

Vitamin E가 철분 투여로 인한 rat의 지질 과산화에 미치는 영향

허린수* · 김영홍 · 도재철 · 최연식 · 정정원
경북대학교 수의과대학
(1991. 5. 2 접수)

Effect of dietary vitamin E on the lipid peroxidation by dietary iron injected to male rats

Rhin-sou Huh, Young-hong Kim, Jae-cheul Do, Yeon-shik Choi, Cheong-won Cheong
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University
(Received May 2, 1991)

Abstract: This study was designed to investigate the effect of dietary vitamin E on the lipid peroxidation by dietary iron-injected to male rats.

Sprague-Dawley strain male rats were divided into three experimental groups, namely control, iron injected and iron-vitamin E injected groups. The control group was fed with normal diet; the iron injected group was given normal diet and while injected intraperitoneally 30mg of ferric hydroxide/100g of body weight 20 times every 3 days. The iron-vitamin E injected group was intraperitoneally administered 30mg of ferric hydroxide/100g of body weight 20 times every 3 days and vitamin E every day with the dose of 5IU(5mg)/100g body weight. All experimental groups were maintained for 60 days with feeding on the respective ratio.

The results obtained from this experiment were summarized as following:

1. The net weight gain was significantly decreased by the iron injection, but much increased by the vitamin E injection.
2. The contents of unsaturated fatty acid in phospholipid in liver, kidney, muscle and serum were decreased by the iron injection, but increased by the vitamin E injection.
3. The increment of malondialdehyde contents was induced by the iron overloading, but significantly decreased by the vitamin E injection.

Therefore, it is suggested that dietary iron administration to male rats facilitates the lipid peroxidation *in vivo* and vitamin E has the inhibiting effect on lipid peroxidation process by iron.

Key words: iron, vitamin E, unsaturated fatty acid, malondialdehyde, lipid peroxidation, antioxidative effect.

緒 論

Vitamin E(α -tocopherol)는 생체내 세포막에 주로

존재하며 가장 오래 알려진 생체의 항산화제로써 지질
단백질, hormone, 효소활성 등 각종 물질대사에 광범
위하게 관여하며 특히 미효소계 반응으로 free radical

材料 및 方法

들을 처리하는 등 지질과산화물 방지를 위해 밀접한 관계가 있다.¹⁻³ 체내에서 합성되지 않는 지용성의 필수 영양소로서 가장 잘 알려진 vitamin E의 기능은 생체내 polyunsaturated fatty acid(PUFA)에 대한 항산화작용이다.⁴⁻⁶ 즉 지방산 radical(ROO·, RO·, R·)들을 제거함으로써 free radical 반응의 전파를 차단시키며 oxygen radical(O₂·)을 quenching하는 등의 여러 작용으로 polyunsaturated fatty acid 자체의 안정화에 기여한다⁷. 생체막(Biological membrane)의 구성에서 불포화지방산이 주요성분으로 이루어진 phospholipid의 역할이 매우 중요하며, 특히 막조직에 있는 PUFA의 산패로 인하여 peroxide나 free radicals 등의 생성으로 membrane system의 구조가 미정상적으로 됨으로써 세포의 파괴가 증가되어 노화과정이 촉진될 수 있다^{8,9}. 이처럼 vitamin E는 항산화제로써 지질과산화물의 형성 및 축적을 억제할 뿐만 아니라 약물대사효소의 활성에도 관여하며 생체내 노화방지도 관여한다^{2,9-11}.

동물의 호흡작용에서 매우 중요한 hemoglobin과 catalase, peroxidase 등의 주요 구성성분으로 여러 생명현상에 관여하는 중요한 무기물종의 하나인 철분은 강력한 산화제로 작용하여 지질의 과산화를 일으킨다¹²⁻¹⁶. 이러한 철분이 과량으로 투여되면 항산화제로 작용하는 vitamin E에 산화작용을 일으켜 tocopheryl-quinone으로 불활성화시켜 vitamin E의 결핍증세를 초래하며 적혈구 막 및 세포막 지질의 주요 구성성분인 인지질에 결합된 긴 사슬의 고급 다불포화 지방산이 비효소성 과산화 작용을 받아, 그의 2중 결합부분이 절단되어 짧은 사슬의 thiobarbituric acid(TBA) 반응성 malonyl aldehyde 따위의 지질 과산화물이 많이 생성되어 축적되며¹⁷⁻¹⁹, 적혈구 막 및 세포막에 대한 철분의 이와같은 작용은 막을 구성하는 인지질등의 불포화지방산에 대한 산화제로서 작용하여 과산화물을 형성하는 것과²⁰⁻²³ 철분이 직접 vitamin E에 산화작용을 하여 파괴시키는 것 등이 있을 수 있다. 이러한 사실들에서 과량의 철분투여와 vitamin E의 결핍이 세포막내 지방질의 지방산 조성에 변동을 초래하며, 지질의 과산화 작용에 의해 새로운 다불포화지방산들이 합성되어 탈락한 지방산에 대치되며, malondialdehyde 같은 지질 과산화물의 축적을 일으키게 된다.

이에 저자들은 철분의 과량투여와 함께 항산화제로 작용하는 vitamin E를 투여한 rat에서 인지질내 다불포화지방산 및 malondialdehyde 함량을 측정하여 과량의 철분으로 인한 지질의 과산화 작용과 항산화제인 vitamin E 투여로 생체내 지질과산화에 미치는 영향을 알아볼 목적으로 본 실험을 수행하게 되었다.

실험동물: 체중 250~300g 내외의 Sprague-Dawley 계 웅성 rat 30마리를 실험동물로 사용하여 실험동물용 기본배합 고형사료(제일제당<주> 제품)로 무제한 급여하여 사육하였다.

실험군 배치 및 철분투여 방법: 대조군(A), 철분투여군(B), 철분 및 vitamin E 투여군(C)의 3개군으로 나누어 각 군별로 10마리씩 배치하여 60일동안 사육하였다. A군에는 철분을 투여하지 않고 정상사료만 급여하였으며, B군에는 체중 100g당 철분 30mg을 3일간격으로 20회에 걸쳐 복강내에 주사 하였으며, 이때 철분은 ferric hydroxide를 주성분으로 한 시판 철분제인 Prolongal(한국마이엘화학<주>제품)을 사용하였고, C군 역시 체중 100g당 철분 30mg을 3일간격으로 20회에 걸쳐 복강내에 주사 하였으며 또한 vitamin E 단일 제제인 α -tocopherol(삼우화학공업<주>제품)은 체중 100g당 5IU(5mg)씩 매일 일정한 시간에 복강내에 주사하였다. 각 실험군의 실험동물은 실험일시 12시간 전부터 절식시켰다.

시료채취: 혈액은 철분 및 vitamin E 투여 62일째에 각 개체별로 ether마취하에 후대정맥에서 채혈한 다음 즉시 혈청을 분리하여 -20°C 에서 냉동보관하였으며, 실질장기(간장, 신장 및 근육)는 채혈후 즉시 채취하여 분석시 까지 -20°C 에서 냉동보관하였다.

검사항목 및 분석방법

체중측정: 사육기간중 3일간격으로 체중의 변동을 개체별로 측정하여 증체량을 구하였다.

조직내 인지질의 분리: Hanahan 등(1957)의 방법²⁴에 의하여 조직내 인지질을 분리, 추출하였다.

인지질내 불포화 지방산 정량: Hanahan 등(1957)의 방법에 의하여 추출한 인지질을 각각 히르수와 장인호(1982)의 방법²⁵에 따라, 0.15N 황산으로 가수분해시킨후 0.5N alcohol성 KOH로 중화시키고 solvent mixture 5ml, 증류수 2ml 및 heptane 3ml을 첨가하여 혼합한 후 원심분리하였다. 상층의 heptane층을 취하여 copper reagent 2ml를 첨가하여 Cu염을 형성시킨후 원심분리하여 상층액을 분리 발색시킨후, Hitachi Model 200-20 double beam spectrophotometer로 440nm에서 흡광도를 측정하여 함량을 구하였다.

조직 및 혈액내 malondialdehyde 정량: Slater와 Sawyer(1971)의 방법²⁶에 따라 일정량의 시료에 10% Trichloroacetic acid(TCA)를 첨가하여 조직 및 혈액을 각각 파쇄, 분리한 다음 원심분리하여 상층액을 분

취하고 0.67% Thiobarbituric acid 2ml를 첨가하여 항온수조에서 90°C를 유지하며 20분간 가열한 후, 즉시 냉각시켜 원심분리로 상층부분을 분리하여 Hitachi Model 200-20 double beam spectrophotometer로 535 nm에서 흡광도를 측정하여 함량을 구하였다.

통계처리 : 실험성적은 각 실험군 별로 평균치를 구하고 완전 임의 배치법²⁷에 따라 최소 유의성 검정(LSD 검정)을 실시하였다.

結果 및 考察

Rat의 성장에 대한 영향 : 각 실험군별 증체량은 Fig 1에서 보는 바와 같이 대조군(A)에 비해 철분투여군(B)의 증체량이 현저히 감소하였으며, 철분 및 vitamin E 투여군(C)은 철분투여군에 비해 증체량이 상당히 증가함을 볼 수 있다. 이와같이 철분투여군의 증체량이 현저히 감소하는 것은 과량의 철분이 rat 체내에 투여 되었을 때 성장부진을 나타낸다는 보고²⁸와

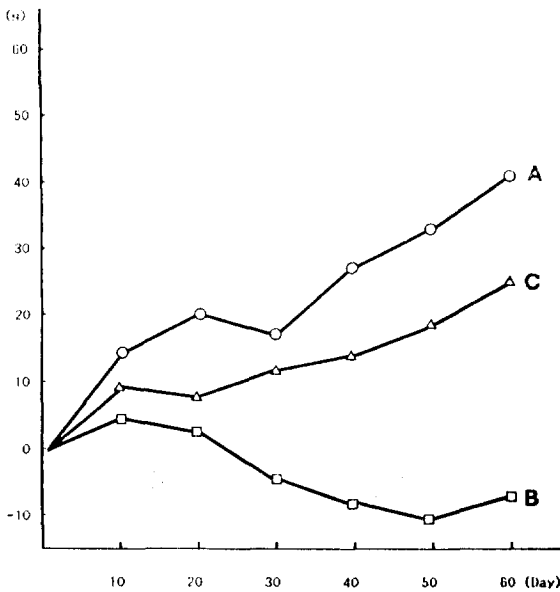


Fig 1. Changes on body weight gain among groups in male rats.

- A : Control group. (○—○)
- B : Intraperitoneal Iron(Fe(OH)₃) injection group 20 times every 3 days with the dose of 30mg/100g body weight. (□—□)
- C : Iron-vitamin E group injected intraperitoneally 30mg of ferric hydroxide/100g of body weight 20 times every 3 days and vitamin E every day with the dose of 5IU(5mg)/100g body weight for 60 days. (△—△)

과량의 철분 투여에 따라 vitamin E함량의 감소로 인한 myosin과 actomyosin의 감소에 기인한 것²⁹이라 사료된다. Vitamin E 투여군에서는 철분투여군에 비해 증체량이 상당히 증가한 것은 vitamin E 급여 수준이 높을수록 체중의 증가 경향을 나타낸다는 여러 보고^{1-5, 8, 30, 31}와 같이 철분투여에 의한 체중의 감소가 vitamin E의 투여로 xenobiotics로 작용하는 metal ion의 일종인 철분에 의한 체내 지질과산화 과정을 억제함으로써 체내의 대사항진으로 체중이 증가한 것으로 여겨진다.

인지질내 불포화지방산 함량에 대한 영향 : 간장, 신장 및 근육내 인지질을 구성하는 불포화지방산의 함량은 Table 1에서 보는 바와 같이, 대조군에서는 평균함량이 각각 23.83mg/g, 21.17mg/g 및 2.13mg/g이었으나, 철분투여군에서는 12.89mg/g, 15.98mg/g 및 1.34mg/g으로 대조군에 비해 유의성있는 함량의 감소(p<0.01)를 나타내었으며, 철분 및 vitamin E 투여군에서는 19.96mg/g, 19.21mg/g 및 1.85mg/g으로 철분투여군에 비해 유의한 증가(p<0.01)를 보였다. 이와 같이 철분투여군에서의 현저한 인지질내 불포화지방산 함량의 감소는 과량의 철분이 투여되면 세포막에 있는 불포화지방산이 강력한 산화제인 철분에 의해 직접적인 과산화작용을 받아 지방산의 탄소사슬내 2중결합부분을 파괴시켜 malonyl aldehyde 같은 지질과산화물을 생성하여 세포막의 구조 결손 및 막의 투과성 변화를 일으킨다는 보고^{17, 32-34}와 일치함을 알 수 있

Table 1. Unsaturated fatty acid contents in phospholipid in tissues of male rats (mg/g wet weight)

Groups	Mean contents(Mean±SD)		
	Liver	Kidney	Muscle
A	23.83±1.94	21.17±1.52	2.13±0.31
B	12.89±1.91*	15.98±1.32*	1.34±0.27*
C	19.96±1.90*	19.21±1.17*	1.85±0.23*

* p<0.01 compared with control values.

* p<0.01 compared with iron injected values.

A : Control group.

B : Intraperitoneal iron(Fe(OH)₃) injection group 20 times every 3 days with the dose of 30mg/100g body weight.

C : Iron-vitamin E group injected intraperitoneally 30mg of ferric hydroxide/100g of body weight 20 times every 3 days and vitamin E every day with the dose of 5IU(5mg)/100g body weight for 60 days.

다. 한편 vitamin E 투여군에서 불포화지방산 함량이 현저히 증가한 것은 vitamin E가 xenobiotics로 작용하는 강력한 산화제인 철분에 의한 세포의 mitochondria나 endoplasmic reticulum막에 존재하는 불포화지방산의 과산화(peroxidation)을 방지하는 항산화제로 작용한다는 보고^{1,2,20,34-36}와 일치함을 알 수 있다.

Lipid peroxide(MDA) 생성에 대한 영향 : 지질과산화물인 malondialdehyde의 생성에 대한 영향을 알아본 결과는 Table 2에서 보는 바와 같이 대조군의 평균함량이 간장, 신장 및 근육조직에서 각각 115nM/g, 234nM/g 및 427nM/g 이었으나 철분투여군에서는 350nM/g, 408nM/g 및 725nM/g으로 대조군에 비해 현저한 함량의 증가($p < 0.01$)를 나타내었으며, 철분 및 vitamin E 투여군에서는 평균함량이 각각 178nM/g, 312nM/g 및 509nM/g으로 철분투여군에 비해 유의성 있는 함량의 감소($p < 0.01$)를 보였다. 한편 혈청내 malondialdehyde 함량을 조사해본 결과, 역시 Table 3에서 보는 바와 같이 대조군의 평균함량이 3.63nM/ml

Table 2. Lipid peroxide(MDA) contents within several organs of male rats (n mole MDA/g wet weight)

Groups	Mean contents (Mean±SD)		
	Liver	Kidney	Muscle
A	115± 7.2	234±17.3	427±28.2
B	350±31.6*	408±34.2*	725±17.4*
C	178± 8.9#	312±13.6*	509±28.1#

* $p < 0.01$ compared with control values.

$p < 0.01$ compared with iron injected values.

A : Control group

B : Intraperitoneal iron($\text{Fe}(\text{OH})_3$) injection group 20 times every 3 days with the dose of 30 mg/100g body weight.

C : Iron-vitamin E group injected intraperitoneally 30mg of ferric hydroxide/100g of body weight 20 times every 3 days and vitamin E every day with the dose of 5IU(5mg)/100g body weight for 60 days.

Table 3. Lipid peroxide(MDA) contents in serum of male rats (n mole MDA/ml)

Groups	Individual No.										Mean±SD
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	3.62	3.74	3.06	3.52	3.82	3.34	3.72	3.92	4.12	3.45	3.63±0.37
B	9.76	9.88	9.68	9.48	10.21	9.56	9.54	10.47	10.37	9.72	9.87±0.92*
C	4.79	4.58	4.72	4.84	4.08	4.17	4.52	3.92	4.12	3.98	4.37±0.26#

* $p < 0.01$ compared with control values.

$p < 0.01$ compared with iron injected values.

A : Control group.

B : Intraperitoneal iron($\text{Fe}(\text{OH})_3$) injection group 20 times every 3 days with the dose of 30mg/100g body weight.

C : Iron-vitamin E group injected intraperitoneally 30mg of ferric hydroxide/100g of body weight 20 times every 3 days and vitamin E every day with the dose of 5IU(5mg)/100g body weight for 60 days.

인데 비하여, 철분투여군에서는 9.87nM/ml로 현저한 함량의 증가($p < 0.01$)를 보였으며, 철분 및 vitamin E 투여군에서는 4.37nM/ml로 철분투여군에 비해 현저한 함량의 감소($p < 0.01$)를 보였다.

이와 같이 철분투여군의 혈청 및 실질장기내에서 malondialdehyde 함량히 현저히 증가한 것은 철분의 투여로 인해 적혈구막 및 세포막 지질의 주요 구성성분인 인지질에 결합된 긴 사슬의 고급 다불포화지방산이 비효소성 과산화 작용을 받아, 2중 결합부분이 절단되어 thiobarbituric acid (TBA)에 반응을 나타내는 지질과산화물인 짧은 사슬의 malondialdehyde가 많이

생성되기 때문^{17-20,34,37}이라 사료되며, 한편 vitamin E 투여군에서 지질과산화물인 malondialdehyde 함량이 현저히 감소한 것은 항산화제로 작용하는 vitamin E를 식이에 투여하였을 때 free radical을 scavenging 함으로써 세포 막내 polyunsaturated fatty acid의 과산화를 방지하여 지질과산화물의 생성을 억제한다는 보고^{5,8,11,30,36,38}에서와 같이 철분 투여에 의해 생성된 free radical인 alkoxy radical(RO.)과 peroxy radical(ROO.)의 작용에 영향을 미쳐 이 free radical을 scavenging 함으로써 조직 및 혈청내 lipid peroxide인 malondialdehyde의 함량을 감소시키는 것으로 사료된다.

結 論

Vitamin E가 철분 투여 흰쥐의 체내 지질과산화에 미치는 영향을 알아보고자 rat에 철분제제(30mg/100g body weight)를 복강으로 투여 하였으며, 또한 vitamin E 단일제제(5mg/100g body weight) 역시 복강으로 투여하여 60일간 사육한 후 rat의 성장, 간장, 신장 및 근육의 지질성분을 측정하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 체중의 증체량은 철분투여군의 경우 대조군에 비해 유의한 감소($p < 0.01$)를 보였으며 철분 및 vitamin E 투여군은 철분투여군에 비해 유의하게 증가($p < 0.01$)하였다.

2. 간장, 신장 및 근육조직내 인지질을 구성하는 불포화지방산의 함량은 대조군에 비해 철분투여군에서 유의한 감소($p < 0.01$)를 보였으며 vitamin E 투여군은 철분투여군에 비해 유의한 증가($p < 0.01$)를 보였다.

3. 지질의 과산화물인 malondialdehyde 생성량을 알아본 결과, 간장, 신장, 근육 및 혈청내의 함량은 대조군에 비해 철분투여군이 현저하게 증가($p < 0.01$)하였으며 철분 및 vitamin E 투여군은 철분투여군에 비해 그 함량이 현저히 감소($p < 0.01$)하였다.

이상의 결과에서 철분투여로 인해 항산화계로 작용하는 vitamin E에 산화작용을 일으켜 tocopherylquinone으로 불활성화시켜 vitamin E의 결핍증세를 초래하며 생체의 세포막내 지질인 인지질내 고급 다불포화지방산이 미효소성 과산화작용을 받아 2중 결합 부분이 절단되어 malonyl aldehyde 따위의 지질과산화물이 많이 생성되어 축적되는 등 생체내 지질과산화를 촉진시키는 결과를 나타내었으며, 또한 항산화계로 작용하는 vitamin E가 철분등 여러 xenobiotics에 의해 형성된 free radical을 scavenging 함으로써 생체내 polyunsaturated fatty acid의 과산화를 방지하여 세포막의 안정화에 기여하며 지질과산화물의 함량을 감소시키는 결과를 나타내었다.

參 考 文 獻

1. Witting LA. Vitamin E-polyunsaturated lipid relationship in diet and tissues. *Am J Clin Nutr* 1974;27:952-959.
2. Tappel AL. Vitamin E and selenium protection from *in vivo* lipid peroxidation. *Ann N Y Acad Sci* 1980;355:18-31.
3. Friedrich W. Vitamin E. In: Friedrich W, ed, *Vitamins* 1st ed, Berlin: Walter de Gruyter,

1988;217-283.

4. Alfin-Slater RB and Morris RS. Vitamin E and lipid metabolism. In: Paolett R and Kritchevsky D, cd, *Advances in lipid research*. 1st ed, New York: Academic Press, 1963:182-210.
5. Scott ML. Vitamin E. In: DeLuca HF, ed, *Handbook of lipid research*. 1st ed, New York: Plenum Press, 1978:133-210.
6. Horwitt MK. Vitamin E and lipid metabolism in man. *Am J Clin Nutr* 1960;8:451-461.
7. Schmidt D, Stufen H and Planta CV. Lateral diffusion order parameter and phase transition in phospholipid bilayer membrane containing tocopheryl acetate. *Biochim Biophys Acta* 1976; 443:1-9.
8. Witting LA. Vitamin E and lipid antioxidants in free radical initiated reactions. In: Pryor WA, cd, *Free radicals in biology*. vol. IV. New York: Academic Press, 1980:295-319.
9. Cutter RG. Antioxidants, aging and longevity. In: Pryor WA, cd, *Free radicals in biology*. vol. V. New York: Academic Press, 1984:371-428.
10. DiLuzio NR. Antioxidants, lipid peroxidation and chemical-induced liver injury. *Fed Proc* 1973;32:1875-1881.
11. Fukuzawa K, Takase S and Tsukatani H. The effect of concentration on the antioxidant effectiveness of α -tocopherol in lipid peroxidation induced by superoxide free radicals. *Arch Biochem Biophys* 1985;240:117-120.
12. Smith JE. Iron metabolism and its disease. In: Kancko JJ, cd, *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4th ed, New York: Academic Press, 1989:256-273.
13. Mayes PA. Biologic oxidation. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, et al cd, *Harper's biochemistry*. 21st ed, Connecticut: Appleton & Lange, 1988:100-119.
14. Heys AD and Dormandy TL. Lipid peroxidation in iron-overloaded spleens. *Clin Sci* 1981;60: 295-301.
15. Wills ED. Effects of iron overload on lipid peroxide formation and oxidative demethylation by the liver endoplasmic reticulum. *Biochem Pharmacol* 1972;21:239-247.

16. Gutteridge JMC. The role of superoxide and hydroxyl radicals in phospholipid peroxidation catalysed by iron salts. *FEBS Letters* 1982;150: 454-458.
17. Smith KA, Mengel CE. Association of iron-dextran induced hemolysis and lipid peroxidation in mice. *J Lab & Clin Med* 1968;72:505-510.
18. Yasuda M, Fujita T. Effect of lipid peroxidation on phospholipase A2 activity of rat liver mitochondria. *Jan J Pharmacol* 1977;27:429-435.
19. 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.
20. Carpenter MP. The lipid composition of maturing rat testis: The effect of α -tocopherol. *Biochim Biophys Acta* 1971;231:52-79.
21. Richie 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.
22. Gutteridge JMC, Halliwell B, Treffry A, et al. Effect of ferritin-containing fractions with different iron loading on lipid peroxidation. *Biochem J* 1983;209:557-560.
23. 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.
24. Hanahan DJ, Dittmer JC, Warashina EA. A column chromatographic separation of classes of phospholipids. *J Biol Chem* 1957;226:685-700.
25. 許麟洙, 張仁浩. 不飽和脂肪酸斗 比色定量法. 韓國營養學會誌 1982;15:9-13.
26. Slater TF, Sawyer BC. The stimulatory effects of carbon tetrachloride and other halogenoalkanes on peroxidative reactions in rat liver fraction *in vitro*. *Biochem J* 1971;123:805-814.
27. 趙載英, 張權烈. 實驗統計分析法. 十版, 서울: 鄉文社, 1986;104-106.
28. Golberg L, Smith JP. Vitamin A and E deficiencies in relation to iron overloading in the rat. *J Pathol* 1960;80:173-180.
29. Bender AD, Schottelius DD, Schottelius BA. Effect of vitamin E deficiency on protein composition of guinea pig skeletal muscle. *Proc Soc Exp Biol Med* 1959;102:362-364.
30. Ham YA, Hong YS and Sung NE. The effects of vitamin antioxidants on lipid peroxidation in rat liver microsomes. *Ewha Med J* 1982; 5:109-116.
31. Grinna LS. Effect of dietary α -tocopherol liver microsomes and mitochondria of aging rats. *J Nutr* 1976;106:918-929.
32. Fujimoto Y, Fujita T. Effects of lipid peroxidation on prostaglandin rabbit kidney medulla slices. *Biochim Biophys Acta* 1982;710:82-86.
33. O'connell MJ, Ward RJ, Baum H, et al. The role of iron in ferritin and hemosiderin-mediated lipid peroxidation in liposomes. *Biochem J* 1985; 229:135-139.
34. Jacob HS, Lux SE. Degradation of membrane phospholipids and thiols in peroxide hemolysis: Studies in vitamin E deficiency. *Blood* 1968;32: 549-568.
35. Scott ML. Advances in our understanding of vitamin E. *Fed Proc* 1980;39:2736-2739.
36. Yang NYJ, Desai ID. Effect of high levels of dietary vitamin E on liver and plasma lipid and fat soluble vitamins in rats. *J Nutr* 1977;107: 1418-1426.
37. Melhorn DK, Gross S. Vitamin E-dependent anemia in the medicinal iron. *J Pediatrics* 1971; 79:569-580.
38. Masugi Fand Nakamura T. Effect of vitamin E deficiency on the level of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxide in rat liver. *Internal J Vit Nutr Res* 1976; 46:187.