리하여 실험에 이용하였다.

3. 스트레스 지표의 분석

스트레스의 지표로 사용되는 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA), 유리 지방산 및 혈당의 분석은 다음과 같은 방법을 사용하였다.¹³⁾

뇌 조직에서 5-HIAA의 분석은 뇌 조직 균질액에 acidic n-butanol과 phosphate buffer (pH 7.0)을 혼합하여 강하게 교반한 후 원심분리하여 얻은 하층액을 시료로서 사용하였다. 얻어진 시료를 동일량을 각각 A, B 시험관에 분주한 후 A 시험관에는 1% cysteine 용액을 첨가한 뒤, A, B 시험관 모두에 10 M HCl을 첨가한 다음 A 시험관에 만 0.1% o-phthalaldehyde (OPT) 용액을 넣었다. 30분 후에 B 시험관에 1% cysteine 용액과 OPT 용액을 넣고 95°C에서 10분간 반응시킨 후 냉각시켰다. 이 반응액의 형광도를 excitation 360 nm, emission 470 nm에서 형광광도계 (Hitachi, Japan)로 측정하고, A, B 시험관의 차를 이

용하여 표준시료와 비교하여 정량 분석하였다.

또한, 혈액 중 유리지방산의 분석은 Smith 방법¹⁴⁾에 의해 정량하였다.

4. 산화적 손상의 분석

지질과산화의 지표물질인 과산화지질의 정량은 Yagi법¹⁵⁾을 이용하여 thiobarbituric acid (TBA)와 반응하는 물질 (thiobarbituric acid-reactive substance, TBARS)을 정량함으로써 간접 측정하였다.

단백질의 산화적 손상의 지표인 단백질 카르보닐화합물 (protein carbonylation)과 단백질 분해도 (protein degradation)의 측정은 각기 2, 4-dinitrophenyl hydrazine을 이용한 Levine 등의 방법¹⁶⁾과 fluoroscamine을 사용한 Davies 등의 방법¹⁷⁾을 이용하여 정량하였다.

5. 항산화 시스템의 분석

SOD 활성도는 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동 산화에 의한 발색을 이용한 Marklund 등¹⁸⁾의 방법에 따라 측정하였다.

Glutathione 측정은 환원형 (reduced glutathione, GSH)와 산화형 (oxidized glutathione, GSSG)를 분리하여 측정하는 Hissin 방법¹⁹⁾을 사용하여 측정하였다.

Vitamin E의 정량은 Desai 방법²⁰⁾에 따라 혈장 0.5 ml를 pyrogallol (2% in EtOH) 1.0 ml를 넣어 혼합한 후 70°C water bath에서 2분 동안 incubation시켰다. 여기에 saturated KOH 0.15 ml를 넣고 혼합하여 다시 70°C에서 30분 동안 incubation 시킨 다음 즉시 ice bath에서 냉각시켰다. 여기에 증류수 0.5 ml와 n-hexane 2 ml를 넣고 vortex mixer에서 2분 동안 강하게 혼합하여 원심분리하였다 (500 × g, 10 min.). 이때 상층액인 hexane층을 취해 excitation 286 nm, emission 330 nm의 spectrofluorometer에서 형광도를 측정하여 표준 용액 (1 μg dl- α -tocopherol)의 값과 비교 정량하였다.

6. 통계처리

각 실험 결과는 평균±표준편차의 형태로 표시하였으며, 각 군간의 유의성 검증은 student t-test를 통하여 검증하였고, 유의성 있는 결과에 한하여 도시하였다.

결과 및 고찰

1. Vitamin E의 변화

4주간 vitamin E를 함유한 사료를 섭취한 vitamin E 투여군 (SE), 일반 사료를 섭취한 대조군 (CON) 및 스트레

스군 (SNE)간의 혈장 vitamin E 농도를 비교한 결과는 Fig. 1과 같다.

4주간 vitamin E 식이를 섭취한 vitamin E 투여군에서 혈장 vitamin E의 농도는 다른 두군에 비하여 약 2배 정도 높은 값을 나타내었으며 통계적 유의성을 나타내었다 (p < 0.05). 이 결과는 vitamin E가 정상적으로 체내로 흡수되었음을 나타내는 결과이다. 그러나 스트레스군과 대조군간의 vitamin E 농도에는 차이가 나타나지 않아 스트레스에 의한 직접적인 vitamin E의 감소는 없는 것으로 추측되었다.

2. 스트레스로 인한 생체내 변화

실험 기간인 4주 동안 실험 동물의 체중 증가량의 차이는 Fig. 2와 같이 나타났다.

실험 기간동안 식이를 자유 섭취하게 하였음에도 불구하고 스트레스를 가한 군에서의 체중 증가량은 대조군과 비

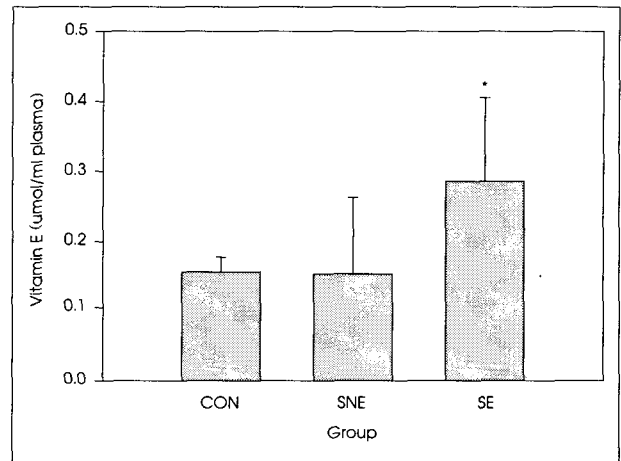


Fig. 1. Change of plasma vitamin E concentration in rat plasma fed fortified vitamin E diet during 4 weeks, *p < 0.05 compared with CON and SNE group.

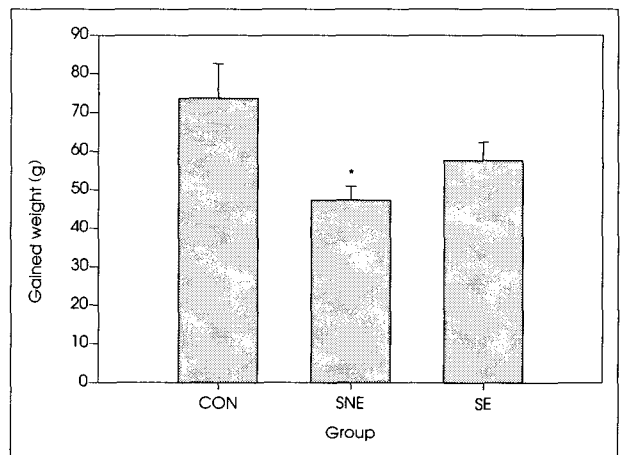


Fig. 2. Body weight change during experimental periods on SD rat, *p < 0.05 compared with CON group.

교할 때 모두 감소하는 것으로 나타났다. 이것은 스트레스를 받았을 때 거식증과 체중 감소가 일어난다는 Morley 등의 보고²¹⁾와 일치하는 결과로 스트레스가 정상적으로 실험 동물에게 가해졌음을 나타내는 결과이다. 또한, vitamin E 투여군 (SE)에서 체중증가량의 감소폭은 비록 통계적 유의성은 나타나지 않았으나 스트레스군 (SNE)에서보다 적은 것으로 나타나 vitamin E의 투여가 체내에 가해지는 스트레스를 일부 감소시키는 효과가 있는 것으로 추측되었다.

체중 증가량 결과에서 나타난 vitamin E의 항스트레스 효과를 생화학적인 변화에서 관찰하기 위해서 스트레스 지표 호르몬인 serotonin의 최종 대사 산물인 5-HIAA를 뇌 조직에서 정량한 결과와 혈장에서 유리지방산 (free fatty acid)을 정량한 결과는 Fig. 3과 같이 나타났다.

뇌내의 물질로 대표적인 신경전달물질인 serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT)은 신경계의 활성이 높아지면 증가하여 동물에서는 불안한 활동이 높아지는 것으로

알려져 있다. 또한 절식과 3시간의 immobilization stress는 대뇌 tryptophan 대사에 영향을 미쳐 tryptophan과 serotonin 대사물질인 5-HIAA가 증가되는 것으로 보고되어 있다.^{13,21)} 또한, 혈중 FFA의 증가는 스트레스시 교감신경계 말단에서 분비되는 norepinephrin에 의해 지방조직이 자극을 받아 lipolysis가 일어났다는 증거로서, adenylate cyclase의 활성화와 cyclic adenosine monophosphate (cAMP)의 형성을 통해 매개가 된다. 막 인지질 감소에 의해 동반되는 FFA 축적은 조직 에너지 결핍 상태에서 phospholipase의 활성화에 의해 기인된다고 보고되어져 뇌상해에 대한 상해를 나타내는 지표라 할 수 있다.²²⁾

본 실험 결과에서는 스트레스를 가한 군에 있어서 5-HIAA 및 유리지방산의 농도가 대조군에 대비하여 통계적 유의성은 나타나지 않았으나 각기 약 20.5%와 7.2%가 증가하는 결과를 나타내어 스트레스를 정상적으로 받고 있음을 확인할 수 있었다. 또한, vitamin E 투여군 (SE)에서 유리 지방산의 함량은 스트레스군 (SNE)에 대비하여 약 8.3% 감소하는 결과가 나타났으며, 5-HIAA에 대해서는 변화가 관찰되지 않았다. 이러한 결과를 볼 때 스트레스에 의해서 생체내에서는 스트레스 호르몬의 변화가 관찰되었고 이러한 변화가 성장에 따른 체중 증가량의 감소로 나타나는 것으로 추측되었다. Vitamin E 투여에 의해서 비록 통계적 유의성은 나타나지 않았으나 체중 증가량 감소폭을 축소시켰으며, 유리지방산을 감소시킨 결과로 볼때 vitamin E의 투여가 스트레스로 인한 체내의 항상성 변화를 방어함에 있어서 유리한 점을 제공할 것으로 사료된다.

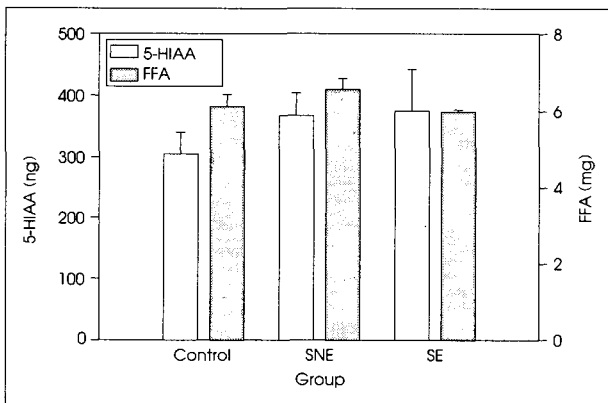


Fig. 3. Change of 5-hydroxyindole acetic acid in brain and free fatty acid in plasma after noise and immobilization stress for 4 weeks.

3. 산화적 손상의 변화

체내에서 ROS 변화의 측정은 electron spin resonance (ESR)과 같은 직접적인 측정 방법과 변성된 지질, 단백질 및 DNA를 정량하는 간접적인 측정 방법이 있다. ESR 등을 이용한 직접적 측정 방법은 매우 정확한 값을 도출해주나 *in vivo* 등에서는 생체내에 ESR용 probe 등을 농축시켜야 되는 등의 난점이 있어 잘 사용되지 않으며, 지질과산화 및 단백질 카르보닐화 등의 간접적 측정방법을 널리 사용하고 있다.¹⁶⁾

실험 동물에게 스트레스를 가한 후 뇌조직에서 산화적 손상의 간접적 지표로 사용되는 지질과산화, 단백질 카르보닐화 및 단백질 분해도를 측정한 결과는 Fig. 4 및 Fig. 5의 결과와 같이 나타났다.

실험 동물의 뇌조직에서 TBARS를 측정한 결과에서 스트레스를 가한 군 (SNE)에서의 지질과산화는 대조군 (CON)에 대비하여 증가하였으며, 혈장에서도 지질과산화물이 증

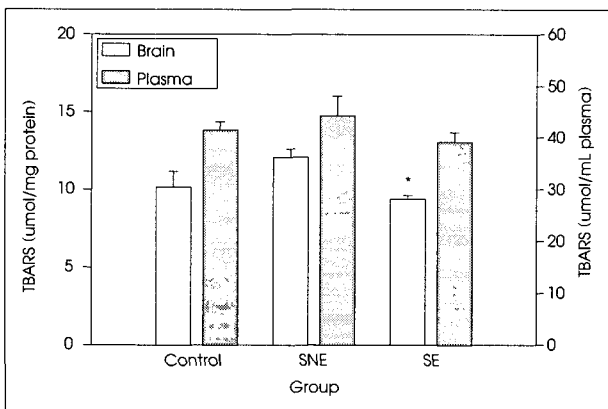


Fig. 4. Effects of vitamin E on TBARS contents in rat brain and plasma after noise and immobilization stress for 4 weeks. *p < 0.05 compared with CON and SNE group.

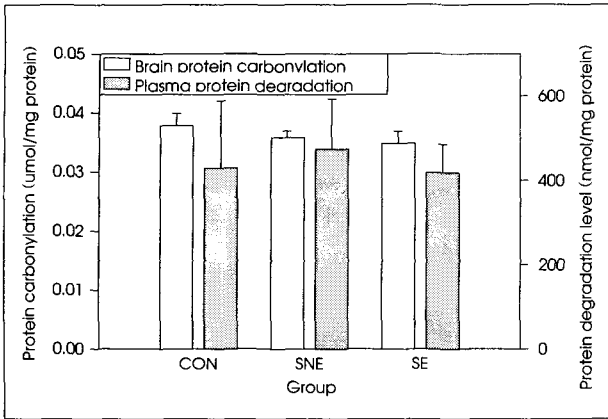


Fig. 5. Effects of vitamin E on protein carbonylation and degradation in rat brain after noise and immobilization stress for 4 weeks.

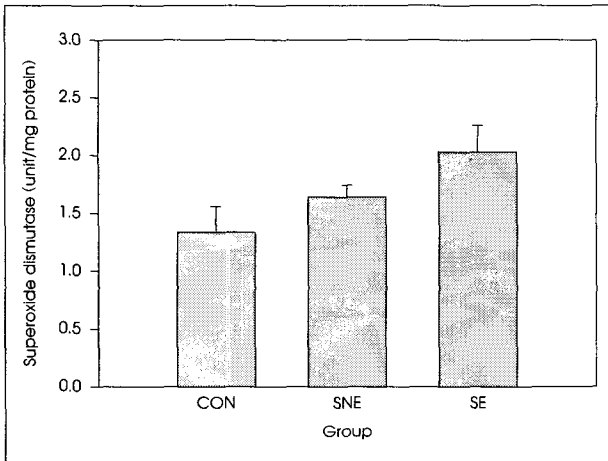


Fig. 6. Change of superoxide dismutase activity in rat brain after noise and immobilization stress for 4 weeks.

가하고 있음을 나타내었다. 지질뿐 아니라 단백질 분해도의 결과에서도 스트레스군은 대조군에 대비하여 단백질 분해도가 증가하고 있는 모습을 보였다. Noise와 고정화 스트레스는 모두 정신적 스트레스로 구분되고 있어 뇌조직이 스트레스에 의해 가장 큰 영향을 받는 조직일뿐 아니라 뇌조직은 타조직에 비해서 항산화방어체계의 활성이 낮고, 몸 전체 산소 소모량의 15% 이상을 소모할 정도로 많은 산소를 소비하기에 더욱 산화적 손상에 민감한 조직이라 할 수 있다.²³⁾ 따라서, 스트레스를 가하여 뇌조직에서 산화적 손상이 증가하는 것은 Noise와 고정화 스트레스에 의해서 뇌조직내에서 ROS의 발생량이 증가하였다는 것을 의미하며 또한 뇌조직의 낮은 항산화 방어 활성을 고려할 때 ROS를 제거할 수 있는 물질의 투여가 매우 중요하다고 할 수 있다.

스트레스를 가하면서 동시에 vitamin E를 섭취시킨 vitamin E 투여군 (SE)의 경우 뇌조직내에서 산화적 손상이 경감되는 것으로 나타났다. 즉, TBARS의 측정값에서 vita-

min E의 투여는 뇌조직과 혈장 모두에서 스트레스군에 대비하여 낮은 값을 나타내어 vitamin E의 투여가 스트레스로 인하여 발생하는 뇌조직의 산화적 손상을 억제할 수 있는 것으로 판명되었다. 이런 결과는 단백질 분해도에 있어서도 vitamin E의 투여로 인하여 감소하는 것으로 나타나 vitamin E의 투여가 뇌조직에서 스트레스로 인하여 유도되는 지질 및 단백질의 산화적 손상으로부터 보호하는 효과가 있음을 알 수 있었다. 그러나 단백질 카르보닐화에서는 스트레스 및 vitamin E에 의한 특별한 변화가 관찰되지 않았다.

4. 체내 항산화 방어계의 변화

스트레스를 4주간 가한 후 뇌 조직에서 효소적 방어 시스템인 SOD 및 비효소적 방어 시스템의 중요 물질인 glutathione의 함량 변화를 통하여 스트레스로 인한 생체내의 항산화 방어 기작의 변화를 살펴 보았다.

Superoxide anion radical (SAR)은 호기적 대사 기관에서 효소 반응등으로부터 생성되는 ROS의 가장 기본적인 형태이며 이로부터 다양한 생화학적 반응을 통해서 hydroxyl radical, hydrogen peroxide 등의 더욱 반응성이 높은 ROS로 변형된다. SOD는 SAR의 불균화 반응을 촉매함으로서 다른 파생적 ROS의 생성을 억제하는 기능을 수행한다. 스트레스를 가한 후 뇌조직내에서 SOD의 활성의 변화는 Fig 6에서 나타낸 바와 같이 대조군에 대비하여 증가하는 양상을 나타내었으며, 이것은 스트레스를 가하였을 때 뇌조직내에서 발생하는 ROS를 분해하기 위한 방어기작의 일환으로 추측된다. 더욱이 vitamin E를 투여한 군에서는 더욱 높은 SOD 활성을 나타내는 결과를 보였다. SOD는 ROS를 분해하여 안전한 물질로 만드는 효소임과 동시에 고반응성의 ROS의 접촉 기회가 많아 ROS에 의해서 다량의 SOD가 변성되어 파괴되는 것으로 보고되어 있다. 이러한 보고에 비추어 볼 때, 스트레스를 가하였을 때 실제 조직내에서 발생하는 ROS에 의해서 다량의 SOD가 변성되어 파괴되는 것으로 추측된다. 즉, vitamin E의 투여는 스트레스로 인하여 증가된 SOD가 역시 스트레스로 인하여 증가되는 ROS에 의해서 파괴되는 것을 억제하여 더 높은 SOD 수준을 유지하게 하여주는 것으로 추측된다. 이러한 SOD의 높은 활성의 유지는 vitamin E의 투여만으로는 완벽하게 스트레스에 의한 생체내 산화적 손상을 억제하지 못하는 것으로 생각할 때 효소적 방어체계와 비효소적 방어 체계간의 유기적 협력을 강화하여 뇌조직을 산화적 손상으로부터 보호할 수 있는 능력을 강화하는 것으로 생각된다.

비효소적 방어체계에서 가장 중요한 물질인 glutathione

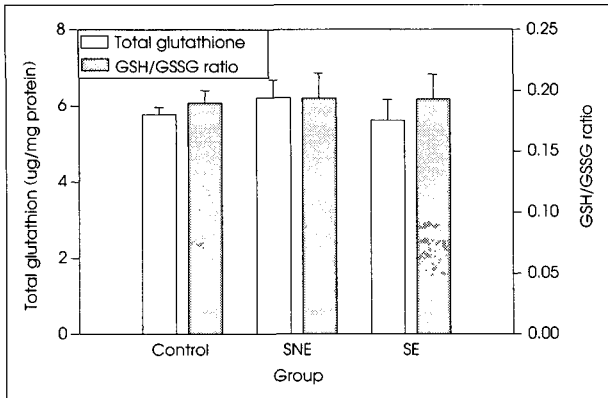


Fig. 7. Effects of vitamin E on total glutathione and GSH/GSSG ratio in rat brain after noise and immobilization stress for 4 weeks.

은 환원상태 (reduced glutathione, GSH)와 산화상태 (oxidized glutathione, GSSG)의 형태로 존재하며, 다른 비효소적 방어 체계인 vitamin E, vitamin C 및 uric acid 등이 환원 상태를 유지하게 하는데 중요한 역할을 수행한다. 이러한 glutathione 및 산화형과 환원형간의 비율 (GSH/GSSG ratio)를 살펴본 결과는 Fig. 7과 같이 나타났다. 스트레스를 가함으로써 총 glutathione 함량 및 GSH/GSSG의 비율에는 큰 영향을 나타내지 않았으며, vitamin E의 투여 역시 이들의 함량 및 비율의 변화에 중요한 변화를 야기하지는 않은 것으로 나타났다.

이상의 결과를 살펴볼 때, 스트레스로 인한 뇌 조직의 산화적 손상에서 vitamin E 투여는 항산화 방어계를 보강하여 산화적 손상을 억제하는 효능이 있는 것으로 나타났다.

요 약

스트레스에 의해서 생체는 에너지 대사를 증가시키며, 에너지 대사의 증가는 높은 반응성의 ROS를 생성한다. ROS는 높은 반응성으로 인해 지질, 단백질 등을 과산화시켜 원래의 활성을 잃게 한다. 이런 ROS에 대해서 높은 소거능을 지닌 vitamin E의 투여는 스트레스로 인한 생체내 산화적 손상을 억제할 수 있을 것으로 생각된다. 이런 효능을 확인하기 위하여 실험용 흰 쥐에게 4주간의 noise 및 고정화 스트레스를 가한 결과, 스트레스를 가함으로써 체중증가량을 감소시켰으며, 스트레스 지표 물질인 5-HIAA와 혈청내 유리 지방산의 증가 및 뇌조직의 산화적 손상이 증가되어 정상적으로 스트레스가 가해졌음을 확인할 수 있었다. 또한, vitamin E 투여군의 경우 혈청내에서의 vitamin E 농도가 유의적으로 증가하여 정상적인 vitamin E의 투여도 이루어졌음을 확인하였다. Vitamin E의 투여는 스트레스로 인한 체중 증가량의 감소를 억제하였으며, 또한 뇌조직의

단백질 및 지질의 산화적 손상을 억제하는 효능을 보였으며, SOD의 활성 또한 증가시키는 효능을 나타냈다. 따라서, vitamin E 투여는 스트레스로 인하여 발생하는 뇌조직의 산화적 손상을 억제함으로써 스트레스에 대한 방어 효능이 일부 있는 것으로 생각된다.

Literature cited

- 1) Seley H. *The stress of life*. pp.5-27, CRC Press, New York, 1976
- 2) Kennet GA, Dickson SL, Cruson G. Enhancement of some 5-HT dependent behavioural response following repeated immobilization in rats. *Brain Res* 330: 253-263, 1985
- 3) Bulkley GB. The role of oxygen radicals in human disease process. *Surgery* 94 (3) : 407-411, 1983
- 4) Shaw S, Jayatileke E. The role of cellular oxidase and catalytic iron in the pathogenesis of ethanol-induced liver injury. *Life Sci* 50: 2045-2052, 1992
- 5) Halliwell B, Getteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals transition metals and disease. *Biochem J* 219: 1-14, 1984
- 6) Bendich AD, Polito E, Machlin LJ. Interaction of dietary vitamin C and vitamin E on guinea pig immune responses to mitogens. *J Nutri* 114: 1588-1593, 1984
- 7) John NC, Gutteridge I. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarker of tissue damage. *Clin Chem* 41 (12) : 1819-1828, 1995
- 8) Yoshikawa T, Naito Y, Kondo M. *Antioxidants in the therapy and preventive medicine*. Ed. I. Emeril, Plenum Press. pp.171-181, New York, 1990
- 9) Borg DC, KM Schaich. Prooxidants action of antioxidant. In: *Handbook of Free radicals and antioxidant in biomedicine*. Vol I. pp.63-80, CRC press, 1989
- 10) Lippmann RD. Free radical induced lipoperoxidation and aging. In: *Handbook of Free radicals and antioxidant in biomedicine*. Vol I. pp.187-198. CRC press, 1989
- 11) Hess JL. Vitamin E, α -tocopherol. In: *Antioxidant in higher plants*. pp. 112-132, CRC Press, 1993
- 12) Shors TJ, Weiss C, Thompson RF. Stress-induced facilitation of classical conditioning. *Science* 257: 537-539, 1992
- 13) Cruzon G, Knoott PJ. Rapid method for the determination of 5-HT and 5-HIAA in small region of brain. *J Neurochem* 19: 1967-1974, 1972
- 14) Smith JB, Ingerman CM, Silver MJ. Malondialdehyde formation as an indicator of prostaglandin production by human platelets. *J Lab Clin Med* 88 (1) : 167-172, 1976
- 15) Yagi K. A simple fluofometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med* 15: 212-216, 1976
- 16) Levine RL, Garland D, Oliver CN, Ameci A, Climet I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in enzymology* 186: 464-471, 1990
- 17) Davies KJA, Glodberg AL. Protein damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in the extracts of red blood cell. *Biol Chem* 262: 8227-8235, 1987
- 18) Marklund S, Marlund G. Involvement of the superoxide anion

- radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *J Biochem* 47: 469-474, 1974
- 19) Hissin PJ, Hilf R. A fluoremetric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem* 74: 214-226, 1976
- 20) Desai ID. Vitamin E analysis methods for animal tissues. *Methods in Enzymology* 105: 138-155, 1984
- 21) Morley JE, Levine AS. Stress-induced eating is mediated through endogenous. *Science* 209 (12): 9-12, 1980
- 22) Odio MR, Maickel RP. Comparative biochemical response of rats to different stressful stimuli. *Physiology Behavior* 34: 596-599 1985
- 23) Watson BD, Busto B, Goldberg WJ, Santiso K, Yoshida S, Ginsberg MD. Lipid peroxidation in vivo induced by reversible global ischemia in rat brain. *J Neurochem* 42: 268-274, 1984