韓國營養學會誌 34(7) : 754~761, 2001

식이 지방산 및 비타민 E 보충 식이가 흰쥐의 뇌조직 부위별 항산화 비타민 농도에 미치는 영향*

박정화 · 황혜진** · 김미경*** · 이양자§

연세대학교 생활과학대학 식품영양학과, 동의대학교 생활과학대학 식품영양학과,**
가톨릭대학교 의과대학 예방의학교실***

Effects of Dietary Fatty Acids and Vitamin E Supplementation on Antioxidant Vitamin Status of the Second Generation Rat Brain Sections*

Park, Jung Hwa · Hwang, Hye Jin** · Kim, Mi Kyung*** · Lee-Kim, Yang Cha§

Department of Food & Nutrition, College of Human Ecology, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea
*Department of Food & Nutrition, College of Human Ecology, Dongeui University,** Busan 614-714, Korea*
*Department of Preventive Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea,*** Seoul 137-701, Korea*

ABSTRACT

Effects of dietary fatty acids and vitamin E on antioxidant vitamin status were studied in rat brain sections. Sources of dietary fat(10 t%) were safflower oil(SO) poor in ω3 fatty acid and mixed oil(MO) with computer-adjusted fatty acid ratios (AA/DHA = 1.4, ω6/ω3 = 6.3, P/M/S = 1.0/1.5/1, AA = 2%) with(ME) and without(MO) vitamin E(500mg/kg diet). Rats were fed the three kinds of diet from 3 - 4 wks prior to the conception. At the age of 3 & 9wks of the 2nd generation rat, antioxidant vitamins were measured in frontal cortex(FC), corpus striatum(CS), cerebellum(CB) and hippocampus(HP) using a multiwavelength, reverse phase gradient HPLC system. The levels of antioxidant vitamins converged to the similar value in all groups at 9wks of age. Retinol, lycopene and cryptoxanthin levels of all experimental groups were found to be the highest in hippocampus at both 3 & 9wks of age. The levels of vitamin E appeared to be higher in the order of HP > CS · CB > FC in MO & ME. Beta-carotene and retinol showed the lowest level in hippocampus of vitamin E supplemented groups, even though vitamin E level tended to be higher in other sections. It seemed that vitamin E has an inhibitory action on the uptake of beta-carotene or acts as a preferred antioxidant to beta-carotene in certain section of the brain. By improving fatty acid balance (AA/DHA = 1.4, ω6/ω3 = 6.3, P/M/S = 1.0/1.5/1, AA = 2%), the levels of vitamin E, retinol, lycopene & beta-carotene tended to be higher in MO than in SO, although cryptoxanthin became lower at 3wks of age. In short, dietary fatty acids and vitamin E have different influence on antioxidant vitamin status in different rat brain sections. The higher levels of antioxidant vitamins in hippocampus should be pursued further in relation to behavioral development of rats. (*Korean J Nutrition* 34(7) : 754~761, 2001)

KEY WORDS: fatty acids, brain sections(FC: frontal cortex, CS: corpus striatum, CB: cerebellum, HP: hippocampus) antioxidant vitamins.

서 론

뇌의 발달시기는 종(種)마다 다양하여, 사람은 임신 3기에서 생후 18개월에 활발하고 쥐는 수유기에 가장 활발하다.[1,2] 따라서 이 시기에 ω6 와 ω3계 지방산의 균형된 공급은 매우 중요하다. 여러 실험결과에서 이들 지방산이 결핍되었을 때, 생체막과 관련된 효소 및 receptor에서부터 인지기능과 시각구분능력에 이르는 중추신경계의 활동에 다양한 변화가 관찰되었다.[3,4] 지방산 조성이 다른 식이를 어미쥐에게 공급하고, 이로부터 출생한 새끼쥐에게 출생 1주부터 어미를 교체하여 지방산 조성이 다른 모유를 수유시킨 결과, 어미의 식이와는 별 관계없이 수유기 동안 ω6계와 ω3계 지방산을 균형되게 조절한 식이군의 모유를 공급받은 새끼쥐의 학습능력이 더 나은 것으로 나타나[5] 쥐의 뇌발달이 활발한 수유기 영양의 중요성이 강조되었다.

뇌조직은 ω6계와 ω3계 불포화 지방산을 다량 함유하고 있고, 산소 소모량 또한 커서 산화적 스트레스의 가능성이 매우 큰 조직이다.[6,7] 따라서, 뇌조직이 최상의 기능을 수행

접수일 : 2001년 6월 29일
채택일 : 2001년 8월 16일
*This study was supported by the Brain Korea 21 Project.
§To whom correspondence should be addressed.

© 2001 The Korean Nutrition Society

하기 위해서는 산화적 스트레스로부터 보호될 수 있는 효율적인 항산화 체계가 필요하다고 사료된다.

뇌조직에서의 식이 지방산과 항산화 영양소에 관한 연구에서, 과량의 불포화도가 높은 LCPUFA(long chian polyunsaturated fatty acid) 섭취가 장기간 지속되면 지질의 과산화가 유발되어 자유기(free radical)가 형성되는데, 이는 세포막의 손상과 세포기능의 장애를 촉진하는 것으로 보고되었다.[8,9] 이같은 경우에는 세포의 항산화 능력을 보존하기 위한 항산화 영양소의 보충이 요구된다.[10] 본 연구팀은 PUFA와 비타민 E와의 관계에 대해 지속적인 연구를 하고 있는 바, 뇌조직의 비타민 E는 식이와 같은 환경적 요인의 영향을 덜 받으며 세포막 구조에 단단하게 연결되어 있어서 비교적 적은 양으로도 항산화 영양소의 역할을 충분히 수행할 것으로 예측되었다.[11,12] 비타민 E의 필요량은 총 PUFA 함량과 불포화도에 따라 결정되는데, 일반 조직 내에서 비타민 E의 turnover가 PUFA보다 짧아서 섭취된 비타민 E는 조직을 완전하게 보호할 수 없다고 보고[13]되는 반면, 생체막 조직의 비타민 E는 소량이지만 재이용됨을 강조한 논문도 발표되었다.[10] 자연에 널리 분포되어 있는 600여종의 carotenoid는 약 10%정도만이 provitamin A의 활성을 갖는 것으로 알려져 있다.[14] 이들은 DNA손상이나 변이를 유발시키는 singlet oxygen의 quencher로서 조직손상을 방어하고 면역반응을 증가시키는 기능이 보고되었다.[15-19] 최근 in vitro 연구[20]에 의하면, lycopene과 beta-carotene의 양에 따른 세포의 DNA손상과 membrane integrity를 측정한 결과, 이들의 농도에 따라 항산화능이 다를 수 있음이 관찰되었다.

본 연구에서는 항산화 체계에 대한 연구의 일환으로, 흰쥐의 임신과 수유기 동안에 서로 다른 지방산 조성 및 비타민 E를 첨가한 실험 식이를 공급하여 제2세대 쥐의 뇌조직에서 항산화 비타민 농도의 변화를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료: 항산화 비타민 분석을 위한 Chemical reagents

모든 유기용매(methanol, ethanol, n-hexane, acetonitrile, tetrahydrofuran(Fisher Chemical Co. USA)와 d-H_2O(Fisher Chemical Co. USA)는 모두 HPLC grade를 사용하였으며, 사용전에 organic solvent용도인 0.5μm membrane filter(Gelman Science, USA)로 여과하여 탈기한 후에 사용하였다.

Carotenoid(α-carotene, beta-carotene, lycopene(Sigma Chemical Co. USA), zeaxanthin, cryptoxanthin, lutein(F. Hoffman La Roche Chmical Co. Switzerland)와 비타민 E(dl-α-tocopherol), retinol(Sigma Chemical Co. USA), 그리고 tocol(F. Hoffman La Roche Chmical Co. Switzerland)을 구입하여 −70℃에서 보관하였으며 자외선이 차단된 상태에서 취급하였다.

2. 방 법

1) 실험동물 및 실험식이 조성

Sprague Dawley strain 흰쥐를 이용하여 환경에 적응시킨 뒤 임신 3~4주전부터 실험식이를 공급하여 교배시켰다. 출생한 새끼쥐는 어미와 같은 실험식이를 공급하여 생후 3주와 9주에 각각 희생시킨 뒤 뇌를 적출하여 부위별로 분석에 이용하였다.

실험식이 조성은 Table 1과 같다. 식이 지방 수준은 전체 무게의 10%로서, ω3계 지방산을 결핍시킨 군(Safflower Oil: SO)과 ω6 및 ω3계 지방산을 적절한 비율로 공급한 군(Mixed Oil: MO), 비타민 E를 보충한 군(MO+비타민 E : ME)으로 분류하였다.

Table 1. Composition of experimental diets(%)

Ingredient	Experimental groups		
	Safflower oil (SO)	Mixed oil (MO)	MO + Vit E
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
Salt 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 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(250,000IU/gm) 1, cholecalciferol (400,000IU/g) 0.25, menaquinone 0.05, sucrose 990. α-tocopherol 5
3. AIN-76 mineral mix: g/kg of mix: $CaHPO_4$, 500; NaCl, 74; $K_3H_6O_7 \cdot H_2O$, 220; K_2SO_4, 52; MgO, 24; $MnCO_3$, 3.5; $FeC_6H_5O_7$, 6; $CuCO_3$, 0.3; Na_2SeO_3 $5H_2O$, 0.01; KIO_3, 0.01; $CrK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, 0.55; sucrose, finely powdered, 118.03.
4. Carboxymethyl cellulose sodium salt

여러 종류의 기름 지방산 조성을 컴퓨터에 입력하여 P/M/S 비율(1.0 : 1.5 : 1), ω6/ω3 비율(6.3), AA(총지방산의 0.6%) 그리고 AA/DHA 비율(1.4)을 조절하였다. 따라서, 혼합유군(MO)은 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 : 2 혼합한 것이다(Table 2). 비타민 E의 수준은 모든 군에 50mg α-tocopherol acetate/kg diet을 기본적으로 첨가하였고, 비타민 E를 보충한 군(ME)에는 500mg α-tocopherol acetate/kg diet을 더 보충하였다. Vitamin mixture와 mineral mixture는 AIN-76(Japan)을 사용하였다.

Table 2. Fatty acid composition of dietary oils[1]

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 : 2ω6	77.65	24.06
18 : 3ω3	ND[2]	2.58
20 : 0	ND	Tr[3]
20 : 3	ND	ND
20 : 4ω6	0.18	0.6
20 : 5	ND	0.7
22 : 1	ND	Tr
22 : 5ω6	ND	0.1
22 : 6ω3	ND	0.5
Total ω6[4]	78. 0	24.66
Total ω3[5]	-	3.9
Total ω6/ω3		6.3
P[6]	78.0	28.1
M	9.1	40.0
S	11.4	28.0
P/M/S	6.9/0.8/1	1.1/1.4/1

1. Values are expressed as relative % of total fatty acids
2. ND: Not detected
3. Tr: Trace amount
4. Total ω6 = 18 : 2 + 20 : 3 + 20 : 4
5. Total ω3 = 18 : 3 + 20 : 5 + 22 : 5 + 22 : 6
6. P: Polyunsaturated fatty acids, M: Monounsaturated fatty acids, S: Saturated fatty acids

2) 실험동물의 체중과 뇌의 무게 측정 및 부위별 분획

각 어미에서 출생한 새끼쥐들은 9주의 실험기간 동안에 출생 후 2일째와 그후 일주일 간격으로 같은 시각에 체중을 측정하였다. 출생 후 3주와 9주째에 각각 희생시켜(마취없이 단두)뇌를 적출한 뒤 0.9% NaCl 용액에 씻어내어 물기를 닦아내고 wet weight를 측정하였다.

적출한 뇌로부터 기본적인 행동과 동작에 관여하는 전두피질(frontal cortex: FC)과 선조체(corpus striatum: CS), 체운동기능(somatic motor function)에 관여하는 소뇌(cerebellum: CB), 그리고 기억과 학습의 중추인 해마(hippocampus: HP)를 얼음 위에서 부위별로 해부한 후[21] -70℃에 보관하여 분석에 사용하였다.

3) 뇌조직의 항산화 비타민 농도 분석[22,23]

뇌조직 균질액(40%) 0.5ml에 internal standard인 tocol 용액을 150μl 넣고, absolute ethanol 2.5ml을 가하여 잘 섞은 후, 70℃ water bath에서 2분간 가열하였다. 이 혼합액에 25% Na-ascorbate 0.5ml과 5% NaOH 1ml를 가한 후 70℃ water bath에서 30분간 가열하였다. 가열이 끝나면 식힌 후에 증류수 0.5ml과 hexane 5ml을 가하고 2분간 세게 vortex한 후, 1,940×g에서 30분간 원심분리하여 상층액(hexane층)을 모아서 vacuum evaporator를 이용해 40℃에서 건조시켰다. 비타민 추출액을 HPLC(high performance liquid chromatography)grade ethanol 100μl를 가하여 잘 섞은 후 그 중 50μl를 취하여 HPLC system에 주입하여 분석하였다. 이 모든 실험 과정은 자외

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 3.9×15cm column(Waters, Milford, MA)
• Mobile phase	: Solvent A(CH_3CN : THF : d-H2O = 50 : 30 : 20, v/v/v)
	: Solvent B(CH_3CN : THF : d-H2O = 50 : 44 : 6, v/v/v)
• Flow rate	: 1.2ml/min.
• *Gradient procedure*	: *100% solvent A for 1 minute → a 10 minute linear gradient to solvent B → a 6 minute hold at 100% solvent B → a 4 minute linear gradient back to 100% solvent A → a 2 minute equilibrium at 100% solvent A*
• Wavelength	: 290nm, 340nm, 450nm
• Peak identification & quantification: Millennium analysis system	

선이 차단된 환경에서 실행하였다.

HPLC system은 reverse phase system으로 기기 조건은 Table 3과 같다. Waters 996 photodiode array detector의 파장을 carotenoid 분석을 위해서는 450nm, retenoids 분석을 위해서는 340nm, 그리고 비타민 E 분석을 위해서는 474 fluorecence detector와 함께 290nm에 맞추어 동시에 분석하였다. 모든 정량 및 정성 분석은 Millennium analysis system을 이용하였다.

4) 통계처리

모든 자료의 통계분석은 SAS(Statistical Analysis System, Version 6.12) 프로그램을 이용하였고, 측정치는 평균과 표준오차로 표시하였다. 실험군간의 차이에 대한 검증은 1요인 분산분석(oneway analysis of variance) 이용하였고, $p < 0.05$ 수준에서 Least Significant Difference Test로 유의성을 검증하였으며 기간에 따른 차이는 paired t-test를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 실험동물의 체중 및 뇌무게 변화

체중 변화를 측정하여 본 결과, 모든 실험동물이 출생 후 9주까지 정상적으로 체중이 증가하여 3주보다 9주에서 높은 체중을 보였으나($p < 0.05$), 실험군간에 차이는 나타나지 않았다. 체중은 일반적으로 실험동물의 신체적 발달 정도를 나타내는데, 관련 연구들을 살펴보면 서로 다른 식이지방을 섭취시킨 후 체중을 측정한 Kim[24]과 Chung[25]등의 실험에서 실험군간에 체중의 변화에는 차이가 없었다. 한편, McCuaig와 Motzok[26]는 10,000I.U. 비타민 E/kg diet 섭취시 흰쥐의 성장률에 미치는 영향이 없다고 하였고, 과량의 비타민 E로 인한 변화에 항상성 기전이 적응할 수 없을 경우에는 대사과정에 이차적인 간섭이 일어남으로써 성장에 영향을 줄 수 있다고 하였다. March[27]등도 역시 성장율은 비타민 E 보충 식이에 비교적 민감하지 않다고 하였고, 일반적으로 과량의 비타민 E 보다는 비타민 E가 결핍될 경우 성장율에 보다 많은 영향을 준다고 보고한 바 있다.

뇌무게를 측정한 결과에서도 실험군간에 유의적 차이는 없었으나, 출생 후 3주까지 뇌무게가 급격히 증가하다가 그 후 9주에 이르기까지 완만하게 증가하였고 3주보다 9주에서 비교적 높게 나타냈다($p < 0.05$). 이 결과는, 쥐의 경우 출생 후 4~10일 사이에 뇌무게가 빠르게 증가하고, 그 후 21일까지 완만한 증가를 보이다가 그 후에는 일정하게 유지되었다는 Karlsson등[28]의 실험결과와 밀접한 관련이 있음을 확인할 수 있었다(Table 4).

2. 뇌조직의 항산화 비타민 농도의 변화

전반적으로 뇌조직의 모든 부위에서 측정된 모든 항산화 비타민의 농도가 생후 3주보다 생후 9주에 감소됨을 보여주어(Fig. 1), 쥐의 뇌발달이 활발한 수유기에 있어서 항산화 비타민의 농도가 상대적으로 높음을 알 수 있었다. 한편, Um등[29]의 지방산 조성이 다른 식이를 어미쥐에게 공급하고, 이로부터 출생한 새끼쥐에게 출생 1주부터 어미를 교체하여 지방산 조성이 다른 모유를 수유시킨 결과, 새끼쥐 뇌조직 인지질에서 다불포화지방산과 포화지방산이 생후 1주와 3주보다 생후 9주에서 감소하였고, 그로 인해 P/M/S 지방산 비율이 생후 9주에 이르면 한 점에 집중되는 양상을 나타냈다.

뇌조직 부위별 항산화 비타민의 농도 변화를 살펴보면, 일반적으로 생후 3주와 9주 모두에서 해마(HP)의 항산화 비타민 농도가 다른 뇌조직 부위보다 높게 나타났다(Table 5).

뇌조직 부위별 항산화 체계를 종합해 보면, 항산화 효소(GSH-Px, SOD)의 활성은 전두피질에서 가장 농도가 높고 해마에서 가장 농도가 낮은 반면,[30] 항산화 비타민에 있어서는 반대의 경향을 보임으로써 일부 항산화계 인자의 감소는 다른 인자의 증가에 의해 보상되어진다는 Matsuo[31]의 연구결과와 유사하였다. Hussain등[32]은 해마(HP)가 다른 부위보다 노화 과정 중에 산화적 손상을 받기 쉽다고 보고한 바 있다. 이와 연관하여, 다른 부위보다 산화적 손상이 쉬운 해마에서 항산화 비타민의 농도가 높았던 이번 결과는 주목할 만한 사항이다. 기억과 학습능력 및 행동발달에 관여하는 해마(HP)[33]의 항산화 영양소 역할에 대하여 집중적인 연구가 요구된다.

Table 4. Body and whole brain weights of 3 & 9 week old rats (Unit : g)

Groups	Body weights		Whole brain weights	
	3rd week	9th week	3rd week	9th week
SO	41.9 ± 1.05	245.2 ± 15.8*	1.44 ± 0.02	1.78 ± 0.15*
MO	46.8 ± 1.54	252.4 ± 15.4*	1.45 ± 0.05	1.82 ± 0.42*
ME	47.9 ± 2.80	252.5 ± 22.1*	1.46 ± 0.02	1.80 ± 0.21*

Values are mean ± SEM of 6 rats.
*: $p < 0.05$ compared with 3rd week.
SO: Safflower oil, MO: Mixed oil, ME: MO + vitamin E

비타민 E 보충에 의해, 생후 3주의 전두피질(FC)을 제외한 다른 부위에서는 비타민 E와 길항 작용(antagonistic effect)이 있는 것으로 알려진 retinol과 beta-carotene의 농도가 낮게 나타났으며 이 효과는 해마(HP)에서 더욱 확실하였다. 이는 비타민 E를 첨가할 경우에 beta-carotene의 흡수를 저해하거나 beta-carotene에 앞서 비타민 E가 일차

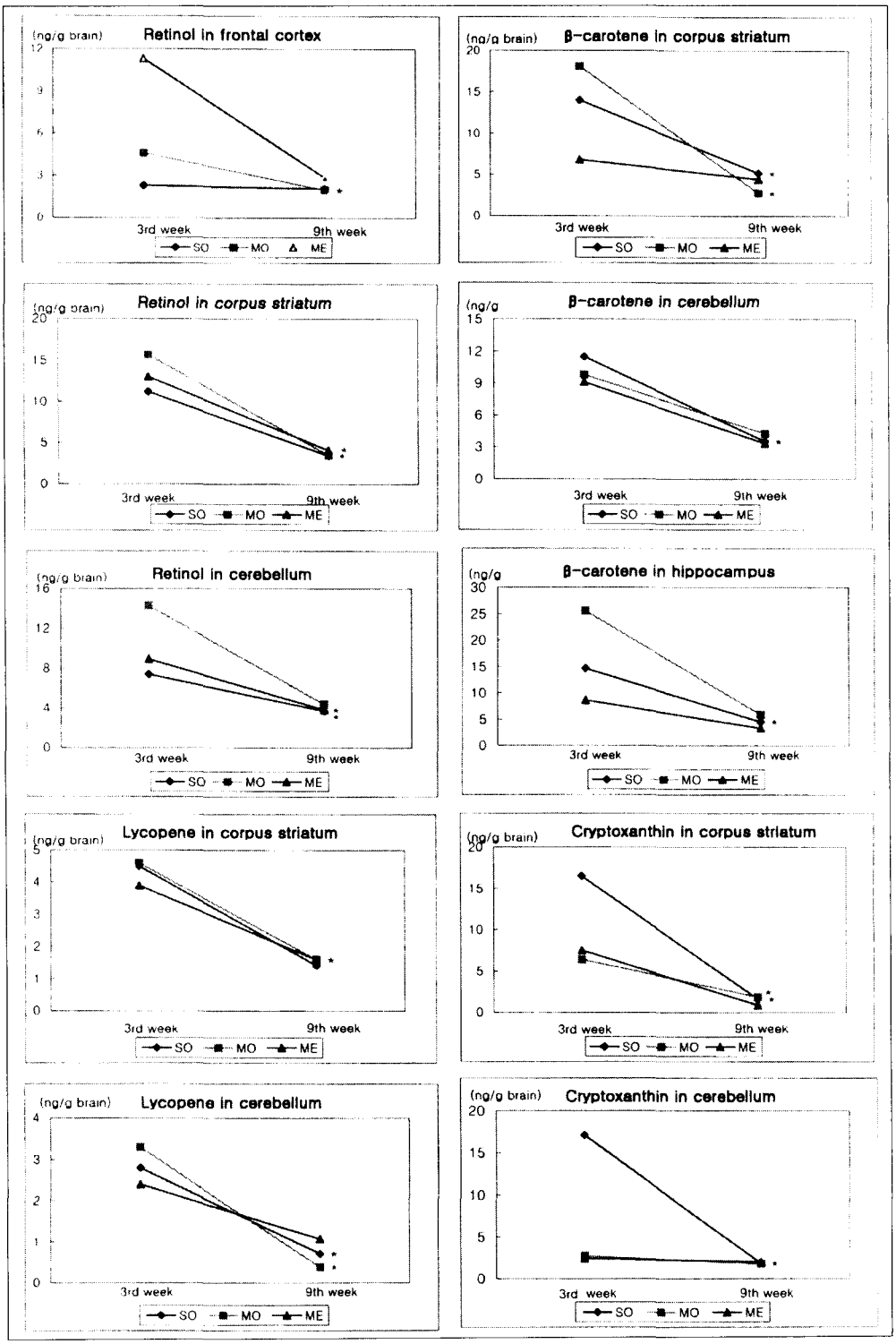

Fig. 1. Comparison of antioxidant vitamin concentrations in rat brain sections by experimental duration.
SO: Safflower oil, MO: Mixed oil, ME: MO + vitamin E, *: $p < 0.05$ compared with 3 week.

Table 5. Antioxidant vitamin concentrations in rat brain sections at the age of 3 & 9 weeks

Antioxidant vitamins		3rd week				9th week			
		Brain sections				Brain sections			
		FC	CS	CB	HP	FC	CS	CB	HP
Vitamin E (μg/g brain)	SO	15.9 ± 2.89^{b}	69.1 ± 6.01^{a}	32.7 ± 10.8^{b}	56.7 ± 12.0^{aB}	16.0 ± 2.83^{b}	34.5 ± 7.61^{ab}	19.9 ± 3.73^{b}	39.7 ± 5.38^{a}
	MO	21.6 ± 2.91^{b}	50.1 ± 7.98^{b}	40.3 ± 6.48^{b}	96.3 ± 10.7^{aA}	17.0 ± 1.11^{b}	32.5 ± 1.67^{b}	24.3 ± 2.75^{b}	43.5 ± 3.16^{a}
	ME	33.4 ± 8.09^{b}	67.6 ± 9.47^{b}	49.9 ± 9.07^{b}	87.2 ± 21.3^{aA}	21.9 ± 5.78^{b}	37.3 ± 9.94^{ab}	22.9 ± 3.33^{b}	52.7 ± 5.95^{a}
Retinol (ng/g brain)	SO	2.34 ± 0.37^{b}	11.2 ± 1.57^{b}	7.38 ± 1.15^{bB}	22.7 ± 3.87^{a}	2.07 ± 0.45^{b}	3.41 ± 0.59^{b}	3.72 ± 0.63^{b}	12.5 ± 3.43^{a}
	MO	4.60 ± 0.67^{b}	15.6 ± 1.90^{b}	14.3 ± 1.24^{bA}	40.6 ± 14.2^{a}	1.99 ± 0.27^{b}	3.48 ± 0.85^{b}	4.39 ± 1.32^{b}	15.6 ± 1.16^{a}
	ME	11.3 ± 5.47	13.0 ± 2.54	8.88 ± 2.56^{B}	22.4 ± 5.02	2.84 ± 1.07^{b}	4.08 ± 1.08^{b}	3.84 ± 1.00^{b}	12.1 ± 1.25^{a}
Beta-carotene (ng/g brain)	SO	2.07 ± 1.34^{bB}	14.0 ± 1.71^{a}	11.5 ± 2.13^{a}	14.6 ± 2.17^{aA}	1.92 ± 0.85^{b}	3.54 ± 0.90^{ab}	4.48 ± 0.53^{a}	5.18 ± 0.99^{aA}
	MO	2.08 ± 0.47^{bB}	18.1 ± 5.69^{b}	9.77 ± 4.07^{b}	25.6 ± 6.97^{aA}	1.93 ± 0.31^{b}	2.77 ± 1.15^{b}	4.27 ± 1.07^{ab}	5.89 ± 1.05^{aA}
	ME	6.87 ± 3.43^{A}	7.13 ± 3.66	9.08 ± 4.17	8.63 ± 1.52^{B}	0.87 ± 0.23^{b}	3.32 ± 0.75^{a}	3.28 ± 1.02^{a}	4.42 ± 0.87^{aB}
Lycopene (ng/g brain)	SO	1.08 ± 0.19^{b}	4.50 ± 0.82^{a}	2.75 ± 0.40^{b}	5.15 ± 0.53^{a}	0.59 ± 0.25	1.41 ± 0.12	0.71 ± 0.22	3.76 ± 0.13
	MO	1.71 ± 0.37^{b}	4.60 ± 0.84^{b}	3.34 ± 0.24^{b}	7.82 ± 2.02^{a}	0.64 ± 0.31	1.60 ± 0.18	0.38 ± 0.07	4.34 ± 0.11
	ME	2.75 ± 1.41	3.93 ± 0.79	2.40 ± 0.09	7.82 ± 1.34	1.05 ± 0.59	1.41 ± 0.12	1.07 ± 0.26	3.83 ± 0.74
Cryptoxanthin (ng/g brain)	SO	3.48 ± 0.87	16.4 ± 5.83	11.5 ± 5.23^{A}	26.7 ± 7.29	1.80 ± 0.32^{b}	1.60 ± 0.72^{b}	1.82 ± 0.17^{b}	4.13 ± 2.14^{a}
	MO	1.76 ± 0.31^{b}	6.35 ± 0.96^{b}	2.68 ± 0.73^{cB}	18.6 ± 1.84^{a}	1.09 ± 0.41^{b}	1.85 ± 0.62^{b}	1.76 ± 0.44^{b}	5.56 ± 0.45^{a}
	ME	1.58 ± 0.27^{b}	7.54 ± 1.52^{b}	2.40 ± 0.79^{bB}	16.9 ± 3.82^{a}	1.27 ± 0.44^{b}	0.86 ± 0.29^{b}	2.01 ± 0.79^{b}	5.10 ± 0.26^{a}

Values are mean ± SEM of 6 rats
Values of different letters(a, b, c) are significantly different from the others at $p < 0.05$ within the same group
Values of different letters(A, B, C) are significantly different from the others at $p < 0.05$ within the same brain section
FC: Frontal cortex, CS: Corpus striatum, CB: Cerebellum, HP: Hippocampus
SO: Safflower oil, MO: Mixed oil, ME: MO + vitamin E

적으로 항산화 역할을 수행하는 것으로 추측된다. Um등의 연구[34]에서는 비타민 E를 보충한 경우 간조직의 비타민 A 농도가 감소한 결과를 보고하였는데, 이는 beta-carotene이 retinol로 전환될 때 비타민 E가 beta-carotene dioxygenase로의 접근을 방해하기 때문인 것으로 추측하였다. 한편, SO의 retinol 농도가 MO군보다 낮게 나타난 것은 SO군의 높은 불포화도 때문으로 생각된다.

생후 9주의 소뇌(CB)를 제외하고 생후 3주와 9주 모두에서 비타민 E를 보충한 ME군에서의 농도가 증가하는 경향을 보였으나 유의적 차이는 보이지 않는 것으로 미루어, 뇌조직의 비타민 E 농도는 식이 비타민 E 보충에 큰 영향을 받지 않는 비교적 안정한 상태로 존재함을 알 수 있었다.

뇌조직에서 Blood-Brain-Barrier(BBB)를 통한 비타민 E의 이동기전은 아직까지 정확하게 밝혀진 사실은 없지만, 비타민 E가 매우 부족한 경우에만 결핍증상이 나타나는 것으로 미루어 다른 조직에 비해 turn over가 느린 것으로 보인다. 한편, 뇌조직에는 비타민 E가 다른 조직에 비해 적게 함유되어 있음에도 불구하고 오히려 효과적으로 항산화 작용을 수행할 수 있는 이유는, 소수성인 alpha-tocopherol side chain의 $-CH_3$기가 세포막의 구조 단백질과 밀접한 상호 작용을 하게 되어 결과적으로 세포로부터 비타민 E가 쉽게 빠져나가지 못하기 때문인 것으로 지적되었다.[35]

생후 3주 뇌조직의 항산화 비타민 E와 retinol 농도는, 식이 지방산의 균형을 고려한 MO군과 ME군에서 식이 중 불포화도가 높은 SO에 비해 전반적으로 높은 농도를 나타낸 반면, cryptoxanthin의 농도는 오히려 식이 지방산의 균형을 고려하지 않은 SO군에서 MO군과 ME군보다 더 높은 양상을 보인 점이 특이하였다. 이는 녹내장과 백내장 등 노화와 관련된 안구질환에서도 같은 경향을 보이므로 이에 대한 규명연구가 요구된다.[36]

전반적으로 뇌조직의 항산화 비타민 농도는, 어미의 식이 지방산 종류에 따른 변화보다는 비타민 E의 보충과 뇌부위별에 따른 변화가 더 큰 것으로 나타났으며, 이는 항산화 효소인 SOD와 GSH-Px의 활성에서 나타난 결과와도 유사하였다.[30]

요약 및 결론

1) 모든 실험군에 있어서 뇌무게 변화의 전반적인 경향은, 실험군간에 유의적 차이가 없었으며 출생 후 3주까지 뇌무게가 급격한 증가를 보였다. 그후 9주에 이르기까지 완만하게 증가하였으나 3주에 비해 9주에서 유의적으로 높은

값을 나타냈다($p < 0.05$).

2) 어미 식이 지방산의 종류가 뇌조직 항산화 비타민의 농도에 미치는 영향은, 뇌부위별 및 식이 비타민 E의 보충으로 인한 효과보다 작은 것으로 나타났다.

3) 본 연구에서 측정한 뇌조직 모든 부위의 항산화 비타민 농도는, 생후 3주보다 생후 9주에 전반적으로 감소됨을 보여주어, 쥐의 뇌발달이 활발한 수유기에 있어서 항산화 비타민의 농도가 상대적으로 높음을 알 수 있었다.

4) 일반적으로 생후 3주와 9주 모두에서 해마(HP)의 항산화 비타민 농도가 다른 뇌조직 부위보다 높게 나타났으며, cryptoxanthin을 제외하고는 MO군에서 가장 높은 농도를 보였다.

5) 비타민 E 보충에 의해, 생후 3주에서 전두피질(FC)을 제외한 다른 부위에서 비타민 E와 길항 작용이 있는 것으로 알려진 retinol과 beta-carotene의 농도가 낮게 나타났으며 이 효과는 해마(HP)에서 더욱 확실하였다. 또한, 생후 9주의 소뇌(CB)를 제외하고 생후 3주와 9주 모두에서 비타민 E를 보충한 ME군에서의 농도가 증가하는 경향을 보였으나 유의적 차이는 없는 것으로 미루어, 뇌조직의 비타민 E 농도는 식이 변화에 큰 영향을 받지 않는 비교적 안정한 상태로 존재함을 알 수 있었다.

6) 생후 3주 뇌조직의 비타민 E와 retinol 농도는, 식이 지방산의 균형을 조절한 MO군과 ME군에서 SO군보다 전반적으로 높은 농도를 보이나, cryptoxanthin 농도의 경우, 오히려 역관계로 나타나 후속연구가 요구된다.

6) 그 밖의 carotenoid(zeaxanthin, lutein, α-carotene)는 HPLC system으로 감지할 수 없을 만큼 미량으로 나타났다.

식이 지방산과 비타민 E 첨가 식이는 뇌 부위별 항산화 비타민 농도에 서로 다른 영향을 미치는 것으로 나타났다. 특히, 해마(HP)에서 항산화 비타민들의 농도가 다른 부위들보다 전반적으로 높게 나타난 결과는, 해마(HP)와 관련되는 것으로 알려진 기억과 학습능력 및 행동발달과의 관계성과 항산화계와의 상호관계에 대한 연구의 필요성을 지적해 준다.

■ 감사의 글

본 연구를 위해 canola oil, safflower oil, menhaden oil을 각각 공급해 주신 (주)농심과 (주)제일제당 그리고 Zaphata(USA) Co.에 감사드립니다. 또한 항산화 비타민 standard를 제공해 주신 F. Hoffmann La Roche Co.에도 깊이 감사드립니다.

Literature cited

1) Dobbing J, Sands J. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early hum Dev* 3: 79-83, 1979
2) Patel TB, Clark JB, Comparison of the fatty acid content and composition of the brain of a precocial species(guinea pig) and a non-precocial species(rat). *J Neurochem* 35: 149-154, 1980
3) Calson SE, Werkman SH, Rhodes PG, Tolley EA. Visual acuity development in healthy preterm infants-effects of marine oil supplementation. *Am J Clin Nutr* 58: 35-42, 1993
4) Enslen M, Milon H, Malnoe A. Effects of low intake of(n-3) fatty acids during development on brain phospholipid fatty acid composition and exploratory behavior in rats. *Lipids* 26: 203-208, 1991
5) Um YS, Chung EJ, Lee-Kim YC. Effects of ω3 and ω6 fatty acids on the fatty acid composition of RBC and brain synaptosomal, microsomal and mitochondrial phospholipids and on behavioral development of rats. *Korean J Nutrition* 29(8): 849-860, 1996
6) Crowford MA, The role of essential fatty acids in neural development: implication for perinatal nutrition. *Am J Clin Nutr* 57(5): 703-710s, 1993
7) Wainwrigt P. Alpha-linolenic acid, long chanin omega-3 fatty acids and neonatal brain development. 3rd Toronto work on essential fatty acids, 1991
8) Wisemen H. Dietary influences on membrane function: Importance in protection against oxidative damage and disease. *J Nutr Biochem* 7: 2-15, 1996
9) Kok F, Van Poppel G, Melse J Verheul E, Schouten EG, Hofman A. Do antioxidant and polyunsaturated fatty acids have a combined association with coronary atherosclerosis? *Athero* 31: 81-90, 1990
10) Packer L. Vitamin E: biological activity and health benefits: overview in vitamin E in health and disease. Ed by Packer L and Fuchs J, Dekker M, Newyork. USA, 1993
11) Chung EJ, Park YH, Lee-Kim YC. Effects of dietary fatty acids and vitamin E supplementation on vitamin E levels of serum, liver and brain in chicks at different ages. *Korean J Nutrition* 22(3): 209-217, 1989
12) Park YH, Kim MK, Chung EJ, Lee-Kim YC. Studies on concentration of alpha-tocopherol in rat tissue and serum-Ⅰ. Saponification on concentration of alpha-tocopherol in rat brain, liver and serum. *Korean J Nutrition* 23(2): 108-114, 1990
13) Bieri JG, Everts RR. Tocopherols and polyunsaturated fatty acids in human tissues. *Am J Clin Nutr* 29: 717-720, 1975
14) Menks MS, Comstock GW, Vuileumier JP, Helsing KJ, Rider AA. Serum beta-carotene, vitamin A and E, selenium and the risk of lung cancer. *N Engl J Med* 315: 1250-1254, 1986
15) Freudenheim JL, Marshall JR, Vena JE, Laughlin R, Brasure JR, Swanson MK, Nemoto T, Graham S. Premenopausal breast cancer risk and intake of vegetable, fruits and related nutrients. *J Natl Cancer Inst* 88(6): 340-348, 1996
16) Romney Sl, Palan PR, Basu J, Mikhail M. Nutrient antioxidants in the pathogenesis and prevention of cervical dysplasia and cancer. *J Cell Biochem* 23(s): 96-103, 1995
17) Wald G. Molecular basis of visual excitation. *Sci* 162: 230-239, 1968
18) Sporn MB, Robert AB. Role of retinoids in differentiation and carcinogenesis. *Cancer Res* 43: 3034-3040, 1983
19) Brand N, Petkovich M, Krust A, Chambon P, de The, H Marchio A, Tiollais P, Dejean A. Identification of a second human retinoic acid receptor. *Nature* 332: 850-853, 1988
20) Pektovich M, Brand NJ, Krust A and Chambon P. A human retinoic

acid receptor which belongs to the family of nuclear receptors. *Nature* 330: 444-450, 1987
21) http://128.134.207.22/neuro-web/home.htm
22) Hansen LG, Warwick WJ. A fluoroemetric micro-method for fat tocopherol. *Clin Biochem* 3: 225-229, 1970
23) Zindenberg-Cheer S, keen Cl and Hurley LS. Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in the rat: developmental correlations affected by manganese deficiency. *J Nutr* 113: 1498-1504, 1983
24) Lee-Kim YC, Kim MK. A long term effect of dietary ω3 series long chain fatty acids on behavioral development. *Yonsei J Human Ecology* 9: 19-27, 1995
25) Chung EJ, Lee KE, Bahang HR, Kim KH, Kim JS, Lee-Kim YC. Effect of dietary ω3/ω6 fatty acids on the rat brain neurotransmitters. *J Kor Neuro Assoc* 11(4): 952-963, 1993
26) McCuaig LW, Motzok I. Excessive dietary vitamin E: It's alleviations of hypervitaminosis A and lack of toxicity. *Poultry Sci* 49: 1050-1052, 1970
27) March BE, Biely J, Coates V. Reticulocytosis in reponse to dietary antioxidants. *Sci* 104: 1398, 1969
28) Karlsson I, Svennerholm I. Biochemical development of rat forebrain in severe protein and essential fatty acid deficiency. *J Neurochem* 31: 657-662, 1978
29) Um YS, Chung EJ, Lee-Kim YC. Effects of dietary fatty acids on fatty acid pattern in developing rat brain phospholipids. *Korean J Nutrition* 31(5): 897-905, 1998
30) Hwang HJ, Um YS, Chung EJ, Kim SY, Lee-Kim YC. Effects of dietary fatty acid and vitamin E supplementation on antioxidant system of the second generation rat brain sections. *Korean J Nutrition* 34(1): 12-22, 2001
31) Matsuo M. Age-related alterations in antioxidative defense. In Free Radicals in Aging, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp.143-181, 1993
32) Hussain S, Slikker JRW, Ali SF. Age related changes in antioxidant enzymes, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione in different regions of mouse brain. *Int J Devl Neurosci* 13(8): 811-817, 1995
33) Zola SM, Squire LR, Teng E. Impaired recognition memory in monkeys after damage limited to the hippocampal region. *J Neurosci* 20(1): 451-463, 2000
34) Um YS, Lee-Kim YC. Effects of supplementation of vitamin E and substitution of beta-carotene for retinyl palmitate in the diet on serum and tissue levels of vitamin E and A in rats. *Yonsei J Euthenics* 1: 45-53, 1987
35) Tinberg HM, barber AA. Sudies on vitamin E action: peroxidation inhibition in structural protein-lipid micelle complex derived from rat liver microsomal membranes. *J Nutr* 100: 413-418, 1970
36) Chung HY. Studies on the status of glutamate and antioxidant system in patients with retinal ganglion cell damage. Doctoral thesis, Yonsei Univ, 2001