

Tocopherol 첨가가 고 불포화지방 식이를 먹인 토끼의 HDL Subfraction과 Lipoprotein Pattern에 미치는 영향

박 범 순 · 박 현 서

경희대학교 문리과대학 식품영양학과

Effect of Tocopherol Supplementation on HDL Subfraction and Lipoprotein Pattern in Rabbits Fed High Polyunsaturated Fatty Acids

Park, Bum-Soon and Park, Hyun-Suh

Dept. of Foods & Nutrition, Kyung Hee University

= ABSTRACT =

This study was designed to evaluate the effects of tocopherol supplementation on serum HDL₂ and HDL₃ subfraction and lipoprotein pattern of young rabbits fed the different levels of dietary polyunsaturated fatty acids.

White male rabbits with an average body weight of 90kg were assigned into 4 groups: LP (Low PUFA); HP (High PUFA); LPT (Tocopherol added to LP); HPT (Tocopherol added to HP) by feeding safflower oil or coconut oil at 10% (w/w) in addition to their diet with or without tocopherol for 4 weeks. HDL-Chol and HDL subfractions were determined by polyanionic precipitation method, and the relative amount of lipoprotein by electrophoresis.

Serum total cholesterol and TG were slightly lowered in the group of high PUFA diet and its effect was more in the case of tocopherol supplemented. HDL-Chol level was reduced in the high PUFA diet with or without tocopherol, but overall, HDL-Chol level was not influenced by tocopherol addition and also no significant change in lipoprotein pattern when tocopherol added to the HP diet.

HDL₂ level was increased in HPT group but not in LPT group when tocopherol was added to each HP and LP group, respectively. HDL₃ levels of both LP and HP groups were reduced with tocopherol supplement, but the reduction was less in the high PUFA groups so that HDL₂:HDL₃ ratio of HP was rather close to that of LP, but it was increased when tocopherol supplemented to the HP diet. Therefore, high PUFA diet could improve the anti-atherogenic factor when tocopherol supplemented.

서 론

최근 atherosclerosis와 coronary heart disease(CHD)의 발생과 진전에 대한 연구중 혈청이나 조직의 cholesterol, triglyceride(TG), lipoprotein 등의 지질대사에 관해 많은 연구가 이루어지고 있다¹⁾²⁾. Hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia 및 hyperlipoproteinemia 등의 지질대사의 비정상화는 CHD의 발생 위험인자로서 매우 중요하다는 것이 지적되었으며, 이는 식이 지방의 양이나 질을 조절함으로써 어느정도 예방의 가능성도 있다고 했다³⁾⁴⁾⁵⁾.

High polyunsaturated fatty acid(PUFA) 식이나 지질의 P/S ratio가 높은 식이를 먹었을 때 plasma cholesterol 양이나 HDL-cholesterol 양에 미치는 영향에 대해서는 많은 보고⁶⁾⁷⁾⁸⁾가 있을 뿐만 아니라 본 연구진에 의해서도 쥐에서 식이지방의 양이나 질을 변화시켜 plasma의 cholesterol과 HDL-cholesterol 양에 미치는 영향에 대해서는 관찰된 바 있었다. 또한 Shepherd 등의 보고에 의하면 다량의 PUFA를 투여했을 때 HDL-cholesterol은 현저히 감소했고 apo A-I 합성속도가 감소되어 HDL₂:HDL₃ ratio가 감소했다⁹⁾¹⁰⁾. 그러나 아직도 식이의 PUFA가 HDL-cholesterol 수준에 미치는 영향에 대해서는 일치되는 결과는 없었으며, 또한 tocopherol 첨가에 따라서 PUFA가 혈청 지질조성에 미치는 영향에는 어떤 변화가 오는지 보고된 바 없으므로 본 연구에서는 토끼를 대상으로 식이의 PUFA 함량을 변화시키면서 tocopherol을 투여했을 때 혈청의 HDL fraction과 subfraction, 또 그 이외의 지질 및 lipoprotein pattern에 어떠한 영향을 주는지 알고저 시도했다.

실험재료 및 방법

1) 실험동물

체중이 약 0.9kg 되는 수컷의 뉴질랜드 흰토끼 26마리를 퓨리나 중중아지 사료로 4일간 적응시킨 후 체중에 따라 난괴법으로 4군으로 나누어 각 실험식으로 4주간 ad libitum으로 사육하였다. 체중은 3일에 한번씩, 식이섭취량은 매일 같은 시간에 측정했다.

2) 실험식이

퓨리나 중중아지 사료에 oil을 10%(w/w) 수준으로, safflower oil(S.O)과 coconut oil(C.O)을 사용하여 Table 1과 같이 첨가했다. 이때 불포화지방산의 급원인

SO의 함량이 높은 군을 High PUFA(HP) 군이라 하고, 포화지방산의 급원인 CO의 함량이 높은 군을 Low PUFA(LP) 군이라 하였다. 또한 tocopherol을 첨가하여 먹인 군을 각각 HPT 또는 LPT 군이라 하였다. 식이의 PUFA 함량과 P/S ratio는, HP 군의 경우, 각각 약 17% Calorie 와 8.4였고 LP의 경우, 약 2% Calorie 와 0.12였다.

3) 분석방법

(1) 혈액은 실험기간 4주가 끝나는 날 14hr-fasting 후에 토끼의 심장에서 직접 채혈되었으며, serum은 즉시 분리되어 그중 일정량은 serum TG¹¹⁾와 serum cholesterol 분석을 위해 -50℃에 보관되었고, 그 나머지는 당일에, high density lipoprotein(HDL) fraction과 subfraction을 분리하였고 각 fraction의 cholesterol 함량을 측정하였으며 또한 electrophoresis하여 lipoprotein인 HDL, low density lipoprotein(LDL), very low density lipoprotein(VLDL) fraction의 각 상대적인 양을 측정하였다.

(2) HDL subfraction 분리 :

Simpson 등¹²⁾의 방법으로 HDL fraction과 subfraction인 HDL₂와 HDL₃을 분리했다. Serum 2ml당 Na-heparin(25.8g/L)과 MnCl₂(2.1mole/L)의 혼합액 100μl를 잘 섞어 30분간 4℃ ice water 내에서 incubation 한 다음, 원심분리(4℃, 1500×g, 30분간)하여 β-apolipoprotein을 제거하고 그 supernatant(HDL fraction)에 dextran sulfate(Sigma) 용액 100μl를 첨가한

Table 1. Composition of experimental diet (g/kg)

	LP	LPT	HP	HPT
Chow	900	900	900	900
Coconut Oil	92.4	92.4	-	-
Safflower Oil	7.6	7.6	100	100
Tocopherol acetate	-	1.8	-	1.8
PUFA(%Cal)	2.01	2.01	16.67	16.67
P/S Ratio	0.12	0.12	8.40	8.40

Abbreviations : PUFA : Polyunsaturated Fatty Acid
 LP : Low PUFA ; LPT : LP + tocopherol ; HP : High PUFA ; HPT : HP + tocopherol ; P/S Ratio : Polyunsaturated fatty acid/Saturated fatty acid.

후, 20°C에서 10분간 incubation 하고 다시 4°C에서 30분간 원심분리하여 (1500×g) HDL₃ subfraction (상등액)을 분리했다.

(3) Serum cholesterol은 효소시약 kit (일본국제시약)에 의하여 분석되었고, HDL fraction과 HDL₃ subfraction의 cholesterol은 효소시약에 Na₂-EDTA를 농도가 8.0mmole/l이 되도록 첨가한 후 측정되었다. 이때 HDL₂ subfraction의 cholesterol양은 total HDL-chol 양에서 HDL₃-chol 양을 제한 값이다.

(4) Lipoprotein의 electrophoresis :

Helena 제품의 electrophoresis set와 cellulose acetate plate를 사용하여 serum에서 lipoprotein fraction을 분리한 다음, 한 plate는 Oil Red Om으로 lipoprotein을 염색한 뒤 densitometer에서 각 fraction의 상대적인 양을 측정하였다. 또 다른 plate는 Helena 제품의 효소시약으로 cholesterol을 반응시켜 염색한 후에 각 fraction의 cholesterol 함량의 상대적인 양을 densitometer에서 측정하여 lipoprotein pattern을 다

시 한번 비교하였다.

(5) 실험식이 처리에 의한 자 군간의 차이에 대한 통계적인 유의성은 Student t-test에 의해 검증되었다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 PUFA의 함량이 총 Calorie 섭취의 약 2%이면서 그 지질의 P/S ratio가 0.12인 Low PUFA 군 (LP, LPT)과 총 Calorie 섭취의 약 17%이고 지질의 P/S ratio가 8.4인 High PUFA 군 (HP, HPT)으로 구성되었다. PUFA 함량에 의한 영향을 보기 위해서 LP 군과 HP 군, LPT 군과 HPT 군 간의 결과를 비교하였고 또한 tocopherol 첨가에 의한 영향을 보기 위해서는 LP 군과 LPT 군, HP 군과 HPT 군 간의 결과를 비교하였다.

1) Serum cholesterol :

자 군간의 큰 차이는 없었으나 LP 군의 serum cholesterol 양은 HP 군과 거의 비슷하였고 LPT 군 보다는 HPT 군에서 약간 감소되었다 (Table 2). 이와같은 결과는 식이내의 PUFA의 함량을 증가시켰을 때 plasma cholesterol을 감소시킬 수 있었다는 보고^{6,7)}과 상반되었다. 그러나 tocopherol 첨가군에서는 비록 유의성은 없었지만 HPT 군에서 serum cholesterol이 더 감소되었고 또한 low PUFA 군내 (LP vs LPT)에서도 tocopherol을 첨가해 줌으로써 cholesterol이 감소되긴 했지만 high PUFA 식이에 tocopherol을 첨가했을 경우에 더 영향이 있었다. 물론 이 결과는 통계적으로 유의성있는 큰 영향을 주지는 못했지만 high PUFA 식이의 경우 tocopherol을 첨가해 줌으로써 더욱 PUFA의 안정도를 높여 serum cholesterol을 효과적으로 감소시키는 데 도움이 된 것으로 사려된다¹³⁾.

Table 2. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids & tocopherol supplement on serum cholesterol & TG in rabbits

Groups	Chol (mg/dl)	TG (mg/dl)
LP (6)	94.5 ± 39.1	116.4 ± 43.6
HP (8)	93.2 ± 26.9	89.3 ± 58.4
LPT (6)	81.3 ± 14.3	95.5 ± 41.3
HPT (6)	72.0 ± 33.3	63.0 ± 30.3

Mean ± S.D.

(): Number of rabbits

Chol : Cholesterol ; TG : Tryglyceride.

Table 3. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids & tocopherol supplement on serum HDL fraction & subfraction by polyanionic precipitation in rabbits

Groups	HDL-Chol (mg/dl)	HDL ₂ -Chol (mg/dl)	HDL ₃ -Chol (mg/dl)	HDL ₂ /HDL ₃
LP (6)	51.6 ± 29.3	32.8 ± 30.4	18.8 ± 7.6	2.20 ± 1.63
HP (8)	36.7 ± 19.6	25.3 ± 16.0	12.4 ± 3.9	1.99 ± 0.88
LPT (6)	45.7 ± 20.7	31.9 ± 19.7	13.9 ± 6.7	2.56 ± 1.36
HPT (6)	42.7 ± 20.8	32.7 ± 18.7	10.2 ± 3.1	3.23 ± 1.59

Mean ± S.D.

(): Number of rabbits

2) Serum TG:

PUFA의 함량이 높았을 때에 serum TG는 더 낮았다. 즉 LP 군 보다는 HP 군이, LPT 군 보다는 HPT군에서 또한 LP 군 보다는 LPT 군에서, HP 군 보다는 HPT군에서 더 감소되었다 (Table 2). 이와같이 통계적인 유의성은 없었지만, 식이에 PUFA를 다량 첨가했을 때 plasma cholesterol 보다는 TG 양을 낮추는 데는 더 효과적이었으며, 또한 serum cholesterol의 경우와 마찬가지로 tocopherol을 첨가해줌으로서 serum TG가 더욱 감소되었다. 이 결과는 Kannel 등³의 보고와 일치했으며 serum cholesterol의 경우와 마찬가지로 tocopherol이 첨가되어 PUFA가 더욱 안정되어 Engelberg¹⁴의 보고에서 처럼 high PUFA 식이는 lipoprotein의 lipid의 불포화도를 높여 결국 lipoprotein의 용해도가 증가되어 substrate : enzyme의 접촉을 좋게 해주어 plasma TG의 제거가 더 용이한 것으로 해석되었다^{15,16}.

3) HDL fraction과 subfractions:

Heparin과 MnCl₂ 혼합액을 사용하여 분리한 HDL-cholesterol 양을 비교하면 (Table 3), LP 군에 비하여 HP 군에서 감소되었으며 LPT 군 보다는 폭은 더 낮았다. 또한 LP 군에 비해 HP 군에서 HDL₂와 HDL₃ subfraction 양은 둘다 감소되었고, HDL₂:HDL₃ ratio는 거의 비슷하였다.

식이중 PUFA 함량이 높을때 HDL-cholesterol 양에 미치는 영향에 대해서는 아직 일관성있는 data가 없지만 본 연구의 결과는 Chait 등¹⁶의 결과와 상반되었고, 오히려 Shepherd 등⁹의 경우와 같이 high PUFA 식이에 의해 HDL 입자의 화학적 구조가 변화되어 더욱 유동성이 있게 되어 혈중에서 더 빨리 제거되었을 가능성도 있으며, 또는

불포화도가 너무 높아 HDL 입자의 안정성에 문제가 있어 HP 군에서 더 낮은 수준이 아닌가 제안했다⁹. 또한 tocopherol 첨가전에는 HP 군에서 HDL-cholesterol이 감소되었을 뿐만 아니라 CHD의 예방에 더 유력한 인자로 알려진 HDL₂:HDL₃ ratio가 거의 같은 수준이었으므로 tocopherol이 첨가되지 않았을 경우에는 high PUFA 식이에 의한 CHD 예방 능력에 큰 효과는 기대할 수 없을 것으로 사려된다.

Sundaram 등¹⁷의 보고에 의하면, tocopherol 첨가에 의해 성인쥐의 경우 HDL₂와 HDL₃ subfraction이 모두 증가되었는데 비해 어린 쥐에서는 HDL₂가 증가되었고 HDL₃는 감소되어 더욱더 CHD의 예방능력을 증진 시키는데 효과적이었다.

본 연구에서는 tocopherol을 투여했을 경우 어린 쥐에서 처럼 HDL₃가 감소되지는 않았으나 최소한 거의 같은 수준을 유지했고, CHD와 더 밀접한 관계가 있는 HDL₂ subfraction과 HDL₂:HDL₃ ratio가 증가되었으므로 CHD 예방능력을 향상시키는데 더욱 효과적일 것이라고 생각된다. 또한 tocopherol의 첨가는, low PUFA 식이군에서 보다 high PUFA 식이군에서 HDL₂ subfraction을 효과적으로 상승시켰고, HDL₂:HDL₃ ratio도 high PUFA 식이군에서 tocopherol 첨가에 의해 더욱 상승되었다. 그러므로 high PUFA 식이에 tocopherol을 첨가해 준다면 PUFA를 더욱 보호하여, 그 PUFA에 의한 hypocholesterolemic effect를 갖게 해주고, CHD 예방인자를 더욱 증진시키는데 효과적일 것으로 사려된다. 그러나 본 실험의 결과는 통계적인 유의성있는 data는 아니었으므로 sample 수효에 제한없이, 또한 ultracentrifugation 등의 다른 방법으로도 HDL fraction과 subfraction 양을 재검할 필요가 있다고 본다.

Table 4. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids & tocopherol supplement on the relative amount of each lipoprotein cholesterol by electrophoresis

Groups	HDL-Chol (%)	LDL-Chol (%)	VLDL-Chol (%)
LP (6)	29.5±13.4	54.9±14.7	16.0±7.7
HP (8)	21.8±7.4	62.2±7.0	15.6±7.1
LPT (6)	27.1±9.0	62.6±5.5	10.3±5.1
HPT(6)	21.9±7.6	61.7±11.8	16.4±8.4

Mean ± S.D.
(): Number of rabbits.

Table 5. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids & tocopherol supplement on the relative amount of lipoprotein fraction by electrophoresis

Groups	HDL (%)	LDL (%)	VLDL (%)
LP (6)	27.8±5.3	53.1±14.1	19.1±16.4
HP (8)	24.1±4.9	59.5±6.5	16.4±5.1
LPT (6)	26.5±7.9	54.9±6.5	18.5±2.4
HPT(6)	22.9±4.1	53.4±14.4	23.7±11.7

Mean ± S.D.
(): Number of rabbits

4) Lipoprotein의 electrophoresis

Electrophoresis에 의한 lipoprotein pattern의 비교에서도 (Table 4) HDL fraction의 상대적인 양은 유의성은 없지만 polyanionic method에 의하여 분리된 결과 (Table 3)와 일치되었다. LP군에 비해 HP군에서, 또 LPT군에 비해 HPT군에서 각각 더 낮은 경향을 보였고, tocopherol 첨가에 관계없이 같은 수준의 PUFA 식이기리 합해 보면 (Fig. 1,2) low PUFA 식이군 (LP

+ LPT)에 비해 high PUFA 식이군 (HP+ HPT)에서 유의성있게 낮았다 (Fig. 2). 그러나 PUFA 수준에 관계없이 tocopherol첨가된 군끼리 합해보면, (LP+HP)군은 (LPT+HPT)군과 거의 같아 (Fig.2) tocopherol 첨가에 의한 영향을 관찰할 수 없었다. 또한 LDL fraction의 상대적인 양도 두가지 염색 방법에서 얻은 결과는 거의 비슷하였다. (LP+LPT)군에 비해 (HP+HPT)군에서 약간 증가되었으며 tocopherol 첨가후에는 두군

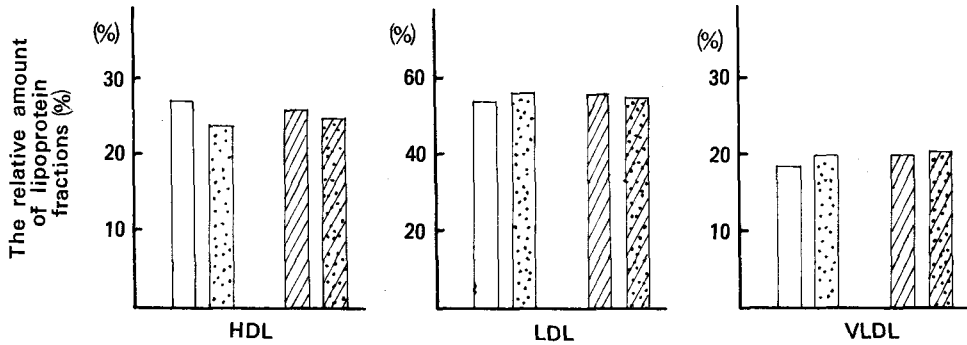


Fig. 1. Effect of dietary PUFA & tocopherol supplement on the relative amount of lipoprotein fraction by electrophoresis in rabbit.

The values were taken by either the summation of 2 groups of the same PUFA levels, or the summation of 2 groups of tocopherol supplemented or not.

□ : LP+LPT ▤ : HP+HPT ▨ : LP+HP ▩ : LPT+HPT

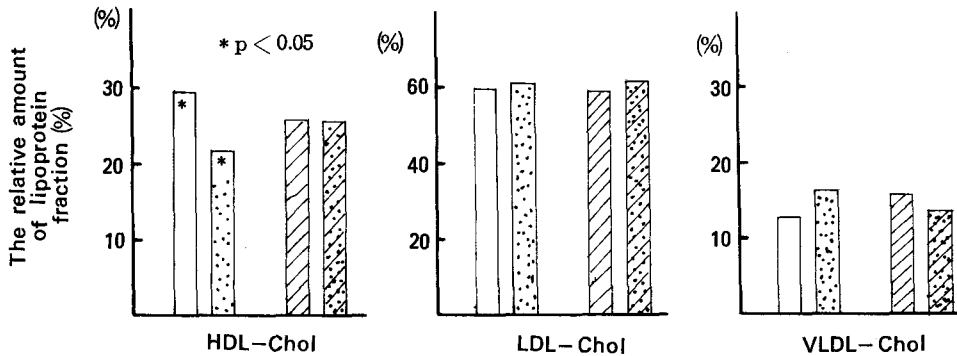


Fig. 2. Effect of dietary PUFA & tocopherol supplement on the relative amount of each lipoprotein-cholesterol by electrophoresis in rabbit

The values were taken by either the summation of 2 groups of the same PUFA levels, or the summation 2 groups of tocopherol supplemented or not.

□ : LP+LPT ▤ : HP+HPT ▨ : LP+HP ▩ : LPT+HPT

다 거의 같은 수준이었다 (Fig. 1). 이와같이 LDL fraction 은 식이내의 PUFA 함량이나 tocopherol 첨가에 의한 영향은 거의 없었다. 그러나 VLDL fraction 의 상대적인 양에는 두가지 염색법에 의한 결과는 일관성이 없었다. Table 4에서 VLDL-chol의 상대적 양은 tocopherol 투여전에는 PUFA 함량의 영향이 없었으나 (LP vs HP), 투여후에는 HPT 군이 LPT 군보다 더 높았으며 high PUFA 식이군 (HP vs HPT) 내에서는 tocopherol 첨가에 의한 영향을 관찰할 수 없었다. 그러나 Table 5의 VLDL fraction의 상대적 양은 HP 군에서 LP 군보다 더 낮았고 tocopherol 첨가후에는 그 반대의 결과이었다. 그러나 Fig. 1에서 총괄해보면 식이의 PUFA 함량에 의해 약간 증가된 경향이었으나 유의성이 없었으며 tocopherol에 의한 영향도 거의 없었다.

Schwandt 등¹⁹의 보고에 의하면 PUFA 식이에 의하여 LDL-chol 양이 감소되었다고 했으며¹⁰ Hermann 등²⁰에 의하면 tocopherol 첨가에 의해 serum TG와 VLDL-chol 양이 감소되었으나 본 실험에서는 serum TG와 VLDL-chol (Fig. 2)이 약간 감소되었으나 serum TG 양에 영향을 줄 만큼 VLDL-chol 양의 변화는 아니었다고 본다.

결 론

본 연구에서는 coconut oil과 safflower oil을 사용하여 식이의 PUFA 함량을 약 2%와 17%로 조절하고 각각 tocopherol을 첨가하여 토끼에게 투여했을 때 혈청의 HDL fraction과 subfraction인 HDL₂와 HDL₃의 상대적비, 그 이외의 지질조성 및 lipoprotein pattern을 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Tocopherol을 첨가하지 않은군의 경우, high PUFA 식이에 의해 serum cholesterol 함량에 큰 영향이 없었으나 tocopherol을 첨가해 줌으로서 high PUFA 식이에 의해 serum cholesterol 양이 더 감소될 수 있었다.

2) HDL-chol 량은 polyanionic method로 분리했을 경우나 electrophoresis에 의해 분석한 경우에도 모두 high PUFA 식이에 의해 감소되었으나 tocopherol을 첨가함으로써 high PUFA 식이에 의한 감소가 줄었다.

3) HDL₂:HDL₃ ratio는 high PUFA 식이를 했을 경우와 tocopherol을 첨가했을 경우 모두 증가되었으나 통계적 유의성은 없었으며, high PUFA 식이에 toco-

pherol을 첨가했을 때 그 비율이 더욱 증가되었다.

4) High PUFA 식이에 tocopherol을 첨가했을 때 CHD 예방능력이 있는 인자로 알려진 HDL fraction과 subfraction 양에 통계적으로 유의성있는 큰 차이를 보이지 못한 것은 본 연구에서 사용된 토끼가 어려서 식이 구성의 변화에 좀더 resistant 하였을 가능성이 있으므로 동물의 나이에 의한 영향을 검토해 볼 필요가 있다고 생각한다.

REFERENCES

- 1) Nicoll, A., Miller, N.E. & Lewis, B.: *High density lipoprotein metabolism. Adv. Lipid Res. 17:53-105, 1980.*
- 2) Shekelle, R.B., Shryock, A.M., Oglesby, P., Mark, L., Jeremiah, S., Shuguey, L. & Raynor, W.J.: *Diet, serum cholesterol, and death from coronary heart disease. N. Eng. J. Med. 304:65-70, 1981.*
- 3) Kannel, W.B., Dawber, J.R., Friedman, G.D., Glennon, W.E. & McNamara, D.M.: *Risk factors in coronary heart disease - The Framingham Study. Ann. Int. Med. 6:888-899, 1974.*
- 4) Gordon, T., Gastelli, W.P., Hjortland, M.C., Kannel, W.B. & Dawer, T.R.: *High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham study. Am. J. Med. 62:707-714, 1977.*
- 5) Lee, K.Y., Ahan, H.S. & Lee, Y.C.: *Risk factors and diet therapy for atherosclerosis - Emphasis on quality (P/S ratio) of fat. Korean J. Nutr. 12:9, 1979.*
- 6) Park, H.S.: *Effect of dietary fat level and P/S ratio on HDL-cholesterol, total cholesterol and triglyceride in plasma and selected tissues of rats. Korean J. Nutr. 15:47-53, 1983.*
- 7) Paul, R., Ramesha, C.S. & Ganguly, J.: *On the mechanism of hypocholesterolemic effects of polyunsaturated lipids. Adv. Lipid Res. 17:155-171, 1980.*
- 8) Vega, G.L., Groszek, E., Wolf, R. & Grundy, S.M.: *Influence of polyunsaturated fats on composition of plasma lipoproteins and apoproteins. J. Lipid Res. 23:811-822, 1982.*
- 9) Shepherd, J., Packard, C.J., Patsch, J.R., Gotto,

- A.M. & Taunton, O.D.: *Effects of dietary polyunsaturated and saturated fat on the properties of high density lipoproteins and the metabolism of apolipoprotein A-I*. Clin. Invest. 61: 1582-1592, 1978.
- 10) Shepherd, J.C., Packard, C.J., Grundy, S.M., Yeshurun, D., Gotto, A.M. & Taunton, O.D.: *Effects of saturated and polyunsaturated fat diets on the chemical composition and metabolism of low density lipoproteins in man*. J. Lipid Res. 21: 91-99, 1980.
- 11) Fletcher, M.J.: *A colorimetric method for establishing serum triglyceride*. Clin. Chem. Acta. 22: 393-398, 1968.
- 12) Simpson, H.S., Ballantyne, F.C., Packard, C.J., Morgan, H.G. & Shepherd, J.: *High density lipoprotein subfractions as measured by differential polyanionic precipitation and rate zonal ultracentrifugation*. Clin. Chem 28: 2040-2043, 1982.
- 13) Witting, L.A.: *Vitamin E-polyunsaturated lipid relationship in diet and tissues*. Am. J. Clin. Nutr. 27: 952, 1974.
- 14) Engelberg, H.: *Mechanisms involved in the reduction of serum triglyceride in man upon adding unsaturated fats to normal diets*. Metab. 15: 796-807, 1966.
- 15) Park, H.S.: *Influence of periodicity of eating on body fat accumulation and lipases in rat adipose tissue*. Korean J. Nutr. 10: 198-206, 1977.
- 16) Chait, A., Onitiri, A., Nicoll, A., Rabaya, E., Davis, J. & Lewis, B.: *Reduction of serum triglyceride levels by polyunsaturated fat. Studies on the mode of action and on very low density lipoprotein composition*. Atherosclerosis 20: 347-364, 1974.
- 17) Sundaram, G.S., Manimekalai, S., London, R.S. & Goldstein, P.: *Effect of alpha-tocopherol on serum hormone and lipoprotein cholesterol levels in young and adult female rats*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 393: 190-192, 1982.
- 18) Hermann, W.J., Ward, K. & Faucett, J.A.: *The effect of tocopherol on high density lipoprotein cholesterol*. Am. J. Clin. Pathol. 72: 848-852, 1979.
- 19) Schwandt, P., Janetschek, P. & Weisweiler, P.: *High density lipoprotein unaffected by dietary fat modification*. Atherosclerosis 44: 9-17, 1982.
- 20) Hermann, W.J.: *The effect of vitamin E on lipoprotein cholesterol distribution*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 624: 467-471, 1978.