

식이중의 Vitamin A와 E가 Adriamycin을 투여한 흰쥐의 심근손상의 원인인 과산화작용에 미치는 영향*

정 영 아 · 서 정 숙

영남대학교 가정대학 식품영양학과

Effect of Dietary Vitamin A and E on Peroxidative Deterioration of Heart in Adriamycin-Treated Rats

Joung, Young Ah · Seo, Jung Sook

Department of Food and Nutrition, College of Home Economics, Yeungnam University, Daegu, Korea

ABSTRACT

The present study was designed to evaluate the protective effects of dietary vitamin A or E, and of combination of vitamins A and E on peroxidative deterioration of heart in adriamycin-treated rats. Male Sprague-Dawley rats were assigned to 5 groups according to the dietary supplementation of vitamin A or E. Except control rats, a dose of 2mg ADR/kg of B.W. was injected to these animals intraperitoneally on the same day every week.

Adriamycin treatment significantly decreased the weight gain of experimental rats compared with that of control rats. But this decrement was not modified by dietary supplementation of vitamin A or E. Lipid peroxide values of plasma were elevated by ADR treatment. The combined use of ADR and dietary vitamin A or E significantly reduced these values. The interaction between vitamins A and E seemed to be present in the lipid peroxide value of plasma. Catalase and superoxide dismutase(SOD) activities in rat heart were decreased by ADR treatment, but glutathione peroxidase(GSH-Px) activity was elevated. Dietary supplementation of vitamin A or E enhanced the heart catalase and SOD activities, except only vitamin A-supplemented group. GSH-Px activity of rat heart tended to be decreased by dietary supplementation of vitamin A or E. With ADR treatment, polyunsaturated fatty acids such as arachidonic acid(20 : 4) and docosahexaenoic acid(22 : 6) were decreased in rat heart. However, dietary supplementation of vitamins A and E reduced this decrease. The retinol and tocopherol contents of rat plasma were decreased by ADR treatment. Dietary vitamin A or E influenced vitamin A or E content of plasma. The interaction between dietary vitamins A and E was observed

채택일자 : 1992년 6월 19일

*이 논문은 1991년도 교육부 지원 한국학술진흥재단의 지방대학 육성과제 학술연구조성비의 일부에 의하여 연구되었음.

in vitamin A or E level of rat plasma.

KEY WORDS : vitamin A · vitamin E · adriamycin · lipid peroxidation.

서 론

여러 퇴행성 질병들의 한 원인으로 free radicals에 의한 연쇄반응이 지적되면서 생체내 지질과산화반응의 중요성이 크게 강조되고 있다. Mimnaugh등은¹⁾ 항암제로 사용되고 있는 adriamycin(ADR)의 대사 산물인 semiquinone radical이 다른 free radicals와 지질과산화물 형성을 증가시키며 이 대사산물들이 특히 심장 미토콘드리아에 손상을 가해 심근의 구조 및 기능 변화를 유발한다고 보고했다. 일반적으로 ADR은 간보다 심장에서의 부작용이 더 심한것으로 알려져 있으며, 심근 섬유의 손상, 세포질 괴저 및 심근 세포 상실 등도 일으킬 수 있다고 보고되어 있다¹⁾.

Milei등은²⁾ ADR을 투기에 투여했을 때 심근에서의 지질과산화가 유도되어 막 손상 및 Ca 투과성이 증가되었고 Vitamin A와 E 급여에 의해 이러한 손상이 개선되어졌다고 보고하였다. Vitamin E는 막 속의 인지질과 황을 함유한 단백질과 결합하여 막구조와 세포막의 안정 유지를 돕고, 막 손상과 막 조직에 있는 고도 불포화지방산의 산화를 방지하여 세포기능을 정상적으로 유지시키는 역할을 하고 있다³⁾. Vitamin A는 매우 활성적인 singlet oxygen을 포획하여 free radicals로 유도되는 반응을 방어할 수 있다고 하며, 이에 관한 여러 연구가 시도되었다⁴⁾⁵⁾⁶⁾. 그러나 낮은 산소압 상태인 생리적 조건에서 β-carotene은 radical을 제거하는 항산화제로서의 역할을 하지만 높은 산소압 상태에서는 항산화 활성을 잃고, 오히려 산화촉진작용을 한다는 보고도 있다⁷⁾. Burton과 Ingold는⁷⁾ 생리적 조건에서 작용하는 ADR의 지질과산화에 대하여 낮은 산소압 상태에서 더 효과적인 β-carotene이 α-tocopherol보다 더 좋은 방어 인자로서의 가능성을 제시하였다.

최근 여러 영양소들에 대한 생화학적, 생리학적인 기능이 상세하게 밝혀짐에 따라 이들 영양소간의

상호작용에 관한 관심이 높아지고 있다. Vitamin A와 E의 상호작용으로서 고농도의 Vitamin A는 혈장과 조직에서 Vitamin E의 감소를 초래하였으며, 이것은 Vitamin E가 Vitamin A의 산화를 방어하는데 이용되기 때문이라는 보고가 있다⁸⁾. Sklan과 Donoghue는⁹⁾ Vitamin A와 E의 상호작용에 관한 연구에서 식이 중의 Vitamin A가 과량일때 α-tocopherol이 산화되어 Vitamin E 함량이 감소하였고 또한 산화적 손상에 대한 세포 방어와 관련된 효소에 있어 그 영향이 다르다고 하였다. 즉, Vitamin E 결핍식은 GSH-Px와 SOD의 활성을 증가시켰고 Vitamin A 급여는 GSH-Px의 활성을 증가시킨 반면 SOD의 활성은 감소시켰다. Vitamin A와 E의 막에 대한 작용의 차이는 Vitamin A는 지질 이중층에서 막의 투과성을 증가시키는데 비하여 Vitamin E는 막의 안정화 작용이 나타남을 보여주는 보고가 있다¹⁰⁾.

이상과 같이 지질과산화를 유도하는 free radicals의 생성이 ADR 이용의 중요한 제한점으로 제기되고 있으므로 본 연구에서는 ADR 투여에 의한 부작용에 대해 Vitamin A와 E의 효과와 이들의 상호작용에 의한 영향을 알아보려고 한다.

재료 및 방법

1. 실험 동물 및 식이

실험 동물은 이유한 지 1주일 된 Sprague-Dawley종 숫쥐 50마리로서 2주 동안 기본 식이로 적응시킨 후 체중에 따라 10마리씩 분리하여 5군으로 임의 배치하여 stainless-steel cage에 한 마리씩 나누어 사육하였다. 실험 동물 사육실의 온도는 20±2℃, 채광은 12시간(8:00~20:00)을 유지시켰고, 각 처리별 실험 식이로 6주간 사육한 후 희생시켰다. 실험 기간 중 물은 임의로 섭취하도록 하였으며, ADR의 투여는 매주 일정 시각에 일정량(2 mg/kg body weight)을 복강내 주사로 투여했다. 각

Table 1. Experimental design

Group	Diet composition	Treatment
C	Basal diet	Saline ³⁾
A ₀ E ₀	Basal diet	ADR ⁴⁾
A ₀ E ₁	Basal diet+Vitamin E ¹⁾	ADR
A ₁ E ₀	Basal diet+Vitamin A ²⁾	ADR
A ₁ E ₁	Basal diet+Vitamin E +Vitamin A	ADR

- 1) 0.5g of α -tocopheryl acetate/kg of diet
 - 2) 0.05g of retinyl acetate/kg of diet
 - 3) 2.0ml of saline/kg of body weight/week
 - 4) 2.0mg of ADR in saline/kg of body weight/week
- *Except control group, basal diet of adriamycin-treated groups did not contain vitamins A and E.

Table 2. Composition of basal diet

Ingredient	Content (%)
Vitamin free-casein	23.5
Corn starch	40.4
Glucose	11.5
Sucrose	5.8
Soybean oil	10.0
α -cellulose	4.0
Mineral mixture ¹⁾	3.5
Vitamin mixture ²⁾	1.0
DL-methionine	0.3

1) Mineral mixture based on the pattern of Rogers and Harper(1965)³⁹⁾ contained the following(g/kg diet) :

CaCO₃ 10.2515, CaHPO₄(2H₂O) 0.1505, KH₂PO₄ 12.0085, NaCl 8.771, MgSO₄(7H₂O) 3.493, Fe(C₆H₅O₇) 0.21805, CuSO₄(5H₂O) 0.0546, MnSO₄ · H₂O 0.04235, ZnCl₂ 0.007, KI 0.000175, (NH₄)₆Mo₇O₂(4 H₂O) 0.000875, Na₂SeO₃(5H₂O) 0.000525

2) Vitamin mixture contained the following(kg diet) : Vitamin A acetate 5,000I.U., Vitamin D 1,000I.U., Vitamin E acetate 50mg, Vitamin K 50mg, Thiamin HCl 12mg, Pyridoxine HCl 80mg, Cyanocobalamin 0.005mg, Ascorbic acid 300mg, D-biotin 0.2mg, Folic acid 2mg, Calcium Pantothenate 50mg, PABA 50mg, Niacin 60mg, Inositol 60mg, Choline Chloride 2000 mg, Riboflavin 40mg

실험군에 대한 처리는 Table 1과 같으며, 체중 증가량 및 식이 섭취량은 매주 일정시각에 측정하였다.

본 실험에 사용한 basal diet의 구성 성분은 아래

Table 2에 나타내었다. 지방공원은 soybean oil을 사용하였고, 모든 처리군들에게 Vitamin free-casein을 단백질 공원으로 이용하였다. Vitamin A는 retinyl acetate, Vitamin E는 tocopheryl acetate 형태로 식이에 공급시켰다. A₀E₀ 군은 Vitamin A와 E를 첨가하지 않았고, A₀E₁군은 Vitamin E만을, A₁E₀군은 Vitamin A만을 식이로 첨가시켰고, A₁E₁군은 Vitamin A와 E를 동시에 첨가 시켰다.

2. 생화학적 분석

실험 식이로 6주간 사육한 흰쥐를 12시간 절식 시킨 후, ether로 마취시켜 복부를 개복하고 즉시 복부 대동맥에서 heparin을 처리한 주사기로 채혈한 다음 3,000r.p.m.에서 10분간 냉장 원심분리하여 혈장을 분리시켰다. 그런 다음 혈장을 일정량씩 나누어 과산화지질 함량과 Vitamin A와 E 정량에 사용하였다. 심장 조직은 MSE medium(225mM mannitol, 75mM sucrose, 0.1mM Tris-HCl, pH7.4)으로 perfusion시켜 심장을 적출한 후 여러번 세척하고 여과지로 수분을 완전히 제거시킨 다음, 생조직 무게를 평량하였다. 심장 미토콘드리아 분획은 Mcla와 Seitz의 방법⁹⁾을 보완하여 준비하였으며 catalase, GSH-Px 그리고 SOD 활성도 측정에 사용하였다.

혈장에 있어서 지질과산화물 측정은 Ohkawa등의¹²⁾ 방법으로 측정하였고, 표준용액으로는 1,1,3,3-tetrathoxypropane(TEP)을 사용하였다. 심방 미토콘드리아의 catalase 활성도는 Aebi 방법을¹³⁾ 이용하여 1분동안 1 μ M의 H₂O₂를 분해시키는 catalase 활성도를 1unit로 정의하였다. 심장에서의 GSH-Px 효소활성은 Paglia와 Valentine¹⁴⁾ 그리고 Lawrence와 Burk의¹⁵⁾ 방법을 보완하여 측정하였다. 효소의 활성단위는 mg protein당 1분동안 산화되는 NADPH nM수로 정의하였다. Superoxide dismutase 활성도는 riboflavin의 photochemical 환원으로 생성된 O₂에 의한 nitrobluetetrazolium(NBT)의 환원을 억제하는 정도로써 측정된 Winterbourn등의¹⁶⁾ 방법을 사용하였다. 효소 활성 농도는 매 시료마다 6개의 시료량에 의해 형성된 검량 곡선에서 산출되었으며 NBT의 최대환원을 50% 저지한 SOD의 양을 1

Table 3. Effect of vitamin A and E supplementation on growth performance in adriamycin-treated rats

Group	B.W.G. ²⁾	Feed intake		F.E.R. ³⁾
		(g/day)		
C	5.30±0.79 ¹⁾	21.38±2.03		0.32±0.03
A ₀ E ₀	4.32±0.67 ²⁾ **	18.60±1.16 ^{**}		0.25±0.05 ^{**}
A ₀ E ₁	3.99±0.48 ^{**}	21.25±1.53		0.20±0.02 ^{**}
A ₁ E ₀	4.74±0.58	20.29±1.36		0.24±0.02 ^{**}
A ₁ E ₁	4.54±0.58 ^{**}	18.89±0.86 ^{**}		0.25±0.03 ^{**}

- 1) Values shown are mean±S.D.
- * Significant at 5% level
- **Significant at 1% level
- 2) B.W.G. : Body weight gain
- 3) F.E.R. : Feed efficientdv ratio

Table 4. ANOVA statistics for growth performance in adriamycin-treated rats

Treatment	B.W.G.	Feed intake	F.E.R.
A	6.99 ¹⁾ **	0.72 ^{NS}	5.06 ^{**}
E	2.01 ^{NS}	2.46 ^{NS}	3.39 ^{NS}
A×E	0.13 ^{NS}	26.12 ^{**}	10.05 ^{**}

- 1) F value
- * Significant at 5% level
- **Significant at 1% level
- NS : Not significant

unit로 정의하였고 단백질 농도를 기준으로 하여 SOD의 unit를 표기하였다.

심장조직에서의 지방산 조성변화는 Folch등의¹⁷⁾ 방법으로 지질을 추출한 후 Metcalfe와 Schwarz의¹⁸⁾ 방법을 이용하여 BF₃-methanol로 지방산을 methyl ester화 시켰다. 그런 다음 capillary column(PEG 20 M, 30m)을 사용하여 gas chromatography(Hewlett Packard 5890 A)로 지방산 조성을 분석하였다. 혈장 Vitamin A와 E의 함량은 Bieri등의¹⁹⁾ 방법으로 μ Bondapak C₁₈ column을 사용하여 HPLC(Waters 6000 A)로 측정하였다. 각 조직분획의 단백질 정량은 bovine serum albumin 표준단백질 용액을 사용하여 Lowry등²⁰⁾의 방법으로 측정하였다.

3. 통계 처리

본 실험의 결과는 각 실험군마다 평균과 표준편차를 계산하였고, 2×2요인 실험에 의한 분산분석을 실시한 후 Vitamin A 및 E의 급여효과와 이들 간의 상호작용을 1% 및 5% 수준에서 유의성을

검증하였다. 또한 대조군에 대한 각 실험군 간의 유의차는 1% 및 5% 수준에서 T-test에 의하여 검증하였다²¹⁾.

결과 및 고찰

1. 체중 증가량, 사료 섭취량 및 사료효율의 변화

일일 평균 체중 증가량은 ADR을 투여한 군들을 대조군과 비교했을 때, Vitamin A 단독 급여군을 제외하고 모든 처리군들에서 유의적인 감소를 보여 주었다(Table 3). 사료 섭취량에 있어서는 대조군에 비해 ADR 투여로 Vitamin A, E 무첨가군과 동시 보충군이 유의적으로 감소되었다. 또한 사료효율에 있어서는 모든 처리군들이 대조군에 비해 유의적인 감소를 나타내었다. 본 실험의 결과는 토끼에게 ADR(2.25mg/B.W.kg/1week)을 80일간 투여했을 때 정상군에 비해 체중 증가량이 감소하였다는 보고와²²⁾ 일치하는 경향을 나타내었다. 흰쥐에게 ADR을 1주일에 1회 15mg/B.W.kg씩 고농도로 투여한 경우, 처음 체중보다 감소하는 경향을 나타내었는데, 그 정도는 투여 기간에 비례하여 심해졌다는 보고가 있다²³⁾.

본 실험의 결과는 ADR의 투여에 의해 체중 증가량과 사료효율에 현저한 감소를 초래 하였으나, 이에 대하여 Vitamin A와 E의 공급이 뚜렷한 영향을 나타내지는 못하였다(Table 4). 그러나 Vitamin A 단독 급여군은 ADR에 의한 영향을 별로 받지 않

Table 5. Effect of vitamin A and E supplementation on plasma lipid peroxide level, cardiac catalase, GSH-Px and SOD activities in adriamycin-treated rats

Group	LPO ²⁾	Catalase	GSH-Px	SOD
	(MDA n mol/ml)			
C	10.53±2.48 ¹⁾	8.14±3.54	171.76±28.47	23.61±8.71
A ₀ E ₀	47.45±8.52 ^{**}	5.15±2.02 ^{**}	205.79±53.56	16.59±4.17 [*]
A ₀ E ₁	5.58±2.09 ^{**}	9.22±4.47	139.21±29.82 ^{**}	20.96±3.62
A ₁ E ₀	7.49±2.78 [*]	23.42±9.03 ^{**}	120.73±14.26 ^{***}	15.46±6.27 [*]
A ₁ E ₁	5.85±2.08 ^{***}	17.04±7.66 ^{**}	48.06±10.56 ^{***}	19.26±2.89

1) Values shown are mean±S.D.

* Significant at 5% level

**Significant at 1% level

2) LPO : TBA-reacting substances

Table 6. ANOVA statistics for plasma lipid peroxide level, cardiac catalase, GSH-Px and SOD activities in adriamycin-treated rats

Group	LPO	Catalase	GSH-Px	SOD
A	177.12 ¹⁾ **	41.44 ^{**}	76.25 ^{**}	1.03 ^{ns}
E	213.07 ^{***}	0.33 ^{ns}	47.62 ^{**}	8.53 ^{**}
A×E	182.10 ^{**}	6.64 ^{**}	0.09 ^{ns}	0.04 ^{ns}

1) F value

* Significant at 5% level

**Significant at 1% level

NS : Not significant

있고, Vitamin A 단독 급여군과 Vitamin A, E 동시 급여군에 비해 Vitamin E 급여군이 ADR에 의한 영향을 더 많이 받았음을 알 수 있다.

2. 과산화지질 함량의 변화

Table 5와 같이 혈장에서의 과산화지질 함량 변화는 대조군에 비해 ADR을 투여한 군에서 현저한 증가를 나타내었다. 이와 같은 결과는 본 연구자들의 전 실험에서의 결과와 유사한 경향이며²⁴⁾ 이에 Vitamin A와 E의 투여가 혈장의 지질과산화물 함량을 유의적으로 감소시켰고, Vitamin A와 E의 동시 급여군에서는 Vitamin A보다는 작고 Vitamin E보다는 큰 효과를 나타내 보였다(Table 6).

항암제로 이용되고 있는 ADR은 NADPH로부터 semiquinone radical을 형성하며, single electrons의 전이를 촉진하고 뒤이어 분자 산소를 자극하여 superoxide anion과 hydroxyl radical을 형성함으로써 복용량에 의존하여 심장 질환, 간 질환과 세포 독성을 유도하는 것으로 알려져 있다¹⁾. β -carotene과

같은 carotenoids는 α -tocopherol보다 생리적 중요성은 더 작지만, 조직에서 α -tocopherol의 농도 조절과 관련하여 간접적인 기전으로 세포막의 과산화물을 효과적으로 저해할 수 있는 것으로 보고되고 있다²⁵⁾. Das는²⁶⁾ retinol과 retinyl acetate가 이제까지 알려진 어떤 항산화제보다 더 효과적인 지질과산화물 저해제라고 주장하였다. Vitamin E는 세포막, 적혈구막, 미토콘드리아 막과 내형질 세망에 고농도로 존재하여 free radical quencher로서 free radicals 연쇄반응을 차단시켜 산화적 손상에 대한 보호작용을 나타내며, 막 속의 인지질과 황을 함유한 단백질과 결합하여 막 안정화에 기여한다고 보고되어 있다²⁷⁾. Doroshov는²⁸⁾ 심근 세포에서 효소적으로 free radicals를 해독화시키는 능력이 제한되어 있어 특히 심장이 활성 산소에 더욱 민감하다고 설명하고 있다. 한편 과잉의 Vitamin A가 Vitamin E의 활성을 감소시키고, Vitamin E는 Vitamin A의 흡수와 저장을 증가시킨다는 연구들로 미루어⁷⁾ Vitamin A와 E 사이에 상호작용의 가능성이 제시되었다.

본 실험의 결과를 보면 Vitamin A 급여군은 Vitamin E 급여군과 Vitamin A, E 동시 급여군에 비해 과산화지질 생성의 억제에 있어서 덜 효과적이었다.

3. 과산화지질 대사효소 활성도의 변화

심장에서 ADR 투여에 의한 catalase의 활성 변화는 감소하는 경향이었고, Vitamin A와 E에 의해 효소활성도가 크게 유도되었으며(Table 5), Vitamin A와 E 사이에 상호작용을 나타내었다(Table 6). 생체내 지질과산화 반응에 대한 효소적 방어제 중 catalase는 간과 적혈구를 주로 하여 모든 동물 조직에서 발견되고 있으나 심장에는 소량 분포해 있으면서 H₂O₂를 물로 환원시킴으로써 지질과산화에 의한 세포 손상을 방어하는 역할을 하고 있다¹³). Blakely는²⁹) 옥수수기름에 의해 유도된 지질과산화에 대한 방어로 catalase 활성도가 지방수준에 비례하여 감소됨을 보여 주었는데 이는 본 실험 결과와 유사한 경향이였다. 또한 Vitamin A와 E의 catalase활성도에 대한 영향은 적혈구에서 α-tocopherol과 β-carotene이 catalase활성을 증가시켰다는 보고와 일치하였다³⁰).

Adriamycin 투여로 인한 GSH-Px 활성도는 catalase 활성과는 달리 심장 조직에 있어서 증가되었다. 이러한 현상은 과산화반응에 대한 생체내 적응방법으로 즉 catalase 활성 감소로 GSH-Px 활성이 증가되어진 것으로 생각된다. Glutathione peroxidase는 심장의 세포질과 미토콘드리아 수질에 존재하여 환원형 glutathione을 산화형태로 변화시키고, H₂O₂를 물로 그리고 hydroperoxide를 hydroxyl-lipid로 환원시킨다. 본 실험에서도 Vitamin A와 E의 급여로 ADR로 유도된 GSH-Px 증가를 조절할 수 있었으며, Vitamin A와 E 사이에 상호작용은 나타나지 않았다(Table 6). 이때 동시 급여군에서의 효소활성의 현저한 감소는 GSH-Px에 의존하지 않고 ADR 투여로 유도된 유리기를 Vitamin A와 E가 방어할 수 있었던 것으로 사료된다.

Table 5에 제시된 바와 같이 SOD 활성도는 ADR을 투여했을때 감소하는 경향을 보였다. 이에 Vitamin A 단독 급여는 뚜렷한 영향을 주지는 못

하였으나 Vitamin E 급여군과 Vitamin A, E 동시 급여군에서 대조군 수준으로 효소 활성이 증가되었다.

본 실험의 결과는 Lesuy³¹)의 보고에서 ADR에 의해 유도된 지질과산화 반응에서 SOD의 활성이 감소한 실험결과와 유사한 경향이였다. Vitamin E는 주로 미토콘드리아, 마이크로솜 그리고 엽록체와 같은 세포 소기관막에 존재해 있으면서 막에 결합되어 있는 산화환원계 효소로부터 생성된 superoxide anion을 제거시키는 것으로 알려져 있다³²). 옥수수유의 급여로 유도된 지질과산화 반응에서 retinol이 SOD의 활성을 감소시켰다는 보고는²⁹) 본 실험의 심장에서의 결과와 일치하였다. SOD 활성은 ADR의 투여로 유의적인 감소를 나타내었고, 이러한 감소는 Vitamin E의 급여에 의해 대조군 수준으로 증가되었다.

4. 지방산 조성의 변화

심장조직에 있어서 ADR 투여는 Table 7에서와 같이 불포화지방산 중 arachidonic acid와 docosahexanoic acid의 현저한 감소가 있었으며, Vitamin A와 E의 급여가 이와같은 감소를 방어하는 경향을 보여 주었다. 생체내에서 지질과산화 반응은 생체막의 구성 성분비를 변화시키고, 세포의 기질적 손상을 초래하여 정상적인 세포 기능을 상실시킴으로써 여러 병변을 유도할 수 있다³³). 이것은 불포화지방산이 지질과산화 반응의 주요 기질이며, 과산화 반응 결과로 인해 막의 구성성분, 유동성 및 투과성 등의 변화를 초래할 수 있는 것을 시사한다. Dean등은³⁴) ADR에 의해 유도된 막 결합 단백질들의 지질과산화적 손상이 Vitamin E에 의해 억제됨을 보고하였고, α-tocopherol을 감소시켰을때 인지질에서 대조군에 비해 고도 불포화지방산이 일정하게 감소되었다는 보고가 있다. 이는 Vitamin E가 막 속의 인지질과 황을 함유한 단백질과 결합하여 세포막을 안정화시키는 작용을 하기 때문인 것으로 사료된다. β-carotene과 Vitamin A 또한 free radicals를 제거하여 세포 손상을 막고, 세포막의 안정화에 관여하는 것으로 알려져 있다³³). 그러나, 과잉의 Vitamin A는 오히려 막을 불안정화시킨다고

Table 7. Fatty acid composition of adriamycin-treated rat heart

(%)

F.A.—Group	C	A ₁ E ₁	A ₀ E ₁	A ₁ E ₀	A ₁ E ₁
12 : 0	11.25	27.68	9.54	7.13	18.50
14 : 0	15.86	31.25	11.84	11.57	13.49
15 : 0	3.45	17.79	5.39	5.15	7.91
16 : 0	18.29	17.49	31.77	19.19	18.64
18 : 0	13.85	2.34	9.99	18.42	21.68
18 : 1	7.58	—	5.15	10.68	1.69
18 : 2	12.19	—	10.01	13.64	4.05
20 : 0	—	—	—	1.06	3.43
20 : 1	—	1.83	1.69	1.46	2.55
20 : 3	—	0.37	0.88	0.18	0.55
20 : 4	15.10	0.65	12.25	8.91	6.33
20 : 5	—	0.60	—	0.14	0.71
22 : 6	2.44	—	1.48	2.48	0.47
Total	100.01	100.00	99.99	100.01	100.00

Table 8. Effect of dietary vitamin A and E on plasma vitamin A and E levels in adriamycin-treated rats

Group	ug/ml plasma	
	Retinol	α-Tocopherol
C	1.11 ± 0.22	26.77 ± 2.59
A ₀ E ₀	0.72 ± 0.11***	5.11 ± 0.70***
A ₀ E ₁	1.27 ± 0.47	15.60 ± 1.92**
A ₁ E ₀	1.39 ± 0.32**	8.34 ± 1.72***
A ₁ E ₁	1.42 ± 0.48	16.19 ± 1.33***

1) Values shown are mean ± S.D.

* Significant at 5% level

***Significant at 1% level

Table 9. ANOVA statistics for plasma vitamin A and E levels in adriamycin-treated rats

Treatment	Retinol	Tocopherol
A	11.93 ¹⁾ **	16.39**
E	6.02**	377.45***
A×E	4.66*	7.83**

1) F value

* Significant at 5% level

***Significant at 1% level

NS : Not significant

알려져 있으며 이러한 현상은 Vitamin E의 작용으로 보완될 수 있다는 보고가 있다⁷⁾.

5. Vitamin A와 E 함량의 변화

Table 8과 9에서와 같이 혈장에 있어서 retinol의 농도는 ADR의 투여로 인해 유의적인 감소를 보여 주었는데, 이러한 감소는 Vitamin A나 E 급여에 의하여 유의적으로 증가되었다. 동시 급여군에 있어서는 단독 급여군보다 retinol의 농도는 높게 나타났는데 이는 Vitamin E가 Vitamin A의 산화를 저해하는 효과를 가진 때문인 것으로 생각된다. Tocopherol의 농도는 ADR 투여로 현저한 감소를 나타내었으며, Vitamin E 급여군은 tocopherol 농도가 ADR 투여군보다 증가되었고 Vitamin A, E 동시 급여군은 Vitamin E 단독 급여군과 유사한 수준이었다.

이러한 결과는 methylnitrosourea를 투여한 흰쥐에서, 장기간의 Vitamin A와 E 급여가 혈장 Vitamin A 수준을 대조군에 비해 다소 증가시켰으나, 혈청 Vitamin E 수준감소를 대조군 수준으로 회복시키지 못했다는 보고와³⁶⁾ 일치하는 것이다. 이들의 보고에서 Vitamin E 수준의 감소는 Vitamin A의 흡수와 저장을 증가시키려는 Vitamin E의 특성으로 인해 소모되었기 때문인 것으로 해석되고 있다³⁶⁾. 또한 과량의 Vitamin A 섭취가 대조군에 비해 혈장에서의 tocopherol 농도를 감소시켰고, 혈장 tocopherol clearance 증가를 유도하였다는 보고도 있다⁹⁾. 그러나 Vitamin A를 과량 급여하거나 Vitamin A가 결핍된 식이를 준 경우, 간과 신장같은 조직에서는

변화가 있었지만 혈장 Vitamin A 농도는 일정한 수준을 유지하였다는 보고도³⁷⁾ 발표되었다. 본 실험의 Vitamin E 단독 급여군에서 혈장 tocopherol 수준이 증가된 것은 tocopherol 첨가시, 식이 중에 고불포화 지방산의 급여수준을 변화시키지 않아도 혈중 tocopherol 수준이 증가되었다는 보고와³⁸⁾ 같은 경향이였다.

결 론

항암제로 이용되고 있는 ADR은 그 부작용으로 free radical이 유도되어 여러 퇴행성 질환을 이끄는 지질과산화물 생성을 촉진시킬 가능성이 있으므로 이는 ADR의 이용에 있어 중요한 제한점이 되고 있다. 본 연구에서는 ADR 투여로 유도된 지질과산화 반응에 대하여 항산화 효과를 가진 Vitamin A와 E의 영향을 살펴보고자 계획되었으며 얻어진 결과는 다음과 같다.

1) Adriamycin의 투여로 인한 체중 증가량은 대조군과 비교했을 때, Vitamin A 단독 급여군을 제외하고 유의적인 감소를 보여주었다. 이에 Vitamin E 급여와 Vitamin A, E 동시 급여가 뚜렷한 영향을 나타내지는 못하였다. 사료 효율에 있어서는 모든 처리군들이 대조군에 비해 유의적인 감소를 나타내었으며 그 중 Vitamin E 단독급여군이 가장 낮은 경향이였다.

2) 혈장에서의 과산화지질 함량은 ADR 투여로 현저한 증가를 보여주었고, Vitamin A와 E의 급여가 과산화지질의 생성을 감소시켰다. 또한 Vitamin A와 E의 상호작용이 관찰되었다.

3) Catalase 활성은 ADR의 투여로 감소되었고 이에 Vitamin A와 E 동시 급여군에서는 현저한 활성 증가를 보여주었다. Adriamycin 투여로 인한 GSH-Px의 활성도는 증가되었으나 Vitamin A나 E의 급여로 그 정도가 완화되었고, 동시 급여군에 있어서의 효과가 단독급여군보다 크게 나타났다. SOD의 활성은 ADR의 투여로 감소하였다. Vitamin E 단독 급여군과 Vitamin A와 E 동시급여군에서 대조군 수준으로 효소활성을 증가시켰다.

4) 지방산 조성의 변화에 있어서는 ADR의 투

여로 arachidonic acid, docosahexaenoic acid 같은 불포화지방산의 감소가 크게 나타났다. Vitamin E 단독급여군이 Vitamin A 급여군보다 ADR에 의한 이러한 감소를 방어하는데 더 큰 영향을 미쳤다.

5) 혈장에 있어서 retinol과 tocopherol의 농도변화는 ADR의 투여로 retinol과 tocopherol 둘 다 감소하는 경향을 나타내었다. Vitamin A나 E 급여가 유의적으로 이러한 농도를 증가시켰고, 동시 급여군에 있어서는 두 비타민사이의 상호작용이 관찰되었다.

Literature cited

- 1) Mimnaugh EG, Trush MA, Bhatnagar M, Gram TE. Enhancement of reactive oxygen-dependent mitochondrial membrane lipid peroxidation by the anticancer drug-adriamycin. *Biochem Phar* 34 : 847-856, 1985
- 2) Milei J, Boveris A, Llesuy S, Molina HA, Storino R, Ortega D, Milei SE. Amelioration of adriamycin-induced cardiotoxicity in rabbits by prenylamine and vitamin A and E. *Am Heart J* 111 : 95-102, 1986
- 3) Burttris JL, Diplock AT. The α -tocopherol and phospholipid fatty acid content of rat liver subcellular membranes in vitamin E and selenium deficiency. *Biochem Biophys Acta* 963 : 61-69, 1988
- 4) Hennekens CH, Mayrent SL, Wilet W. Vitamin A, carotenoids and retinoids. *Cancer*. 58 : 1837-1841, 1986
- 5) Nishimura C, Kuriyama K. Alteration of lipid peroxide an endogenous antioxidant contents in retina of streptozotocin-induced diabetic rats : Effect of vitamin A administration. *JPN J Pharmac* 37 : 365-372, 1985
- 6) Hanck A. The biochemical and physiological role of vitamin A and E and their interactions. *Acta Vitaminol Enzymol* 7 : 5-11, 1985
- 7) Burton GW, Ingold KV. β -carotene : An unusual type of lipid antioxidant. *Science* 224 : 569-573, 1984
- 8) Katz ML, Drea CM, Robison WG. Dietary vitamin A and E influence retinyl ester composition and

- content of the retinal pigment epithelium. *Biochem Biophys Acta* 924 : 432-441, 1987
- 9) Sklan P, Donoghue S. Vitamin E response to high dietary vitamin A in the chick. *J Nutr* 112 : 759-765, 1982
 - 10) Stillwell W, Bryant L. Membrane permeability changes with vitamin A/vitamin E mixed bilayers. *Biochem Biophys Acta* 731 : 483-486, 1982
 - 11) Mela L, Seitz S. Isolation of mitochondria from small amounts of tissue. *Methods in Enzymology* 55 : 39-46, 1979
 - 12) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95 : 351-358, 1979
 - 13) Aebi H. Catalase. Methods of enzymatic analysis. Second edition. edited by Hans Ulrich Bergmeyer pp. 673-684, 1974
 - 14) Paglia DE, Valentine WN. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab and Clin Med* 70 : 158-169, 1967
 - 15) Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71 : 952-958, 1976
 - 16) Winterbourn CC, Hawkins RE, Brain M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med* 85 : 337-341, 1975
 - 17) 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
 - 18) Metcalfe LD, Schwitz AA. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Anal Chem* 33 : 363-364, 1961
 - 19) Bieri JG, Tolliver TJ, Catignai GL. Simultaneous determination of α -tocopherol and retinol in plasma or red cells by high pressure liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* 32 : 2143-2149, 1979
 - 20) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
 - 21) 박성현. 현대실험계 획법. 민영사 : 381-390, 1991
 - 22) Jaenke RS. Delayed and progressive myocardial lesions after adriamycin administration in the rabbit. *Cancer Res* 36 : 2958-2966, 1976
 - 23) Olson HM, Capen CC. Subacute cardiotoxicity of adriamycin in the rat : Biochemical and Ultrastructural investigations. *Lab Invest* 37 : 386-394, 1977
 - 24) 서정숙·양경미·정영아. 식이중에 첨가한 Coenzyme Q₁₀과 Vitamin E가 Adriamycin을 투여한 흰쥐의 체내 지질과산화에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*. 20 : 320-328, 1991
 - 25) Susan Taylor M. Antioxidant activity of dietary β -carotene and canthaxanthin in biological systems and the influence of these carotenoids on tissue vitamin E and vitamin A content. *Dissertation Abstracts International* 48 : 1943-B, 1988
 - 26) Das NP. Effects of vitamin A and its analogs on nonenzymatic lipid peroxidation in rat brain mitochondria. *J Neurochem* 52 : 585-588, 1989
 - 27) Ohki K, Takamura T, Nozawa Y. Effect of α -tocopherol on lipid peroxidation and acyl chain mobility of liver microsomes from vitamin E deficient rat. *J Nutr Sci Vitaminol* 30 : 221-234, 1984
 - 28) Doroshow JM. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. *Cancer Res* 43 : 460-472, 1983
 - 29) Blakely SR, Slaughter L, Adkin J, Knight EV. Effects of β -carotene and retinyl palmitate on corn oil-induced superoxide dismutase and catalase in rats. *J Nutr* 118 : 152-158, 1988
 - 30) Zamora R, Hidalgo FJ, Tappel AL. Comparative antioxidant effectiveness of dietary β -carotene, vitamin E, selenium and coenzyme Q₁₀ in rat erythrocytes and plasma. *J Nutr* 121 : 50-56, 1991
 - 31) Llesuy SF, Arnaiz SL. Hepatotoxicity of mitoxantnone and doxorubicin. *Toxicology* 63 : 187-198, 1990
 - 32) Nishikimi M, Machlin LJ. Oxidation of α -tocopherol model compound by superoxide anion. *Arch Biochem Biophys* 170 : 684-689, 1975
 - 33) Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease : free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47 : 412-425, 1982
 - 34) Dean RT, Cheeseman KH. Vitamin E protects proteins against free radical damage in lipid environments. *Biochem Biophys Res Commun* 148 : 1277-1282, 1987

Vitamin A, E와 Adriamycin에 의한 심근손상

- 35) Seifter E, Mendecki J, Holtzman S, Kanofsky JD, Friedenthal E, Davis L, Weinzeig J. Role of vitamin A and β -carotene in radiation protection : Relation to antioxidant properties. *Pharmac Ther* 39 : 357-365, 1988
- 36) Aksoy M, Berger MR. Differential relationship of vitamin A and E levels in methylnitrosourea-induced sprague-dawley rats following prolonged feeding of fatty diets enriched with the vitamins. *J Cancer Res Clin Oncol* 116 : 470-474, 1990
- 37) Wolf G. Multiple function of vitamin A. *Physiol Rev* 64 : 873-937, 1984
- 38) 남정혜 · 박현서, 식이지방과 Tocopherol첨가가 혈액의 지질 및 조직의 Tocopherol 함량과 지방산 조성에 미치는 영향. *한국영양학회지*, 19 : 304-314, 1986
- 39) Rogers QR, Harper AE. Amino acid diets and maximal growth in the rat. *J Nutr* 87 : 267-273, 1965