

DHEA 투여로 인한 쥐 간 소포체분획에서의 PUFA/SFA 비율과 지질과산화의 감소 효과*

곽 충 실**§ · 김 미 연***

서울대학교 의학연구원 체력과학노화연구소,** 이화여자대학교 식품영양학과***

Effect of DHEA Administration on PUFA/SFA Ratio and Lipid Peroxide in Rat Liver Microsome*

Kwak, Chung Shil**§ · Kim, Mee Yeon***

Aging and Physical Culture Research Institute,** Seoul National University, Seoul 110-799, Korea
Department of Food Science and Human Nutrition,*** Ewha Woman's University, Seoul 120-750, Korea

ABSTRACT

It is known that dehydroepiandrosterone (DHEA) shows a dual effect, prooxidant or antioxidant, depending on the dosage or physiological status of animals. The purpose of this study was to determine the effects of DHEA administration at low dose on lipid peroxidation, protein carbonylation and fatty acid composition in liver. Sprague Dawley male rats were fed either corn oil diet containing 15% corn oil or fish oil diet containing 2% corn oil + 13% sardine oil, with or without 0.2% DHEA for 9 weeks. Atherogenic index and hepatic triglyceride and cholesterol levels were significantly reduced by DHEA administration in rats fed with fish oil diet. Hepatic lipid peroxide product (TBARS) and protein carbonyl levels were significantly higher in rats fed with fish oil diet than in rats fed with corn oil diet. However, DHEA administration significantly reduced the hepatic thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) and conjugated diene levels in rats fed with fish oil diet. Contents of C16 : 0, C16 : 1, C20 : 5 and C22 : 6 in hepatic microsome were higher in rats fed with fish oil diet than in rats fed with corn oil diet, and contents of C18 : 2 and C20 : 4 were lower than in rats fed with corn oil diet. DHEA administration significantly increased C16 : 0 and C18 : 3 contents and reduced C18 : 2 content in rats fed with corn oil diet, while it increased C16 : 0 and C18 : 1 and reduced C20 : 5 and C22 : 6 in rats fed with fish oil diet. On overall, DHEA administration increased saturated fatty acid (SFA) and reduced polyunsaturated fatty acid (PUFA) in hepatic microsome, thereby PUFA/SFA ratio was significantly ($p < 0.0001$) reduced without the change of $n-3/n-6$ ratio. Taken together, low dose of DHEA administration lowered PUFA/SFA ratio in hepatic microsomal membranes and also showed antioxidative effect especially in fish oil-induced highly oxidative stress condition through blocking increases of C20 : 5 and C22 : 6 contents. (*Korean J Nutrition* 38(4) : 297~306, 2005)

KEY WORDS : dehydroepiandrosterone, fatty acid composition, hepatic microsome, fish oil, antioxidative effect.

서 론

Dehydroepiandrosterone (DHEA)은 인체에서 가장 많이 생성되는 스테로이드 호르몬으로 매우 다양한 생리적 작용을 하는 것으로 알려져 있으며,^{1,2)} 혈중 DHEA 농도는 사

춘기가 되면서 상승하기 시작하여 25세를 전후하여 최고 수준에 이르고 이후 점차 감소하여 80대가 되면 20대의 10% 수준으로 떨어지기 때문에 노화와 관련하여 많은 관심을 모으고 있다.³⁻⁵⁾ 동물실험 결과 DHEA를 투여하였을 때 체내 지방 무게의 저하, 혈중 콜레스테롤 농도 저하, 인슐린에 대한 감수도 증가 및 동맥경화 억제효과 등이 보고 되었으며,⁶⁻⁹⁾ 이러한 DHEA의 효과는 탄수화물의 대사가 감소되는 반면 지방대사가 활성화 되는 것이 주 요인으로 설명되고 있다. 즉 DHEA는 간 퍼옥시좀 증식과 효소활성화를 통하여 긴 사슬 지방산의 β -산화를 증가시킴으로써 지방분해를 촉진하는 동시에⁹⁻¹¹⁾ 지방의 합성은 감소시킨다고 보고 되었다.¹²⁾ 그러나, 간 퍼옥시좀에서의 지방산의 β -산화 과정에서는

접수일 : 2005년 2월 20일

채택일 : 2005년 5월 6일

*This work was supported by the grants from the Korea Science and Engineering Foundation (RII-2002-001-01-001) through the Aging and Apoptosis Research Center at Seoul National University.

§To whom correspondence should be addressed.

미토콘드리아에서의 β -oxidation과 달리 산소라디칼의 생성이 동반되고, 또 DHEA 투여시 cytochrome P450도 함께 증가하기 때문에 산소라디칼 생성이 크게 증가함으로써 산화적 스트레스가 증가하고 간의 산화적 손상 및 간종양의 유도를 초래한다는 보고들도 있어,¹³⁻¹⁷⁾ DHEA의 다양한 좋은 효과들에도 불구하고 임상적으로 노화방지 및 성인병의 예방과 치료를 위한 사용여부에 있어서 많은 논쟁이 되어 왔다.

이렇게 DHEA가 지질과산화물을 증가시키고 간손상 및 간종양을 유발할 가능성이 있다는 우려와 함께 DHEA가 항산화효과가 있다는 상반된 보고들이 있었다. Aragno 등¹⁸⁾은 쥐에게 DHEA를 사전투여 했을 때 사염화탄소에 의한 간의 산화적 손상을 막아주었으며, streptozotocin 투여로 유도한 당뇨병에서 DHEA의 사전투여가 dextrose 주사로 유도한 고혈당증 상태에서 간, 신장, 뇌의 지질과산화물의 증가를 억제하였고,¹⁹⁾ DHEA를 투여한 쥐는 간과 뇌의 소포체와 혈장 LDL에서 Cu^{2+} 첨가로 유도한 thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS)의 생성이 감소하였다고 하였다.²⁰⁾ 뒤이어 Gallo 등²¹⁾은 정상 간세포 (Chang cell)에 저농도의 DHEA를 처리했을 때에는 항산화효과를 보인 반면, 고농도에서는 산화를 촉진하는 이중적 효과를 보였다고 하였으며, 최근 동물실험에서 약리적 고농도 수준의 DHEA 투여 시에는 간에서 H_2O_2 의 생성이 증가하고 GSH 함량의 감소하였으나, 저농도로 3주 이상 투여 시에는 PPAR의 활성화나 β -산화의 증가 없이 Fe^{2+} 로 유도한 지질과산화물을 억제하는 효과가 있었다고 보고 되었다.²²⁾ 이러한 DHEA에 의한 항산화효과의 기전으로는 superoxide dismutase (SOD)의 활성화,²³⁾ NF- κ B의 생성 억제²⁴⁾ 및 세포막의 다불포화지방산 비율의 감소^{25,26)} 등이 보고 된 바 있으나 아직 DHEA에 의한 항산화효과의 기전은 확실히 밝혀져 있지 않다.

따라서, 본 연구에서는 흰쥐를 이용하여 어유 섭취로 산화적 스트레스가 증가된 조건하에서 저농도의 DHEA 섭취가 항산화효과를 보이는지를 확인하고, 동시에 간 생체막의 지방산조성의 변화를 측정하여 그 관련성을 알아보려고 하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료

실험식이의 재료인 옥수수유는 (주)제일제당의 해포 옥수수유를 슈퍼마켓에서 구입하여 냉장보관하면서 사용하였고, 어유는 (주)정연화학에서 정어리유를 직접 공급받아 사용하였다. 정어리유는 작은 갈색유리병에 담아 잘 밀봉한 뒤 냉동 보관하면서 사용하였다. DHEA 및 화학물질들은 대부분 Sigma (St Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다.

2. 실험동물 및 식이

실험동물은 8주령의 SD 수컷 32마리를 (주)대한실험동물로부터 구입하여, 표준조건 (22~25°C, 50~55% 습도, 12시간 light/dark cycle)에서 1주일간 적응시킨 뒤, 각 군의 평균체중이 비슷하도록 8마리씩 4 군으로 분류하여 배치하였다. 식이지방의 급원에 따라 옥수수유군과 어유군으로 나누고, 다시 각각 대조군과 DHEA 첨가섭취군으로 나누었다. 실험식은 AIN 76 semipurified diet를 기본으로 15% (w/w)의 고지방식으로 하였고, DHEA 첨가군은 0.2%의 DHEA를 각각의 식이에 섞어 공급하였으며, 옥수수유식이와 어유식의 α -tocopherol 함량이 동일하도록 어유에 α -tocopherol을 보충하여, 9주간 자유 급식시켰다. 모든 실험식은 Table 1과 같은 조성으로 일주일마다 새로 만들어 냉동보관하면서 동물에게 매일 새로 공급하고 남은 것은 버렸다.

3. 시료수집 및 전처리

9주간의 실험식이의 급식기간이 종료된 후 모든 동물은 18시간 절식시킨 뒤 단두하여 해파린 처리된 시험관 (녹십자, 한국)에 혈액을 받고, 개복 후 즉시 간을 적출하여 차가운 생리식염수로 세척한 후 여과지로 물기를 빼고, 무게를 측정 후 액체질소에 넣어 급속 냉동시킨 다음 -70°C에 보관하였다. 혈액은 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈장을 모은 뒤 분주하여 -70°C에 보관하였다.

4. 혈장 단백질, 중성지방 및 콜레스테롤 농도 측정

혈장으로부터 총 단백질, 알부민, 총 콜레스테롤, HDL-

Table 1. Diet composition for experiment (g/kg)

Group	Corn oil diet		Fish oil diet	
	C	CD	F	FD
Corn starch	350	350	350	350
Sucrose	200	200	200	200
Casein	200	200	200	200
Corn oil	150	150	20	20
Sardine oil ¹⁾	-	-	130	130
α -cellulose	47	47	47	47
DL-methionine	3	3	3	3
AIN vitamin mix ²⁾	10	10	10	10
AIN mineral mix ³⁾	40	40	40	40
DHEA ⁴⁾	-	2	-	2
α -Tocopherol acetate ⁵⁾	-	-	0.044	0.044
Energy density (kcal/100 g)	435			
CHO : Prot : Fat (cal%)	50.6 : 18.4 : 31.0			

1) It contains 7.22% of EPA and 27.0% of DHA

2) 3) Nutritional biochemicals (ICN Science, USA)

4) Dehydroepiandrosterone (Sigma)

5) (\pm)-Tocopherol acetate, 1360 IU/g (Sigma), was added to fish oil diet to meet the tocopherol level in corn oil diet

Table 2. Instrument and operating conditions of GC

Instrument: varian technology, star GC3400
Column: 30 m × 0.32 mm silica bonded capillary column (Supelco™-2330)
Detector: flame ionization detector
Carrier gas: He
Column flow rate: 1.0 ml/min
Injection temperature: 220°C
Detection temperature: 240°C
Oven temperature: 180°C

콜레스테롤, 중성지방의 농도를 자동분석기 (Technicon Inc, USA)로 측정하였다.

5. 간조직의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 측정

Folch 등의 방법²⁷⁾에 따라 냉동하였던 간 조직을 일정량 잘라내어 20배 부피의 methanol/chloroform (1 : 2) 용액을 넣고 4°C에서 Potter-Elvehjem homogenizer (Tri-R, Instruments, USA)로 균질화하였다. 0.88% KCl을 첨가한 후 2,400 rpm에서 20분간 원심분리한 후 상층액을 제거하는 과정을 2회 반복한 다음 하층의 부피를 정확하게 기록하고 그 일부를 다른 시험관으로 옮겨 질소 가스로 건조시켰다. 여기에 1 ml의 methanol을 넣어 용해시킨 다음 중성지방의 농도는 영동 티지킷트 (영동제약, 한국)로 측정하였으며, 총 콜레스테롤 농도는 영동 콜레스테롤 효소시약 Cholesterol E kit (영동제약, 한국)로 측정하였다.

6. 간조직의 microsome과 cytosol 분획 분리

냉동하였던 간의 일부를 잘라 정확한 무게를 측정한 후 0.2 mM PMSF (phenylmethylsulfonyl fluoride)와 1 mM DTT (dithiothreitol)를 함유하는 차가운 11.5% KCl 용액 (pH 7.4)을 9배 (v/w) 넣고 Potter-Elvehjem homogenizer (Tri-R, Instruments, USA)로 4°C에서 균질화 하였다. 이 균질액을 800 × g, 4°C에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액 (S1 분획)을 다시 4°C, 10,000 × g에서 20분간 원심분리한 후 그 상층액을 다시 100,000 × g, 4°C에서 1시간 원심 분리하여 상층의 세포질 분획을 옮긴 후 하층의 pellet은 buffer를 넣어 고르게 분산시킨 뒤 분주하여 -70°C에 보관하였다.

7. 지질과산화 및 단백질산화 정도 측정

간 조직의 지질과산화 정도를 알아보기 위하여 간의 microsome 분획에서 TBARS 농도²⁸⁾를 측정하였고, conjugated diene 함량을 측정하기 위하여 간 microsome 분획을 일부 취하여 Folch 등의 방법²⁷⁾에 따라 지질을 추출한 후 500 µl를 취하여 질소가스로 건조시킨 다음 cyclohexane

Table 3. Body weights and body weight gains for 9 weeks of experiment

Group	Initial BW (g)	Final BW (g)	BW gain (g)
C (n = 8)	254.8 ± 5.2	439.5 ± 15.2	184.8 ± 13.1
CD (n = 8)	252.0 ± 6.9	448.9 ± 31.6	196.9 ± 25.9
F (n = 8)	252.3 ± 10.0	460.5 ± 21.8	208.3 ± 16.9
FD (n = 8)	256.5 ± 7.8	451.4 ± 24.9	194.9 ± 27.3
Significance	NS	NS	NS

Values are means ± SD of 8 rats each group
NS: no significant

으로 용해시켜 234 nm에서 흡광도를 측정하였다.²⁹⁾ 또, 단백질의 산화 정도를 측정하기 위하여 간 조직의 S1 분획으로부터 Levine 등의 방법³⁰⁾을 이용하여 카르보닐 단백질의 함량을 측정하였다. 시료의 단백질 농도는 Bradford³¹⁾ 방법으로 측정하였다.

8. 간 생체막의 지방산 조성 분석

간 microsome 분획의 일부를 취하여 Lepage 등의 방법³²⁾에 따라 지방산을 transesterification 한 후 benzene 층을 질소가스로 건조시킨 다음, hexane으로 용해하여 gas chromatography (Star GC3400, Varian Technology)에 1 µl 주입하여 얻은 peak의 면적으로부터 전체 지방산에 대한 각각의 지방산의 비율을 계산하였다. 표준 지방산으로 C14 : 0, C16 : 0, C16 : 1, C18 : 0, C18 : 1, C18 : 2, C18 : 3, C18 : 4, C20 : 4, C20 : 5, C22 : 6 (Sigma, USA)을 benzene에 녹여 5 mg/ml 농도로 만들어 사용하였다. 본 연구에서 사용한 gas chromatography의 조건은 Table 2와 같다.

결 과

1. 체중 및 체중증가량

본 실험 시작 시 실험 동물의 체중과 실험 종료 후의 체중 및 9주간의 체중 증가량에 있어서 식이군간에 유의한 차이는 없었다 (Table 3).

2. 혈장 단백질, 중성지질, 콜레스테롤 농도 및 동맥경화지수

혈장에서 측정된 총 단백질, 알부민 및 중성지방의 농도는 4개군 사이에 유의한 차이가 없었다 (Table 4). 총 콜레스테롤 농도와 HDL-콜레스테롤 농도도 DHEA 투여로 인한 효과는 없었다. 혈중 총콜레스테롤 농도는 어유대조군 (F)이 옥수수유대조군 (C)보다 평균 26.7% 낮았고, DHEA를 첨가한 경우에도 어유군 (FD)이 옥수수유군 (CD)보다 평균 20.4% 낮아, 단지 어유섭취에 의해서만 유의하게 감소하는 효과를 보였다 (p < 0.05). HDL-콜레스테롤 농도

Table 4. Serum protein and lipid profile, and atherogenic index

Group	C	CD	F	FD	Significance
Total protein (g/dl)	8.2 ± 0.6	7.7 ± 0.6	8.0 ± 0.7	7.7 ± 0.3	NS
Albumin (g/dl)	4.4 ± 0.3	4.4 ± 0.3	4.3 ± 0.3	4.5 ± 0.3	NS
Triglyceride (mg/dl)	41.6 ± 30.3	32.8 ± 11.7	38.8 ± 12.6	47.3 ± 17.0	NS
Total cholesterol (mg/dl)	119.8 ± 16.5 ^a	113.3 ± 15.8 ^a	88.1 ± 11.6 ^b	90.6 ± 15.3 ^b	p<0.0001
HDL cholesterol (mg/dl)	49.4 ± 8.6 ^{ab}	55.4 ± 11.6 ^a	37.5 ± 8.8 ^b	41.1 ± 11.1 ^b	p<0.001
Atherogenic index ¹⁾	1.48 ± 0.52	1.16 ± 0.68	1.53 ± 0.93	1.26 ± 0.29**	p<0.01

Values are means ± SD of 8 rats each group

1) (Total cholesterol - HDL cholesterol) / HDL cholesterol

a-b: Means with different alphabet are significantly different by Duncan's multiple range test

** : significantly different compared to F group by t-test at p<0.01

C: corn oil diet, CD: corn oil diet + 0.2% DHEA, F: fish oil diet, FD: fish oil diet + 0.2% DHEA

Table 5. Triglyceride and cholesterol contents in liver

Group	C	CD	F	FD	Significance
Triglyceride (mg/g)	8.13 ± 2.27 ^{ab}	10.03 ± 2.16 ^a	10.30 ± 1.74 ^a	7.57 ± 0.83 ^b	p<0.0001
Cholesterol (mg/g)	1.94 ± 0.34 ^b	1.89 ± 0.26 ^b	2.34 ± 0.29 ^a	1.37 ± 0.38 ^c	p<0.0001

Values are means ± SD of 8 rats each group

a-c: Means with different alphabet are significantly different by Duncan's multiple range test

C: corn oil diet, CD: corn oil diet + 0.2% DHEA, F: fish oil diet, FD: fish oil diet + 0.2% DHEA

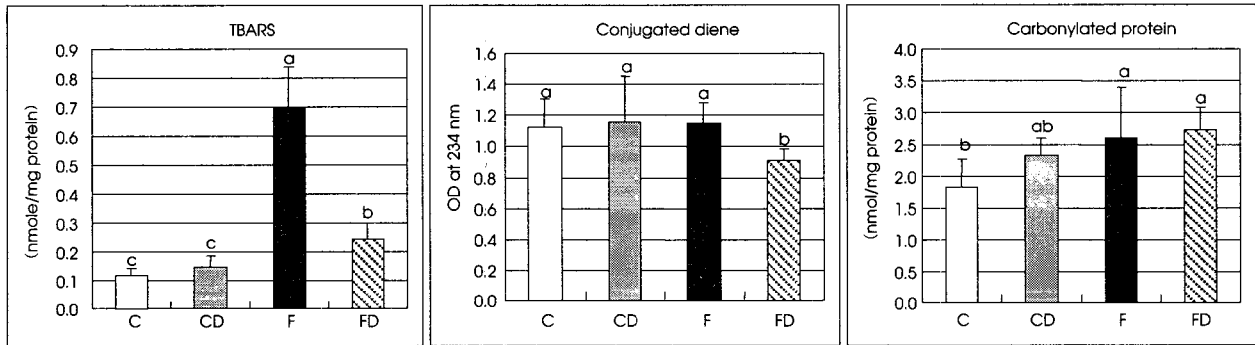


Fig. 1. TBARS, conjugated diene and carbonylated protein levels in liver tissue. C: corn oil diet, CD: corn oil diet + 0.2% DHEA, F: fish oil diet, FD: fish oil diet + 0.2% DHEA. a-c: Means with different alphabet are significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.0001 in TBARS, p<0.01 in conjugated diene and p<0.001 in carbonylated protein level.

는 F군이 C군에 비하여 평균적으로 24.1% 감소하였으나 통계적으로 유의하지는 않았고, FD군은 CD군에 비하여 평균 25.8% 낮은 농도를 나타내었다. 어유군에서도 옥수수유군에서와 마찬가지로 DHEA섭취에 의한 혈장 콜레스테롤 농도의 변화는 보이지 않았다.

한편, 혈장 총콜레스테롤 농도와 HDL-콜레스테롤 농도로부터 환산한 동맥경화지수는 어유식이군에서 DHEA 섭취 시 유의하게 (p<0.001) 감소하는 결과를 보였다 (Table 4).

3. 간 조직의 중성지방 및 콜레스테롤 함량

간 조직에서 측정된 중성지방과 콜레스테롤 함량은 Table 5와 같다.

간 조직의 중성지방 함량과 콜레스테롤 함량은 모두 옥수수유군에서는 DHEA 투여에 의하여 유의한 변화를 보이지 않았으나, 어유군에서는 유의하게 감소하여 (p<0.0001),

FD군은 F군에 비하여 중성지방은 26.5%, 콜레스테롤은 41.5% 감소하였다.

4. 간 조직의 과산화정도

간 조직 세포분획에서 측정된 지질과산화물인 TBARS 함량은 어유군이 옥수수유군보다 DHEA 투여와 관계없이 유의하게 높았으며 (p<0.0001), F군은 C군에 비하여 5.8배에 달하였다 (Fig. 1). 그러나, DHEA를 투여한 FD군에서는 F군에 비하여 약 70%가 감소하여, C군과 비교하면 2배의 TBARS 함량을 나타내었다 (Fig. 1). 옥수수유군에서는 DHEA 투여에 의한 변화는 없었다. 또 다른 지질과산화로 인한 생성물인 conjugated diene 함량을 측정된 결과 어유군에서만 DHEA 투여로 인하여 유의하게 (p<0.01) 감소하는 변화를 보였다 (Fig. 1).

간 조직의 S1 분획에서 측정된 단백질의 산화 생성물인

카르보닐 단백질의 함량은 어유군이 옥수수군보다 42% 높았으며 ($p < 0.001$), 두 식이군 모두 DHEA 투여에 의한 유의한 변화는 없었다 (Fig. 1).

5. 간 생체막의 지방산 조성

식이의 0.2% 수준으로 9주간 DHEA를 경구투여한 후 간 생체막을 구성하는 지방산들의 비율을 측정한 결과 옥수수유군에서는 C16 : 0과 C18 : 3이 유의하게 증가한 반면, C18 : 2는 유의하게 감소하였고 (Table 6), 어유군에서는 DHEA 투여시 C16 : 0과 C18 : 1이 유의하게 증가한 반면,

C20 : 5와 C22 : 6은 유의하게 감소하였다 ($p < 0.0001$). DHEA 투여에 의하여 지방산 구성 비율의 변화로 인하여 옥수수유군이나 어유군 모두 포화지방산의 비율이 증가하는 반면 ($p < 0.001$), 다불포화지방산의 비율은 유의하게 감소함으로써 PUFA/SFA의 비율이 유의하게 감소하였으며 ($p < 0.0001$), 특히 어유군에서는 DHEA에 의하여 C18 : 1이 크게 증가함으로써 단일불포화지방산의 비율이 유의하게 ($p < 0.001$) 증가하는 결과를 나타내었다 (Fig. 2).

한편, DHEA 투여시 어유군에서는 n-3 지방산의 구성비

Table 6. Fatty acid composition of hepatic microsomal fraction (%)

Group	C	CD	F	FD	Significance
C14 : 0	0.23 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.38 ± 0.10	0.30 ± 0.04	NS
C16 : 0	13.18 ± 0.69 ^c	16.51 ± 0.85 ^b	15.20 ± 0.98 ^b	18.93 ± 0.49 ^p	$p < 0.0001$
C16 : 1	0.46 ± 0.17 ^b	0.61 ± 0.22 ^b	2.34 ± 0.41 ^a	2.16 ± 0.24 ^a	$p < 0.0001$
C18 : 0	10.90 ± 1.11	10.83 ± 1.58	9.94 ± 1.01	9.15 ± 0.79	NS
C18 : 1	12.06 ± 1.18 ^{bc}	15.05 ± 2.67 ^b	10.84 ± 0.73 ^c	20.40 ± 2.59 ^p	$p < 0.0001$
C18 : 2	24.06 ± 2.73 ^a	19.02 ± 2.16 ^b	13.40 ± 0.69 ^c	11.24 ± 0.55 ^c	$p < 0.0001$
C18 : 3	0.64 ± 0.15 ^b	2.68 ± 0.94 ^a	1.10 ± 0.49 ^b	1.23 ± 0.86 ^{ab}	$p < 0.01$
C18 : 4	0.21 ± 0.04	0.20 ± 0.06	0.32 ± 0.13	0.26 ± 0.28	NS
C20 : 4	26.06 ± 1.87 ^a	22.97 ± 2.08 ^a	13.13 ± 2.07 ^b	11.73 ± 2.11 ^b	$p < 0.0001$
C20 : 5	0.62 ± 0.12 ^c	0.25 ± 0.22 ^c	10.21 ± 3.35 ^a	4.47 ± 0.76 ^b	$p < 0.0001$
C22 : 1	5.52 ± 1.57	4.93 ± 1.41	3.52 ± 0.58	4.19 ± 1.38	NS
C22 : 6	5.60 ± 0.93 ^c	6.65 ± 1.51 ^c	19.94 ± 2.44 ^a	17.19 ± 1.82 ^b	$p < 0.0001$

Values are mean ± SD of 6 rats each group

a-c: Means with different alphabet are significantly different by Duncan's multiple range test

C: corn oil diet, CD: corn oil diet + 0.2% DHEA, F: fish oil diet, FD: fish oil diet + 0.2% DHEA

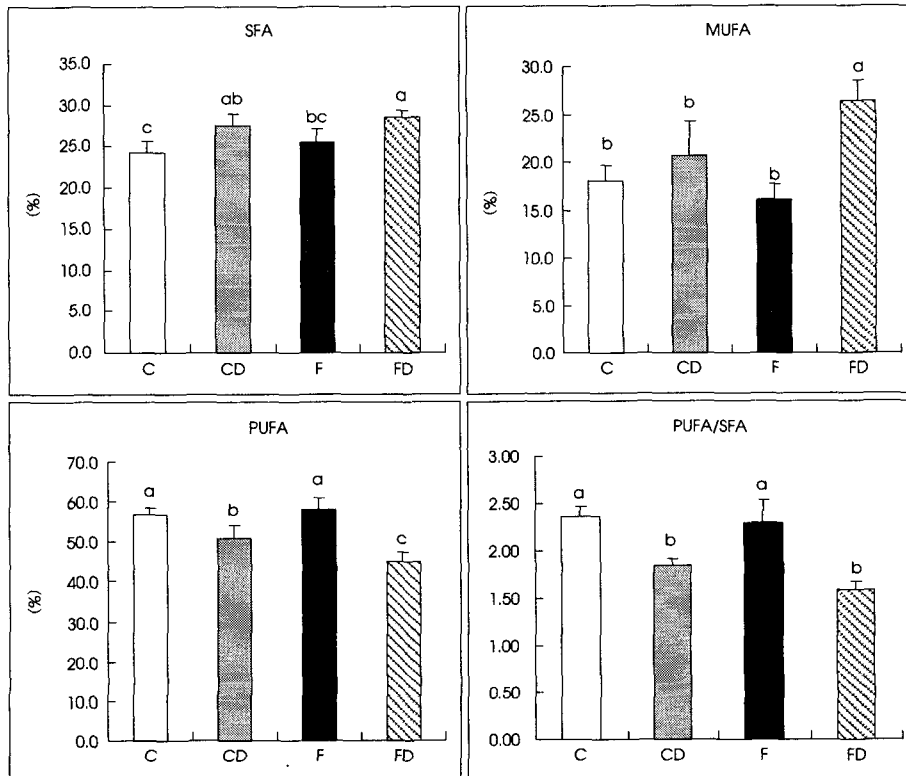


Fig. 2. Fatty acid compositions of hepatic microsomes in rats. C: corn oil diet, CD: corn oil diet + 0.2% DHEA, F: fish oil diet, FD: fish oil diet + 0.2% DHEA, a-c: Means with different alphabet are significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.001$ in SFA and MUFA, $p < 0.0001$ in PUFA and PUFA/SFA.

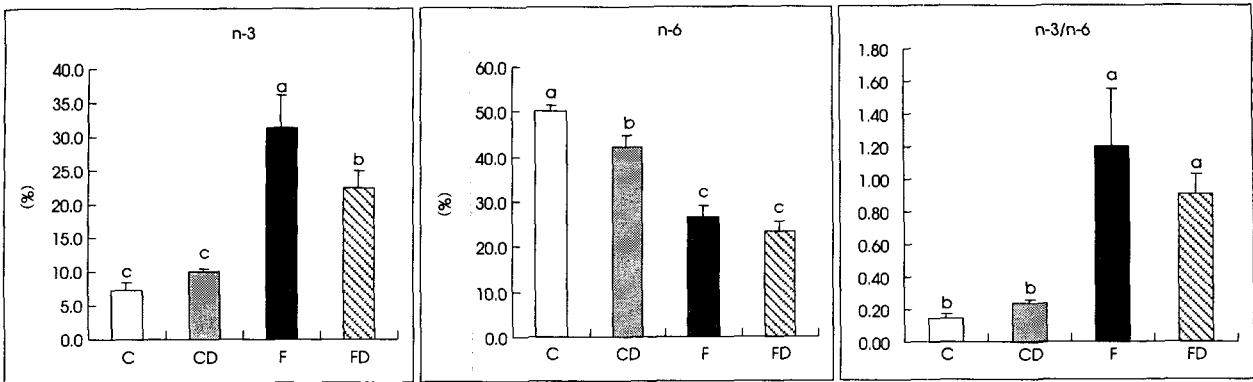


Fig. 3. N-3 and n-6 fatty acid contents and n-3/n-6 ratio of hepatic microsomes in rats. C: corn oil diet, CD: corn oil diet + 0.2% DHEA, F: fish oil diet, FD: fish oil diet + 0.2% DHEA. a-c: Means with different alphabet are significantly different at $p < 0.0001$ by Duncan's multiple range test.

율이 유의하게 감소된 반면, 옥수수유군에서는 n-6 지방산의 비율이 유의하게 감소되었다 ($p < 0.0001$). 그러나, n-3/n-6 비율은 변하지 않았다 (Fig. 3).

고 찰

본 연구에서는 옥수수유군이나 어유군 모두에서 DHEA 투여가 혈중 중성지방이나 콜레스테롤 농도에는 별 영향을 주지 않았으나, 어유군에서는 동맥경화지수와 간 조직의 중성지방과 콜레스테롤 농도를 유의하게 감소시키는 효과를 나타내었다. 다른 연구들에 의하면 DHEA를 동물이나 사람에게 투여시 혈액 및 조직에서의 지질 농도는 상승했다는 보고도 있고, 변함이 없거나 감소했다는 보고들도 있어,^{6,7,9,12,33,34} DHEA의 투여가 혈액 및 조직에서의 중성지방과 콜레스테롤 농도에 미치는 영향에 대해서는 아직 논란의 여지가 많으며, 투여 수준이나 기간, 동물의 종과 성별 및 생리적 상태 등에 따라 반응이 다른 것으로 생각되고 있다.

Swierczynski 등⁶은 DHEA를 낮은 농도로 투여했을 때에는 간에서의 TBARS 함량에 변화가 없으나 약리적 수준으로 과량 투여했을 때에는 간 소포체 분획과 미토콘드리아 분획에서 지질과산화가 증가하는데 이러한 변화는 2~3 일 내에 매우 빠르게 진행된다고 하였다. 여러 보고에서 DHEA는 특히 간이나 신장에서 퍼옥시좀 증식을 유도하여 H₂O₂의 생성을 증가케 하는데, 퍼옥시좀에서 생성된 H₂O₂는 세포질로 빠르게 이동하여 Fenton 반응이나 Harber-Weiss 반응을 통하여 활성이 매우 높은 hydroxy radical을 생성케 하고, 또한 DHEA는 소포체에 있는 cytochrome P450의 활성과 함량을 증가시킴으로써 superoxide의 생성을 증가하게 하기 때문에 특히 간에서 지질과산화가 증가한다고 하였다.^{15,16,35} 본 연구에서는 식이의 0.2%인 저수준으

로 장기간 DHEA를 섭취시킨 결과 간 소포체 분획에서의 지질과산화물인 TBARS와 conjugated diene의 농도가 옥수수유군에서는 변화가 없었으나, 어유군에서는 DHEA 투여시 유의하게 감소함을 보여, 체내 산화적 스트레스의 정도 및 DHEA 섭취수준에 따라 지질과산화에 대한 영향은 상이한 것으로 보인다. 특히 어유섭취군에서와 같이 산화적 스트레스가 크게 증가되어 있는 조건에서는 DHEA가 지질과산화를 감소시키는 항산화효과를 뚜렷하게 보인다는 것을 확인할 수 있었다. Aragno 등³⁶도 산화적 스트레스가 증가하는 당뇨상태를 유도한 쥐에게 DHEA를 투여했을 때 간, 신장, 뇌에서 TBARS의 농도가 감소하였고, 간에서 GSH 농도와 SOD 활성이 증가하였다고 하였다. 그런데, Tamagno 등³⁷은 DHEA를 투여한 쥐 간의 소포체분획에서는 Fe²⁺-의존적인 지질과산화 반응이 억제되었으나, DHEA를 투여하지 않은 쥐 간의 소포체 분획에 DHEA를 직접 투여한 경우에는 아무런 효과가 없었기 때문에 DHEA 자체가 아닌 체내 대사과정에서 생성된 어떤 대사물에 의하여 항산화효과를 나타낼 것이라고 하였다.

활성산소는 지질을 과산화시킬 뿐 아니라 단백질도 공격하여 산화적 변성을 유도함으로써 그 활성을 잃어 버리게 하는 것으로 알려져 있다.³⁸ 이러한 단백질의 산화적 변성은 흡연자의 혈청 단백질이나 심한 운동으로 인한 골격근의 손상이나 류마티스성 관절염 등에서 크게 증가함을 볼 수 있으며, 노화와 함께 간에서 증가한다고 보고 되었다.³⁹ 생체 내에서 단백질의 산화적 손상을 유도하는 주된 산화계는 MFO (mixed-function oxidase) system과 MCO (metal ion-catalyzed oxidation) system이다. 이들 2 system의 활성화로 인하여 활성산소의 생성이 증가되면 주로 단백질의 proline, arginine, lysine 잔기들을 공격하여 카르보닐화시켜 그 활성에 영향을 줄 수 있다.⁴⁰ 카르보닐 단백질의 양은 지질과산화물의 농도와 비례관계가 있으며 일단 생성되면 분해

되지 않기 때문에 유용한 산화적 스트레스의 지표로 알려져 있다.³⁰⁾ Swierczynski와 Mayer³⁹⁾는 DHEA를 먹인 흰쥐에서 분리한 간의 소포체 분획에 Fe^{2+} -NADPH-ADP를 처리하였을 때 TBARS와 카르보닐 단백질의 생성량이 함께 비례적으로 증가함을 관찰하여 카르보닐 단백질은 지질과 산화에 의한 2차적 산화물이라고 하였다. 본 실험 결과 예상대로 어유군이 옥수수유군보다 간조직에서의 TBARS와 카르보닐 단백질의 함량은 유의하게 높았다. 그리고 어유식 이와 함께 DHEA를 투여한 경우 지질과산화물인 TBARS와 conjugated diene은 크게 감소되었으나 단백질의 산화물인 카르보닐 단백질은 감소하지 않은 것으로 나타났다. 따라서, DHEA 투여에 의한 간에서의 지질과산화물의 감소는 산소라디칼의 생성 감소가 주된 원인은 아닌 것으로 보인다. 이에 본 연구에서는 DHEA가 지질대사에 영향을 주어 생체막의 지방산 조성을 변화시킴으로써 지질과산화를 감소시켰을 가능성에 대하여 확인하고자 하였다.

DHEA의 투여는 혈청이나 간 조직에서의 지방산 조성을 변화시키는 것으로 보고된 바 있으나, 이와 관련된 연구보고는 많지 않다. Abadie 등⁴¹⁾은 암컷 비만 쥐 (Zucker rat)에게 0.6%의 DHEA를 30일간 먹였을 때 혈청의 인지질 지방산 조성에 있어서 C16:0의 비율은 증가하는 반면 C18:0과 C22:6은 유의하게 감소하였으며, 간 조직의 인지질 지방산에 있어서도 역시 C16:0의 비율은 증가한 반면 C22:6은 감소하였다고 하였다. Miller 등⁴²⁾도 NZ Black/NZ White F1 암컷 쥐에게 DHEA를 섭취시키면서 간의 인지질을 구성하는 지방산의 조성을 분석한 결과 C16:0과 C18:1은 증가하고 C18:0은 감소하였다고 하였으며, Mohan과 Cleary²⁵⁾ 암컷 비만 쥐에게 DHEA를 먹였을 때 간 미토콘드리아 분획의 phosphatidylcholine과 cardiolipin에서 C18:1의 비율이 증가하였다고 하였다. 본 연구에서도 DHEA 투여시 간 소포체 분획에서 C16:0과 C18:1의 구성비율은 증가한 반면 C18:0은 변함이 없었다. 이와 같이 DHEA 섭취로 인하여 간에서 C16:0은 증가하는 반면 C18:0이 감소하거나 변함이 없는 것은 C16:0 (palmitic acid)의 elongation이 억제되었기 때문이며, C18:1이 증가한 것은 C18:0 (stearic acid)의 desaturation 과정이 활성화 되었기 때문이라고 설명되고 있다.^{42,43)} Imai 등⁴³⁾은 0.5% DHEA가 함유된 식이를 쥐에게 2주간 먹였을 때 간 조직에서 stearyl-CoA desaturase의 활성이 4배나 증가함으로써 C18:1이 크게 증가하였다고 하였다. 또 Miller 등⁴²⁾은 DHEA를 식이의 0.4% 수준으로 1개월간 생쥐에게 먹였을 때 간 소포체막에서 C20:4 (arachidonic acid)의 비율이 유의하게 감소하였으나 3개월간 투여 시에는 차이가

없었다고 하였는데, 9주간 0.2%의 DHEA를 투여한 본 연구에서는 유의한 변화가 없었다.

어유에 특히 많은 EPA (C20:5)나 DHA (C22:6)와 같은 매우 긴사슬 지방산들은 미토콘드리아 내로 들어가지 못하기 때문에 우선 퍼옥시좀에서 β -산화를 통하여 짧은 사슬로 잘라진 후 미토콘드리아로 들어가 산화될 수 있을 뿐 아니라 특히 DHA는 미토콘드리아에서의 지방산 산화를 억제시키는 작용도 있다고 하였다.⁴⁴⁾ 따라서, 본 연구에서 FD군이 F군에 비하여 유의하게 EPA와 DHA의 구성비율이 감소한 이유는 DHEA 투여로 인하여 간 퍼옥시좀이 활성화됨으로써 어유로부터 공급된 EPA나 DHA가 보다 빠르게 짧은 사슬 지방산으로 잘라졌기 때문이라고 설명될 수 있다.

본 실험에서 식이지방의 급원에 따라 DHEA 투여에 의한 간 미토콘드리아에서의 지방산 조성의 변화가 부분적으로 약간의 차이를 보이는 하나 전반적인 양상은 비슷하여 결과적으로 옥수수식이군과 어유식이군 모두에서 PUFA/SFA의 비율이 유의하게 감소하는 결과를 보였으며, 특히 어유군에서는 C18:1의 증가로 인하여 단일불포화지방산의 비율이 증가하는 결과를 보였다. 이로써 DHEA가 간에서의 총 지질함량을 감소시킬 뿐 아니라 간 생체막을 구성하는 불포화지방산의 비율을 떨어뜨림으로써 활성산소의 공격에 의한 지질과산화를 줄일 수 있었을 것으로 생각된다. 또한 DHEA가 n-6 지방산인 linoleic acid를 많이 섭취한 옥수수유군에서는 간 소포체 분획에서 linoleic acid의 비율을 낮추고, n-3 지방산인 EPA 및 DHA를 많이 섭취한 어유군에서는 EPA와 DHA의 비율을 낮추었지만 n-3/n-6비율은 변함이 없었다. Mohan과 Cleary²⁵⁾는 저지방 일반 사료와 함께 0.6%의 DHEA를 섭취시켰을 때 쥐 간의 미토콘드리아 분획의 인지질에서 linoleic acid의 비율은 감소한 반면 arachidonic acid는 증가하였고, EPA와 DHA의 비율은 감소함으로써 전체적인 n-6 지방산 비율은 증가하고 n-3 지방산 비율은 감소하였지만 총 포화지방산과 불포화지방산의 비율에는 유의한 변화가 없었다고 보고하였다. 따라서, 식이지방의 양과 지방산 구성에 따라 DHEA 섭취에 따른 생체막의 지방산 조성에 대한 영향은 다소 달라짐을 알 수 있었다.

한편, 고지방식이와 함께 저용량의 DHEA를 섭취하였을 때 옥수수유군과 어유군 모두에서 간의 생체막을 구성하는 지방산의 PUFA/SFA 비율을 유의하게 낮추었음에도 불구하고 옥수수유군에서는 지질과산화를 억제하는 효과가 없었으며, 단지 어유군에서만 지질과산화를 유의하게 억제하는 결과를 보였기 때문에, 저농도의 DHEA섭취가 체내 생체막

지방산의 불포화도를 낮춤으로써 항산화효과를 나타낸다고 말할 수는 없다. 그러나, 어유식이와 함께 DHEA를 섭취시켰을 때 간 소포체막의 지방산 구성에서 가장 두드러진 변화는 C18 : 1이 거의 2배나 증가한 점과 이중결합이 5개나 되는 C20 : 5가 50% 이상 크게 감소한 점이다. 이와 아울러 C22 : 6은 13% 정도 감소했을 뿐이었지만 이중결합이 6개나 되기 때문에 실제적으로 이들 C20 : 5와 C22 : 6의 감소로 인한 세포내 산화적 스트레스 및 지질과산화의 감소효과는 매우 클 것으로 생각된다. 한편, C18 : 1 (oleic acid)은 체내에서 지질과산화를 감소시키는 동시에 혈중 총 콜레스테롤 농도와 apolipoprotein B의 농도를 감소시킴으로써 동맥경화를 예방하는 효과를 보이는 것으로 알려져 있다.^{45,46)} 여러 보고들에서⁴⁵⁻⁴⁷⁾ oleic acid가 많은 지방을 섭취했을 때 linoleic acid가 많은 지방을 섭취했을 때에 비하여 혈장이나 HDL3 및 간 소포체 분획에서의 TBARS 농도가 낮았다고 하였다. 앞으로 DHEA의 항산화효과에 대한 가능성과 그 기전을 밝히기 위해서는 항산화 관련 효소들의 합성 및 활성 변화와 여러 항산화 물질들의 농도 변화에 대한 연구가 추가적으로 진행되어야 할 것으로 본다.

요약 및 결론

DHEA투여가 동물체내에서 과산화를 촉진한다는 보고와, 반대로 항산화효과를 보인다는 상반된 보고들이 있다. 본 실험에서는 저농도의 DHEA 섭취가 식이지방의 종류에 따른 간에서의 지질과산화에 미치는 영향을 살펴보는 동시에 세포막의 지방산 조성의 변화가 관련되어 있을 가능성에 대하여 확인하고자, 8주령의 SD 수컷 흰쥐에게 1) 옥수수유식이 (15%, w/w) 2) 옥수수유식이 + 0.2% DHEA 3) 어유식이 (2% 옥수수유 + 13% 정어리유) 4) 어유식이 + 0.2% DHEA를 9주간 자유급식하였다.

옥수수유군이나 어유군 모두 DHEA 투여에 의하여 성장률에 차이는 없었으며, 혈청 중성지방이나 콜레스테롤 농도에 있어서도 유의한 변화는 없었으나, 어유군에서 DHEA 투여시 동맥경화지수 ($p < 0.001$) 및 간 조직의 중성지방과 콜레스테롤 함량이 유의하게 감소하였다 ($p < 0.0001$).

간 소포체 분획에서 지방산 조성을 GC로 분석한 결과 DHEA투여는 옥수수유군과 어유군 모두에서 포화지방산 비율을 유의하게 증가시킨 반면 (특히 C16 : 0) 다불포화지방산의 비율은 감소시킴으로써 (옥수수유군에서는 C18 : 2, 어유군에서는 C20 : 5, C22 : 6), 두 식이군 모두에서 PUFA/SFA의 비율을 유의하게 감소시키는 ($p < 0.0001$) 특성을 보였으며, 특히 어유군에서 DHEA의 투여는 단일불포화지

방산인 C18 : 1의 비율을 2배 정도로 크게 증가시켰다. 한편, DHEA의 투여는 옥수수유군에서 n-6 지방산의 비율을 낮추었고, 어유군에서는 n-3 지방산의 비율을 낮추었지만, n-3/n-6 비율은 변함이 없었다.

DHEA 투여는 어유섭취에 의하여 크게 증가한 간 조직에서의 TBARS와 conjugated dienes의 수준을 유의하게 저하시키는 항산화효과를 보였지만, 카르보닐 단백질은 감소시키지 못하였으며, 더욱이, 옥수수유식이군에서는 이들 지질과산화물의 농도를 저하시키지도 못하였다.

결론적으로, 어유식이와 함께 DHEA를 저농도로 섭취한 경우 간 조직의 지방함량을 감소시키는 동시에 간 생체막에서 과산화의 주요 기질인 EPA와 DHA의 비율을 감소시킴으로써 어유섭취로 인한 체내 산화적 스트레스를 감소시키는 효과를 보였다.

Literature cited

- 1) Hornsby PJ. Biosynthesis of DHEAS by the human adrenal cortex and its age-related decline. *Ann NY Acad Sci* 774: 29-46, 1995
- 2) Regelson W, Kalimi M. DHEA-the multifunctional steroid. II. Effects on the CNS, cell proliferation, metabolic and vascular, clinical and other effects. Mechanism of action. *Ann NY Acad Sci* 719: 564-576, 1994
- 3) Falany CN, Comer KA, Dooley TP, Glatte H. Human DHEA sulfotransferase. In: Dehydroepiandrosterone (DHEA) and aging. *Ann NY Acad Sci* 774: 59-71, 1995
- 4) Malarkey WB, Hall JC, Rice RR, O'Toole ML, Douglas PS, Demers LM, Glaser R. The influence of age on endocrine responses to ultraendurance stress. *J Gerontol* 48: M134-M139, 1993
- 5) Morales AJ, Nolan JJ, Nelson JC, Yen SS. Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. *J Clin Endocr Metab* 78: 1360-1367, 1994
- 6) Richards RJ, Porter J, Svec F. Serum leptin, lipids, free fatty acids and fat pads in long-term dehydroepiandrosterone-treated Zucker rats. *PSEBM* 223: 258-262, 2000
- 7) Nestler JE, Barlascini CD, Clore JN, Blackard WG. DHEA reduces serum low lipoprotein levels and body fat but dose not alter insulin sensitivity in normal men. *J Clin Endo Metab* 66: 57-65, 1988
- 8) Coleman DL, Schwizer RW, Leiter EH. Effect of genetic background on the therapeutic effects of dehydroepiandrosterone in diabetes-obesity mutants and in aged normal mice. *Diabetes* 33: 26-32, 1984
- 9) Milewich L, Catalina F, Bennett M. Pleiotropic effects of dietary DHEA. In: Dehydroepiandrosterone (DHEA) and aging. *Ann NY Acad Sci* 774: 149-170, 1995
- 10) McIntosh MK, Berdainer CD. Antiobesity effects of dehydroepiandrosterone are mediated by futile substrate cycling in hepatocytes of BHE/cdb rats. *J Nutr* 121: 2037-2043, 1991
- 11) Lea-Currie YR, Wen P, McIntosh MK. Dehydroepiandrosterone-sulfate reduces adipocyte hyperplasia associated with feeding rats

- a high-fat diet. *Inter J Obesity* 21: 1058-1064, 1997
- 12) Marrero M, Prough RA, Frenkel RA, Milewich L. Dehydroepiandrosterone feeding and protein phosphorylation, phosphatases, and lipogenic enzymes in mouse liver. *Proc Soc Exp Biol Med* 193(2): 110-117, 1990
 - 13) Bellei M, Battelli D, Fornieri C, Mori G, Muscatello U, Lardy H, Bobyleva V. Changes in liver structure and function after short-term and long-term treatment of rats with DHEA. *J Nutr* 122: 967-976, 1992
 - 14) Kwak CS, Park SC. Oxidative stress and peroxisomal proliferation induced by short-term administration of DHEA and fish oil in rat liver tissue. *Korean J Gerontology* 8(2): 134-148, 1998
 - 15) Wu HQ, Masset-Brown J, Tweedie DJ, Melewich L, Frenkel RA, Martin-Wixtrom C, Estabrook RW, Prough RA. Introduction of microsomal NADPH-cytochrome P450 reduced and cytochrome P450IV1 (P450LA ω) by dehydroepiandrosterone: a possible peroxisomal proliferator. *Cancer Res* 49: 2337-2343, 1989
 - 16) Swierczynski J, Bannasch P, Mayer D. Increase of lipid peroxidation in rat liver microsomes by dehydroepiandrosterone feeding. *Biochim Biophys Acta* 1315: 193-198, 1996
 - 17) Rao MS, Reddy JK. An overview of peroxisome proliferator-induced hepatocarcinogenesis. *Environ Health Perspectives* 93: 205-209, 1991
 - 18) Aragno M, Tamagno E, Buccuzzi G, Brignardello E, Chiarpotto E, Pizzini A, Danni O. Dehydroepiandrosterone pretreatment protects rats against the pro-oxidant and necrogenic effects of carbon tetrachloride. *Biochem Pharmacol* 46(10): 1689-1694, 1993
 - 19) Aragno M, Brignardello E, Tamagno E, Gatto V, Danni O, Buccuzzi G. Dehydroepiandrosterone administration prevents the oxidative damage by acute hyperglycemia in rats. *J Endocrinology* 155: 233-240, 1997
 - 20) Buccuzzi G, Aragno M, Seccia M, Brignardello E, Tamagno E, Albano E, Danni O, Bellomo G. Protective effect of dehydroepiandrosterone against copper-induced lipid peroxidation in the rat. *Free Radical Biol Med* 22(7): 1289-1294, 1997
 - 21) Gallo M, Aragno M, Gatto V, Tamagno E, Brignardello E, Manti R, Danni O, Buccuzzi G. Protective effect of dehydroepiandrosterone against lipid peroxidation in a human liver cell line. *Eur J Endocrinology* 141: 35-39, 1999
 - 22) Mastrocola A, Aragno M, Betteto S, Brignardello E, Catalano MG, Danni O, Buccuzzi G. Pro-oxidant effect of dehydroepiandrosterone in rats is mediated by PPAR activation. *Life Sci* 73: 289-299, 2003
 - 23) Bednarek-Tupikowska G, Gosk I, Szuba A, Bohdanowicz-Pawlak A, Kosowaka B, Bidzinska B, Milewicz A. Influence of dehydroepiandrosterone on platelet aggregation, superoxide dismutase activity and serum lipid peroxide concentrations in rabbits with induced hypercholesterolemia. *Med Sci Monit* 6: 40-45, 2000
 - 24) Aragno M, Mastrocola R, Brignardello E, Catalano M, Robino G, Manti R, Parola M, Danni O, Buccuzzi G. Dehydroepiandrosterone modulates nuclear factor- κ B activation in hippocampus of diabetic rats. *Endocrinology* 143: 3250-3258, 2002
 - 25) Mohan PF, Cleary MP. Short-term effects of dehydroepiandrosterone treatment in rats on mitochondrial respiration. *J Nutr* 121: 240-250, 1991
 - 26) Aragno M, Parola S, Brignardello E, Mauro A, Tamagno E, Manti R, Danni O, Buccuzzi G. Dehydroepiandrosterone prevents oxidatively injury induced by transient ischemia/reperfusion in the brain of diabetic rats. *Diabetes* 49: 1924-1931, 2000
 - 27) Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509, 1957
 - 28) Uchiyama M, Mihara M. Determination of malondialdehyde procedure in tissue by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 86: 271-278, 1978
 - 29) Rechnagel RO, Glende EAJ. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. *Method Enzymol* 105: 331-337, 1984
 - 30) Levine RL, Carland D, Oliver CN, Anici A, Aliment I, Lens AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. Determination of carbonyl content in oxidatively modified protein. *Methods in Enzymology*, William BJ Ed. *Academic Press Inc NY* 186: 464-478, 1990
 - 31) Bradford M. A rapid and method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 240-254, 1970
 - 32) Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 27: 114-120, 1986
 - 33) Kurzman ID, MacEwen EG, Haffa ALM. Reduction in body weight and cholesterol in spontaneously obese by DHEA. *Int J Obesity* 14: 95-104, 1990
 - 34) Mohan PF, Phillips FC, Cleary MP. Metabolic effects of coconut, safflower, or menhaden oil feeding in lean and obese Zucker rats. *Br J Nutr* 66(2): 285-299, 1991
 - 35) Prough RA, Webb SJ, Wu HQ, Lapenson DP, Waxman DJ. Induction of microsomal and peroxisomal enzymes by dehydroepiandrosterone and its reduced metabolite in rats. *Cancer Res* 54: 2878-2886, 1994
 - 36) Aragno M, Tamagno E, Gatto V, Brignardello E, Parola S, Danni O, Buccuzzi G. Dehydroepiandrosterone protects tissues of streptozotocin-treated rats against oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 26: 1467-1474, 1999
 - 37) Tamagno E, Aragno M, Buccuzzi G, Gallo M, Parola S, Fubini B, Poli G, Danni O. Oxygen free radical scavenger properties of dehydroepiandrosterone. *Biochem Funct* 16(1): 57-63, 1998
 - 38) Chevalier M, Lin EC, Levine RL. Hydrogen peroxide mediates the oxidative inactivation of enzymes following the switch from anaerobic to aerobic metabolism in *Klebsiella pneumoniae*. *J Biol Chem* 265: 42-46, 1983
 - 39) Swierczynski J, Mayer D. Vitamin E prevents induction of carbonyl group formation in microsomal protein by dehydroepiandrosterone. *Nutr Cancer* 32(2): 101-106, 1998
 - 40) Stadtman ER. Metal ion catalyzed oxidation of proteins: Biochemical mechanism and biological consequences. *Free Rad Biol Med* 9: 315-325, 1990
 - 41) Abadie JM, Malcom GT, Porter JR, Svec F. Dehydroepiandrosterone alters lipid profiles in Zucker rats. *Lipids* 35(6): 613-620, 2000
 - 42) Miller BC, Lau HW, Tyler NE, Cotan GL. Liver composition and lipid metabolism in NZB/WF1 female mice fed dehydroepiandrosterone. *Biochim Biophys Acta* 962: 25-36, 1988
 - 43) Imai K, Koyama M, Kudo N, Shirahata A, Kawashima Y. Increase in hepatic content of oleic acid induced by dehydroepiandrosterone in the rat. *Biochem Pharmacology* 58: 925-933, 1999

- 44) Omundsen H, Bjornstad K. Inhibitory effects of some long-chain unsaturated fatty acids on mitochondrial β -oxidation. *Biochem J* 230: 329-337, 1985
- 45) Sola R, La Ville AE, Richard JL, Motta C, Bargallo MT, Girona J, Masana L, Jacotot B. Oleic acid rich diet protect against the oxidative modification of high density lipoprotein. *Free Radic Biol Med* 22(6) : 1037-1045, 1997
- 46) Bayindir O, Ozmen D, Mutaf I, Turgan N, Habif S, Gulter C, Parildar Z, Uysal A. Comparison of the effects of dietary saturated, mono-, and n-6 polyunsaturated fatty acids on blood lipid profile, oxidant stress, prostanoid synthesis and aortic histology in rabbits. *Ann Nutr Metab* 46(5) : 222-228, 2002
- 47) Perona JS, Arcemis C, Ruiz-Gutierrez V, Catala A. Effect of dietary high-oleic-acid that are rich in antioxidants on microsomal lipid peroxidation in rats. *J Agric Food Chem* 53: 730-735, 2005