

흰쥐(rat)에 있어서 철분 및 vitamin E 결핍이 다불포화 지방산 및 그 유도체에 미치는 영향

허린수 · 김성훈* · 도재철 · 김순태

경북대학교 수의과대학

한국화학연구소*

(1988. 7. 29 접수)

Effect of dietary iron and vitamin E deficiency on polyunsaturated fatty acids and their derivatives in rat

Rhin-sou Huh, Sung-hoon Kim*, Jae-cheul Do, Sun-tae Kim

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University

Korea Institute of Chemistry*

(Received July 29 1988)

Abstract : This study was designed to elucidate the effects of iron, a well known catalyst of lipid peroxidation, on the contents of phospholipids, unsaturated fatty acids composed in phospholipid molecules and their derivatives, prostaglandins, and the composition changes of fatty acids contained in phospholipids.

Iron decreased the contents of phospholipids and its components of unsaturated fatty acids.

Catalytic action of iron decreased the composition rates of linoleate and linolenate composed in phospholipid molecules, while that of arachidonate was inclined to increase.

The content of arachidonate was increased and that of prostaglandins was decreased without regard to increase the precursor of prostaglandins.

It may be concluded that the decreases of prostaglandins and the increase of arachidonate are due to inhibition of the activities of enzyme systems responsible for prostaglandin synthesis by lipid peroxides produced by the catalyst of iron.

Key words: iron, vitamin E, phospholipid, prostaglandin, arachidonate.

서 론

지방질의 흡수장애는 주요 지방산들 뿐만 아니라 지용성 vitamin들 까지도 흡수를 받지 못하고 결핍현상을 가져오게 된다. 지용성 vitamin의 하나인 vitamin E (tocopherol)의 결핍은 동물의 종류에 따라서 또는 연령에 따라서 여러가지 다른 증상들이 보고되어 있다.

vitamin E가 결핍하면 용혈이 잘 일어나는바¹ 이는 적혈구 막 지질의 비정상적 구성에 기인하며², 이 적혈

구 막 지질의 구성변화는 지질의 과산화물 형성에 의해 일어나고 dialuric acid³와 과산화수소^{1,4} (H_2O_2)에 의한 산화작용에 민감해진 결과 쉽게 산화되며, 이런 결과 적혈구 막이 약화되어 용혈이 일어난다고 한다.^{2~4} 용혈에 수반해서 적혈구 막내 지질의 불포화지방산이 특히 과산화를 받아 감소됨과 함께 그 탄소 사슬의 절단 산물인 malondialdehyde 따위의 과산화물이 축적되며⁵ 이때에 적혈구 막을 구성하고 있던 인지질(phospholipid)이 막으로 부터 탈락되므로 인지질 농

도가 감소한다고 한다.^{5,9}

적혈구 막의 약화로 인한 용혈과 그 막의 구성지질의 과산화 및 탈락과 감소 등은 vitamin E의 결핍에 의해서만 일어나는 것이 아니라 과량의 철분이 체내에 투여되었을 때에도 일어나는 바 다불포화지방산과 철분이 높은 농도로 들어있는 식품으로 양육한 영아는 지질과산화 산물의 증가와 용혈성 빈혈 및 수종이 유발된다고⁷하며 철분의 과부화(overload)는 용혈성 빈혈 및 지질의 과산화작용 등, vitamin E 결핍에서와 유사한 변화가 일어난다.⁸ 적혈구 막에 대한 철분의 이와같은 작용은 막을 구성하는 인지질 등의 불포화지방산에 대한 촉매제로서 작용하여 과산화물을 형성하는 것³⁻⁸ 철분이 직접 vitamin E에 산화작용을 하여 파괴시키는 것 등⁸이 있을 수 있다. 이들 지질에 대한 항산화제로써 역할하는 vitamin E의 불활성화 내지 파괴로 항산화 효과가 제거되면 vitamin E의 결핍증상이 그대로 나타날 것이다.⁴

Vitamin E가 결핍되거나 또는 철분이 투여되면 세포막 구성 인지질 내, 긴 사슬의 고급 불포화지방산이 비효소성 과산화 작용을 받는다⁹⁻¹² 그의 2중결합 부분이 절단되어 짧은 사슬의 thiobarbituric acid(TBA) 반응성 malonyl aldehyde가 많이 생성^{5,9}된다. 이 때문에 인지질이 막으로 부터 탈락되어 감소되는 결과 세포막이 약화된다고 한다.^{5,6,13,14}

정상 rat에 수소화지방(hydrogenated fat) 및 탈지사료(fat-free diet)로써 사육하면 n-7 및 n-9(w-7 및 w-9) 계열의 지방산이 생성되어 축적되는데^{15,16}, 이는 각각 acetic acid로 부터 합성이 시작되는 palmitic acid와 stearic acid 또는 oleic acid로 부터 유도된 C₂₀ 이상의 동물성 다불포화 고급 지방산이라고 한다.¹⁶ 이 사실은 외부로부터 필수 지방산이 동물체내에 공급되지 못할 때에는 자가조절 기능의 하나로 체내의 지방산 사슬연장 및 탈수소(desaturation)에 관계하는 효소계통을 총동원하여 C₂₀ 이상의 긴 사슬의 고급 불포화지방산을 합성하여 n-3 및 n-6계통의 지방산을 n-7 및 n-9계통의 지방산으로 대체하는 작용이 일어나는 것을 암시하는 것이다.

동물체내에는 고급 다불포화지방산 유도체이며 hormone의 한 종류인 각종 prostaglandin(PG)이 3종류의 지방산 8, 11, 14—eicosatrienoic(dihomo-r-linolenic) acid, 5, 8, 11, 14—eicosatetraenoic(arachidonic) acid 및 5, 8, 11, 14, 17—eicosapentaenoic acid으로 부터 합성된다.^{17,18} 일반 불포화지방산이 vitamin E 등 다른 요소에 의하여 영향을 받는다면 PG도 영향을 받을 것으로 짐작된다. 실제로 vitamin E가 결핍되면 arachido-

nate로 부터 유도되는 PG의 한 종류인 prostacyclin 합성이 저해되고¹⁹, 철분이 ascorbate의 조력하에서 지질과산화물생산을 촉진하고 뒤이어 이 생성물은 PG의 합성을 저해한다고 한다.²⁰

이상의 사실들에서 vitamin E는 산화성 화합물에 대하여 항산화제로써 작용하는 바 vitamin E가 결핍되어 항산화 효과가 사라지게 되면 첫째, 세포막내 지방질(특히 인지질)의 지방산 조성에 변동이 올것이고 둘째, acetic acid 등 짧은 사슬의 지방산으로 부터 긴 사슬의 포화지방산 등을 거쳐 탈수소작용 등에 의하여 새로운 다불포화지방산이 합성되어 탈락된 지방산에 대체될 것이며 셋째, 유도체인 PG함량에도 변동이 올것이 짐작된다. 철분은 vitamin E 결핍에서와 유사한 작용을 한다고 하는바 철분에 의하여 이들의 의문점이 어떻게 밝혀질 것인가 하는것이 본 실험이 목적하는 바이다.

재료 및 방법

실험동물 : 체중이 140~170g인 Sprague—Dawley rat 42마리(암수 각 21마리)를 실험동물로 사용하여 시판 큰병아리용 사료(우성사료주식회사 제품)로 무제한 급여하여 사육하였다.

실험군 배치 : 철분 투여량에 따라서 암수 동수로 각군 14마리씩 대조 (A)군, 실험 I (B)군 및 실험 II (C)군 등 3개군으로 나누어 60일동안 사육하였다.

철분투여 방법 : 철분은 ferric hydroxide를 주성분으로 한 시판 철분제제 Prolangal(한국바이엘화학주식회사 제품)을 사용하여 A군에게는 철분없이 사료만 급여하였으며, B군에게는 체중 100g당 철분 20mg을, C군에게는 체중 100g당 철분 40mg을 각각 5일 간격으로 12회에 걸쳐 대퇴부의 근육내에 주사하였다.

시료채취 : 혈액은 철분투여 65일째에 각 개체별로 ether마취를 시킨후 heparin 처리한 1회용 주사기로 후대정맥에서 채혈하여 분석시까지 4°C에서 냉장 보관하였다. 조직시료(간장, 신장, 자궁 및 고환)는 채혈후 즉시 채취하여 분석시까지 -10°C에서 냉동보관하였다.

적혈구 용혈시험 : Gordon et al¹의 과산화수소에 의한 개정방법에 따라서 다음과 같이 수행하였다. 혈액 0.2ml에 2ml의 citrate-saline 용액을 첨가하여 원심분리한 후 잔사물에 saline-buffer 혼액(1:1)을 가하여 2.5% 현탁액을 만들고 37°C에서 15분간 incubation 시켰다. 이 현탁액을 0.25ml씩 3개의 시험관에 분취하고 그중 4개의 시험관에는 인산 완충용액으로 희석한 2.4% 과산화수소를, 나머지 한개의 시험관에는 0.25ml의 인산 완충용액을 가하여 (대조) 15분간 37°C

에서 incubation시키고 30분간 실온에서 방치하였다. 대조시험관을 제외한 4개의 시험관에는 각각 4.5ml의 saline-phosphate buffer 용액을 그리고 나머지 한개의 대조 시험관에는 4.5ml의 증류수를 첨가하여 잘 섞고 원심분리하였다. 그 상층액을 취하여 540nm에서 흡광도를 측정하여 적혈구 용혈율을 구하였다.

조직내 인지질 분리: Hanahan et al²¹의 방법에 따라서 조직 일정량을 취하여 ethanol-diethyl ether(3:1) 혼액을 가하여 균질액을 만들어 총 지질을 추출하고 원심분리로 얻은 잔사물에 95% ethanol을 첨가하여 녹인 후 4시간 동안 실온에서 방치하였다가 원심분리로 상층액을 취하고, 잔사물에는 다시 ethanol-diethyl ether혼액을 첨가하여 흔들어 녹인 후 3시간 동안 실온에서 방치하였다가 원심분리로 상층액을 분리하여 처음에 분리한 상층액들과 함께 합하고 37°C의 항온수조에서 N₂-gas를 사용하여 용액을 증발시켰다. 잔사물에는 acetone을 첨가하여 -20°C에서 15시간 방치하였다가 원심분리로 침전물을 수거하고 ether를 첨가하여 녹인 다음 다시 N₂-gas로 용매를 증발시켜서 얻은 잔사물을 인지질 분석에 이용하였다.

인지질 및 인지질 분자내 불포화지방산 정량: 위에서와 같이 Hanahan et al²¹의 방법에 의하여 추출한 인지질을 사용하여 각각 허 등²²과 허 및 장²³의 방법에 따라서 인지질 및 인지질 분자내 불포화지방산 함량을 정량하였다.

인지질의 지방산 조성 분석: 김 등²⁴이 처리한 방법에 따라서 다음과 같이 수행하였다. 위에서 Hanahan et al 등²¹의 방법에 의하여 추출하여 얻은 인지질을 MeOH:toluene (1:1)혼액에 0.38M H₂SO₄을 함유하는 용액으로 65°C에서 4시간 동안 transmethylation시켰다. methyl화된 인지질을 N₂-gas를 써서 용매를 증발시킨 다음 hexane에 다시 녹여 GLC에 걸어서 지방산 조성을 분석하였다.

인지질에서 methyl화된 지방산의 methyl ester를 분석하는데 사용한 기기는 영국 Pye Unicam사 제품인 GC 304 Gas Chromatograph이며 이 GLC에서 사용한 column은 Chromosorb W (Alltech Associates, Deerfield, IL)에 10% Alltech CS-10으로 충전시킨 것이었다. column은 190°C에서 항온을 유지하였고, carrier gas는 N₂로써 분당 30ml의 유속으로 진행시켰다. 지방산 동정에는 표준용액과 시료의 chromatograph peak의 retention time을 비교함으로써 수행하였다.

Prostaglandin정량: PG의 정량은 Samuelsson²⁵의 방법에 의하여 추출하고, Karim et al²⁶의 방법에 의하여 분리 동정하고 Bygdeman 및 Samuelsson²⁷의 방법

에 따라서 정량하였다. 그 과정을 요약하면 다음과 같다. 내경 0.6cm의 유리 column에 115°C에서 가열 활성화시킨 silicic acid(100 mesh)를 충전시키고 잘 씻은 후 조직시료를 용매 C (benzene-ethyl acetate-MeOH=60:40:10) 용액에 혼합하고 용매 A (benzene-ethyl acetate=60:40)을 첨가하여 섞은 용액을 column에 통과시켰다. 여기에 용매 A를 다시 통과시켜 씻어서 중성지방, 지방산, sterol 및 steroid 등을 용출시켰다. 다음으로 용매 D (benzene-ethyl acetate-MeOH=60:40:2)를 통과시켜 PGE를 용출시키고, 마지막으로 용매 B (benzene-ethyl acetate-MeOH=60:40:20)를 써서 PGF를 용출시켰다.

각 용출액은 silica gel G plate에 적용하여 ethyl acetate-MeOH-H₂O(16:1:10) 또는 ethyl acetate-MeOH-H₂O(16:25:10)을 용매로 상법에 따라서 전개시키고, plate상의 반점 검출방법은 10% phosphomolybdate in ethanol을 분무하고 120°C에서 가열하여 나타내는 갈색(PGE) 또는 청색(PGF) 반점으로 식별하였다. 때로는 50% 황산용액을 분무하여 나타나는 흑갈색 반점으로서도 식별하였다.

정량은 위에서 추출, 분리, 정제과정 등을 거친 시료를 Bygdeman 및 Samuelsson²⁷의 방법에 따라서 묽은 alkali로 처리한 후 278nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

통계처리: 실험성적은 각 실험군별로 평균치를 구하고 완전 임의 배치법에 따라서 최소 유의성 검정(LSD검정)을 실시하였다.

결과 및 고찰

적혈구 용혈에 대한 영향: 철분을 급여한 rat에서 과산화수소에 대한 적혈구의 용혈시험을 한 결과 그 용혈율은 Table 1에서 보는 바와 같이 암수에서 대조군(A군)에 비하여 실험군 I 및 II(B 및 C군)에서 다 함께 철분 투여량에 비례하여 뚜렷이 증가하였다(p<0.01). 이 결과는 이 방법에 대한 다른 보고^{7-14,20,28}와 일치하며, vitamin E가 결핍되었을 때에 일어나는 결과와도 같다.¹⁻⁵ 따라서 적혈구 용혈시험은 이 vitamin의 결핍에 대한 지표가 되며, 결핍여부의 확인에도 필요하다.

인지질 분자내 불포화지방산 함량에 대한 영향: 간장내의 인지질분자를 구성하는 불포화지방산 함량은 Table 2에서 보는 바와 같이 암수에서 모두 대조군인 A군에 비하여 철분을 투여한 B 및 C군에서 감소를 보였다(p<0.05). 그러나 같은 실험군(A군 및 B군) 사이에는 유의성 있는 차이가 없었다.

Table 1. Hemolysis in H₂O₂ of erythrocytes of rats injected with iron (%)

Sex	Groups	Individuals tested							Mean±SD	
		1	2	3	4	5	6	7		
Male	A	3.62	7.02	9.52	10.72	5.06	5.06	4.09	6.44 ^a	2.75
	B	32.93	32.10	36.88	32.35	36.08	41.77	35.21	35.33 ^b	3.40
	C	40.00	38.33	48.62	45.24	41.82	39.68	42.59	42.33 ^c	3.58
Female	A	9.20	7.63	12.10	8.51	6.19	8.24	3.12	7.86 ^d	2.76
	B	28.82	27.16	28.57	20.46	24.73	23.08	25.10	25.42 ^e	3.03
	C	33.49	35.61	30.44	30.15	31.62	37.52	22.19	31.57 ^f	4.94

a, b, c, d, e, f : means with different superscripts within groups are different (p<0.01).

A : control group.

B : test group I that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 20mg of iron/100g body weight.

C : test group II that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 40mg of iron/100g body weight.

Table 2. Unsaturated fatty acid contents of phospholipids in rat liver injected with iron

Individuals	Experimental groups of male			Experimental groups of female		
	A	B	C	A	B	C
1	6.951	4.320	2.911	3.223	1.988	1.731
2	6.206	5.843	4.417	3.683	2.107	1.731
3	5.534	3.234	3.976	3.560	2.503	1.745
4	6.815	3.523	3.791	2.615	2.389	1.176
5	7.316	4.111	4.230	2.502	1.598	1.245
6	5.756	3.381	3.218	4.954	2.398	1.171
7	5.912	2.839	4.802	3.186	2.811	2.160
Mean	6.356 ^a	3.893 ^b	3.906 ^b	3.389 ^c	2.256 ^d	1.658 ^d
SD	0.676	0.998	0.665	0.818	0.395	0.440

a, b, c, d : means with different superscripts within groups are different (p<0.05).

A : control group.

B : group I that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 20mg of iron/100g body weight.

C : group II that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 40mg of iron/100g body weight.

세포막에 있는 불포화지방산은 vitamin E가 결핍되거나 철분의 과다한 작용을 받으면 과산화되고^{7,9~12,20} 나중에는 2중결합 부분이 절단되어 malonyl aldehyde 등으로 파괴된다고 한다.^{5,9,20,29,31} 본 실험에 있어서 철분이 급여된 rat에서 불포화지방산 함량이 감소된 사실은 철분에 의하여 직접 지방산의 2중결합 부분이 과산화 작용을 받아서 파괴되었는지 또는 황산화제인 vitamin E 자체가 철에 의하여 산화작용을 받아 불활성화된 결과에 의한 것인지 알수 없으나 이들중 어느 한쪽에 의하여 작용을 받은것은 틀림없는것 같다. 실제로 vitamin E는 철분이 공급되면 체내에서 불활성화되거나 파괴된다는 보고^{8,9,14}에 따르면 철분이 불포화지방산의 과산화를 방어하는 vitamin E를 파괴 또는 불활성화시켜 황산화 기능을 사라지게 하면 지방산은 모든 산화요소에 노출되게 되므로 과산화를 받게 될 것이다.

간장내 인지질 함량에 대한 영향 : 철분이 인지질에 대하여 어떤 영향이 있는 가를 알아 보기 위하여 실험한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. 대조군(A)의 함량은 철분투여없이 사료만을 급여한 정상 rat의 함량으로써 수컷에 31.298±3.110mg/g, 암컷에 19.082 mg/g(wet tissue)이 들어있었다. 이 정상 rat수컷의 간장내 인지질 농도는 Egwin 및 Kummerow¹⁵의 rat간장내 인지질의 정상함량(30.8~33.0mg/g wet weight tissue)과 매우 잘 일치하였다. 실험군의 경우 철분급여량에 비례하여 암수 모두에서 대조군에 비하여 현저한 감소를 보였다(p<0.05). Jacob 및 Lux⁵는 적혈구막에 phosphatidyl ethanolamine이 많이 있는 바 vitamin E가 결핍되면 지질 과산화물이 많이 생성되고 이 생성물은 인지질을 쉽게 파괴한다고 하였고, rat의 고환에서도 인지질 함량이 감소되며⁶, 영아의 세포에서

Table 3. Phospholipid concentrations in liver of rats injected with iron (mg/g)

Individuals	Experimental groups of male			Experimental groups of female		
	A	B	C	A	B	C
1	30.131	19.381	18.343	18.484	15.155	7.130
2	28.080	16.014	17.940	23.735	14.668	10.239
3	27.259	16.478	14.477	17.942	13.690	13.427
4	30.671	21.381	12.428	17.952	14.622	9.373
5	33.088	17.329	17.401	17.401	12.994	6.292
6	34.822	21.579	12.275	16.359	9.352	10.976
7	35.038	19.201	14.995	21.697	11.821	8.888
Mean	31.298 ^a	18.918 ^b	15.398 ^c	19.082 ^d	13.186 ^e	9.475 ^f
SD	3.110	2.164	2.531	2.635	2.041	2.396
UFA/PL Ratio	20.308	20.577	25.367	17.760	17.109	17.500

a, b, c, d, e, f, : means with different superscripts within groups are different ($p < 0.05$).

A : control group.

B : group I that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 20mg of iron/100g body weight.

C : group II that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 40mg of iron/100g body weight.

UFA/PL Ratio: ratio of unsaturated fatty acids to phospholipids.

도 과산화에 의하여 세포막 phosphatidyl ethanolamine 이 감소하였다고 하였다.¹³ Yasuda 및 Fujida¹¹는 철분이 지질 과산화를 촉진함으로써 유리된 지질 과산화물이 phospholipase A₂ 활성을 60%나 증가시켰다고 하였다. 철분이 인지질 분자내의 불포화지방산(아마도 glycerol의 2번 탄소에 있는)을 과산화 작용으로 유리시키고 파괴한 결과 감소가 일어난 것으로 생각된다.

불포화지방산 : 인지질 비율(UFA/PL ratio)은 대조군(A) 및 실험군(B 및 C) 모두에서 거의 일정하였다. 이는 불포화지방산이 파괴되면 인지질도 따라서 탈락되어 동시에 감소된 것을 암시하는 것이라고 생각된다.

인지질 분자내 지방산 조성에 대한 영향 : 철분은 불포화지방산에 과산화작용을 일으켜 파괴시키므로 필시 인지질 분자내 지방산 조성에 어떤 변동이 있을 것으로 짐작되어 실험한 결과 rat의 간장, 신장, 고환 및 자궁내 인지질 분자내 지방산 조성변화는 각각 Table 4, 5 및 6에서 보는 바와 같다. 포화지방산(16:0 및 18:0)은 예측한 바와 같이 변동이 없었으나, linoleate와 linolenate(18:2 및 18:3)는 예상한 대로 대조군(A)에 비하여 실험군(B 및 C)에서 모두 감소하였다. 그러나 arachidonate(20:4)는 예상외로 오히려 대조군(A)에 비하여 실험군(B 및 C)에서 증가하였다. 또한 18:3지방산과 20:4 지방산사이에 미지의(UN)산이 arachidonate와 동일한 변동(증가)을 보였다. 이들의 변동을 대표할 수 있는 것이 UFA/SFA ratio(불포화지방산 : 포화지방산의 비율)인 바, linoleate:stearate

및 arachidonate:stearate (L/S 및 A/S) ratio를 보면 Table 4, 5 및 6에서 보는 바와 같이 L/S는 감소하였고, A/S는 증가하는 경향을 보였다. 이는 분명히 철분이 인지질 분자내의 주요 불포화지방산인 linoleate는 감소시키고 arachidonate는 증가시켰음을 암시하는 것이다.

O'Connell et al²⁹은 철분이 linoleate 및 arachidonate를 모두 감소시켜 그 산화물로서 malondialdehyde가 증가한다고 하였다. 저자 등도 동일하게 linoleate 및 arachidonate가 함께 산화를 받아 감소할 것으로 예상했으나 linoleate만 감소했을뿐 arachidonate는 예상외로 증가하였다. Chan과 Leith¹⁹는 vitamin E 결핍이 인지질 분자내 linoleate에 대해서는 과산화를 유발하여 감소케하고 arachidonate에 대해서는 축적케하여 증가하게 한다고 하였다.

본 실험에서 나타난 결과는 철분이 vitamin E에 작용하여 불활성화⁸ 또는 파괴¹⁴시켰기 때문에 vitamin E 결핍상태가 유발되고 vitamin E 결핍은 prostaglandin cyclooxygenase를 억제하여 arachidonate로부터 prostaglandin으로의 전환이 차단됨으로서 arachidonate가 축적되어 증가된 것으로 보인다.

Egwin과 Kummerow¹⁵ 그리고 Klenk¹⁶는 linoleate가 결핍된 사료로써 사육한 rat의 lipid에는 n-7 및 n-9 계열의 $\Delta^{5,8,11}$ -C₂₀-trienoic acid가 축적된다고 하였다. 이 지방산은 동물체내에 acetate로부터 palmitate, stearate 및 oleate 등을 거쳐 탄소 사슬의 연장과 탈수 소작용 등을 거쳐 형성되는 동물성 비필수 고급 다불

Table 4. Fatty acid compositions of phospholipids in liver of rats injected with iron (%)

Fatty acids	Experimental groups of male			Experimental groups of female		
	A	B	C	A	B	C
16 : 0	21.75	22.73	21.63	16.32	17.66	17.99
18 : 0	22.09	22.07	21.24	31.19	27.80	28.34
18 : 1	8.30	8.76	9.70	5.59	8.26	7.63
18 : 2	19.82	18.31	16.41	14.05	13.37	13.08
18 : 3	1.29	0.69	0.19	0.19	0.14	N, D
U N	2.18	2.40	3.14	1.07	1.16	1.22
20 : 4	24.57	25.04	27.74	30.32	30.61	31.74
L/S	89.72	82.96	77.26	43.65	48.09	46.15
A/S	108.68	113.46	130.60	94.19	110.11	112.00

A : control group.

B : group I that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 20mg of iron/100mg body weight.

C : group II that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 40mg of iron/100mg body weight.

UN : unknown.

UD : not detected.

L/S : ratio of linoleate to stearate.

A/S : ratio of arachidonate to stearate.

Table 5. Fatty acid compositions of phospholipids in kidney of rats injected with iron (%)

Fatty acid	Experimental groups of male			Experimental groups of female		
	A	B	C	A	B	C
16 : 0	20.22	20.01	19.45	18.76	19.62	18.38
18 : 0	21.55	21.46	22.05	21.44	22.99	21.97
18 : 1	11.34	12.07	12.27	8.94	9.51	10.00
18 : 2	14.50	13.01	12.29	16.71	14.25	13.19
18 : 3	0.10	0.10	ND	0.28	0.20	0.11
U N	0.72	1.32	1.84	1.11	1.79	1.69
20 : 4	31.56	32.08	32.01	32.67	32.65	34.65
L/S	67.29	60.62	55.74	77.94	61.98	60.04
A/S	146.45	149.49	145.17	152.38	142.02	157.12

A : control group.

B : group I that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 20mg of iron/100g body weight.

C : group II that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 40mg of iron/100g body weight.

UN : unknown.

ND : not detected.

L/S : ratio of linoleate to stearate.

A/S : ratio of arachidonate to stearate.

포화지방산이다. 본 실험에서는 Table 4, 5 및 6에서 보는 바와 같이 gas-chromatogram 상에 18 : 3 (linoleate)와 20 : 4 (arachidonate) 사이에 미지의 지방산이 출현하였는데 이것이 n-7 또는 n-9 계열의 동물성 다불포화산일 가능성을 완전히 배제할 수 없는 것 같다.

Prostaglandins의 농도에 대한 영향 : Prostaglandin (PG)는 dihomog- γ -linolenate (8, 11, 14-eicosatrienoic acid), arachidonate (5, 8, 11, 14-eicosatetraenoic acid)

및 5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoic acid 등 3종류의 필수 다불포화지방산으로부터 유도되는^{17,18} 일종의 지방산으로서 생체내에서는 각 종류에 따라 다른 여러가지 기능을 하는 hormone의 하나이다.

철분이 불포화지방산을 과산화로 함량변동을 유발한다면 그 유도체인 PG의 함량에도 영향이 있을 것으로 예상하고 실험한 결과는 Table 7에서 보는 바와 같다. 본 실험에서 대조군의 PG함량은 Karim et al²⁰의 정상

Table 6. Fatty acid compositions of phospholipids in testes of males and uterus of female rats injected with iron (%)

Fatty acide	Experimental groups of male			Experimantal groups of female		
	A	B	C	A	B	C
16 : 0	41.58	42.82	41.81	31.43	30.10	29.10
16 : 1	ND	ND	ND	9.83	1.31	1.45
18 : 0	13.36	13.39	13.39	26.11	27.40	26.32
18 : 1	15.26	16.04	16.04	15.88	15.07	15.73
18 : 2	4.87	3.87	3.87	5.25	4.34	4.29
18 : 3	0.30	0.26	0.26	0.25	ND	0.10
U N	1.50	1.30	1.30	1.75	1.82	1.61
20 : 4	23.13	22.32	22.32	18.32	20.06	21.40
L/S	36.45	28.90	28.90	20.11	15.84	16.30
A/S	173.13	166.69	166.69	70.16	73.21	81.31

A : control Group.

B : group I that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 20mg of iron/100g body weight.

C : group II that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 40mg of iron/100g body weight.

UN : unknown.

ND : not detected.

L/S : ratio of linoleate to stearate.

A/S : ratio of arachidonate to stearate.

Table 7. Prostaglandin concentrations in several tissues of rats injected with iron

PG classes	Male						Female					
	Liver			Kidneys			Liver			Kedneys		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
*Total(mg/g wet wt)	60.8	49.2	45.0	47.1	45.9	31.2	55.5	51.5	41.5	67.5	41.0	22.5
PGE(%)	41.0	34.6	44.2	34.6	40.5	62.2	41.8	54.6	29.7	47.8	68.3	56.7
PGF(%)	31.0	48.2	48.3	30.5	27.0	20.0	49.3	32.7	43.8	14.1	10.9	14.0
Others(%)	28.0	17.3	7.5	34.9	32.4	17.3	8.9	12.7	26.6	38.1	20.9	29.3

A : control Group.

B : group I that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 20mg of iron/100g body weight.

C : group II that is subjected to injections of 12 times every 5 days with 40mg of iron/100g body weight.

치 보다 낮은 값이긴 하나 대체로 비슷하였다. O'Connell et al²⁰에 의하면 철분은 세포막 지질의 다불포화 지방산을 과산화시켜 감소시키고 그 산물로서 malonyl aldehyde 산출을 증가시킨다고 하였으므로 그 유도체인 PG의 합성도 지연 또는 감소될것은 당연할 것이다.

본 실험의 결과에서(Table 4,5 및 6) PG의 전구체인 arachidonate가 감소하지 않고 증가하였다. 따라서 그 유도체인 PG도 증가했어야 함당하겠으나 반대로 각 조직(간장 및 신장)에서 모두 대조군(A)에 대하여 각 실험군(B 및 C)에서 증가를 보이지 아니하고 오히려 감소하였다. Chan과 Leith¹⁹는 prostacyclin(PGI₂)이 vitamin E 결핍으로 생성된 lipid peroxides에 의하여 PG cyclooxygenase와 PGI₂ synthetase 등 효소활

성이 억제됨으로 감소된다고 하였고, Fujimoto와 Fujita²⁰는 ascorbate와 철분이 phospholipase A₂(인지질 분자내 arachidonate가 가장 많은 비율로 결합되어 있는 glycerol의 2번탄소 위치를 가수분해하는 효소)의 활성을 증가시켜 arachidonate의 방출을 증가시키고 P G synthetase 및 PG-cyclooxygenase의 활성은 억제하여 PG합성을 감소시킨다고 보고하였다. 그러므로 본 실험에서 철분이 과량으로 투여됨으로써 linoleate 등 산화성이 높은 지방산³⁰은 과산화로 파괴되어 감소되었고, 과산화 생성물은 phospholipase A₂의 활성을 증가시켜 다량의 arachidonate를 방출하였으나 과산화 생성물은 PG합성 효소들도 억제하여 arachidonate에서 PG로의 전환이 차단된 결과 arachidonate는 축적 증가

되었²⁰, 반대로 linoleate와 PG는 감소^{19,20} 된 것으로 해석이 된다.

철분은 불포화지방산의 2중결합 부분에 Fe²⁺-dependent fenton type 반응에서 생성된 oxygen²⁹ 또는 hydroxy³² radical을 형성함으로써 과산화물을 일으키는 것으로 알려져 있다. 따라서 철분은 불포화지방산에 작용하여 과산화를 일으키고¹⁰⁻¹², 이것은 뒤이어 불안정한 과산화 부분에서 절단되어 malonylaldehyde 등 과산화생성물이 증가하며 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하여 pink color compound를 형성한다.^{5,9,20,29,31} 철분은 linoleate 등 다불포화지방산을 과산화로 파괴하여 감소시키고 이때에 생성된 과산화물은 phospholipase A₂를 활성화시켜 arachidonate를 다량 유리시키는 한편, PG합성 효소계를 억제하여 arachidonate로부터 PG의 합성을 방해함으로써 PG합량이 감소되고 arachidonate 함량은 증가하는 것으로 생각된다.

결 론

지질의 과산화 촉매로 잘 알려져 있는 철분이 체내 세포막을 구성하는 인지질과 그 구성 지방산 및 그 유도체인 prostaglandin(PG) 등의 함량 및 그 조성에 어떤 영향이 있는지에 관하여 알아 볼 목적으로 이 실험을 하였다.

철분은 인지질과 그 구성 불포화지방산을 조적으로부터 감소시켰다. 지방산 조성은 linoleate와 linolenate는 감소하였으나, arachidonate는 증가하였다. PG는 전구물질인 arachidonate의 함량에 따라 변동하지 아니하고 arachidonate는 증가하나 PG는 감소하였다.

철분은 지질에 과산화를 일으켜서 linoleate 등 지방산을 파괴하여 감소시키고 그 과산화 생성물은 arachidonate로부터 PG를 합성하는 효소계를 억제하여 arachidonate를 증가시키고 PG는 감소케 하는 것 같았다.

참 고 문 헌

1. Gordon HH, Nitowsky HM, Cornblath M. Studies of tocopherol deficiency in infants and children. I. Hemolysis of erythrocytes in hydrogen peroxide. *Am J Dis Child* 1955;90:669~681.
2. Binder HJ, Spiro HM, Finch SC. Autohemolysis in tocopherol deficiency secondary to steatorrhea. *Am J Med Sci* 1966;90:686~688.
3. Bunyan JA, Green J, Edwin EE, et al. Lipid peroxidation in diauric acidinduced hemolysis of vitamin E-deficient erythrocytes. *Biochem J* 1960;77:47~51.

4. Binder HJ, Herting DG, Hurst V, et al. Tocopherol deficiency in man. *New Engl J Med* 1965;273:1289~1296.
5. Jacob HS, Lux SE. Degradation of membrane phospholipids and thiols in peroxide hemolysis: Studies in vitamin E deficiency. *Blood* 1968;32:549~568.
6. Carpenter MP. The lipid composition of maturing rat testis: the effect of α -tocopherol. *Biochim Biophys Acta* 1971;231:52~79.
7. Ritchie JH, Fish MB, McMasters V, et al. Edema and hemolytic anemia in premature infants: a vitamin E deficiency syndrome. *New Engl J Med* 1968;279:1185~1190.
8. Golberg L, Smith JP. Changes associated with the accumulation of excessive amounts of iron in certain organs of the rat. *Brit J Exper pathol* 1958;39:59~73.
9. Smith KA, Mengel CE. Association of iron-dextran-induced hemolysis and lipid peroxidation in mice. *J Lab & Clin Med* 1968;72:505~510.
10. Melhorn DK, Gross S. Vitamin E-dependent anemia in the premature infant. I. Effects of large doses of medicinal iron. *J Pediatrics* 1971;79:569~580.
11. Yasuda M, Fujita T. Effect of liquid peroxidation on phospholipase A₂ activity of rat liver mitochondria. *Jpn J Pharmacol* 1977;27:429~435.
12. Golberg L, Martin LE, Batchelor A. Biochemical changes in the tissues of animals injected with iron. 3. Lipid peroxidation. *Biochem J* 1962;82:291~297.
13. Williams ML, Shott RJ, O'Neal PL, et al. Role of dietary iron and fat on vitamin E deficiency anemia of infancy. *New Engl J Med* 1975;292:887~890.
14. Golberg L, Smith JP. Vitamin A and E deficiencies in relation to iron overloading in the rat. *J pathol Bacteriol* 1960;80:173~180.
15. Egwin PO, Kummerow FA. Influence of dietary fat on the concentration of long-chain unsaturated fatty acid families in rat tissues. *J lipid Res* 1972;13:500~510.
16. Klenk E. The Metabolism of polyenoic fatty

- acids. In: Raoletti R, Kritchevsky D, ed. *Advances in lipid research* Vol 3. New York: Academic press, 1965;1~23.
17. Martin DW, Nates PA, Rodwell KW, et al. *Harper's review of biochemistry*. 20th ed. New York: Lange Medical Publ, 1985;221~224.
 18. Von Euler US. Program notes on structures and nomenclature. *Annals of New York Academy Science* 1971;180:15~23.
 19. Chan AC, Leith MK. Decreased prostacyclin synthesis in vitamin E-deficient rabbit aorta. *Am J Clin Nutr* 1981;34:2341~2347.
 20. Fujimoto Y, Fujita T. Effects of lipid peroxidation on prostaglandin rabbit kidney medulla slices. *Biochim Biophys Acta* 1982;710:82~86.
 21. Hanahan DJ, Dittmer JC, Warashina EA. A column chromatographic separation of classes of phospholipides. *J Biol Chem* 1957;226:685~700.
 22. 허린수, 김성훈, 모기철, 박항균. 혈청 및 적혈구 막내 인지질의 직접 비색정량방법. *경북대 농학지* 1984;2:73~79.
 23. 허린수, 장인호. 불포화 지방산의 비색정량법. *한국영양학회지* 1982;15:9~13.
 24. Kim YC, Hyun KY, Kim HY, et al. Compositional changes in fatty chain in milk lipids by rancid off-flavor during storage. *Korean J Dairy Sci* 1987;9:56~59.
 25. Samuelsson B. Isolation and identification of prostaglandins from human plasma. *J Biol Chem* 1963;238:3229~3234.
 26. Karim SMM, Hillier K, Devlin J. Distribution of prostaglandins E₁, F₁^α and F₂^α, in some animal tissues. *J Pharm pharmac* 1968;20:749~753.
 27. Bygdeman M, Samuelsson B. Analyses of prostaglandins in human semen. Prostaglandins and related factors. *Clin Chem Acta* 1966;13:463~474.
 28. 김성훈, 허린수, 박항균, 도재철, 이영호. 철분투여가 적혈구막 및 혈장내의 지질 함량에 미치는 영양. *대한수의학회지* 1985;25:125~132.
 29. O'connell MJ, Ward RJ, Baum H, et al. The role of iron in ferritin-and heamosiderin-mediated lipid peroxidation in liposomes. *Biochem J* 1985; 229:135~139.
 30. Horwitt MK. Vitamin E and lipid metabolism in Man. *Am J Clin Nutr* 1960;8:451~461.
 31. Roslyn B, Alfin-slater, Morris RS. Vitamin E and lipid metabolism, In: Paolett R, Kritchevsky D, ed. *Advances in lipid research*. New York:Academic Press, 1963;184~210.
 32. Gutteridge JMC, Halliwell B, Treffry A, et al. Effect of ferritin-containing factions with dirre- rent iron loading on lipid peroxidation. *Biochem J* 1983;209:557~560.