

N-3계 및 N-6계 지방산 식이가 스트레스에 노출된 흰 쥐의 혈당과 혈청 유리지방산 및 지방산 조성변화에 미치는 영향*

장 문 정 · 정 혜 경**

국민대학교 사범대학 가정교육과
호서대학교 자연대학 식품영양학과**

The Effect of Dietary n-3 and n-6 Polyunsaturated Fats on Changes
in Glucose, Non Esterified Fatty Acid and Fatty Acid
Compositions in Serum of Rat Exposed to Stress.

Chang, Moon-Jeong, Chung, Hae Kyung**

Department of Home Economics Education, Kookmin University, Seoul, Korea
Department of Food and Nutrition, ** Hoseo University, Chungnam, Korea

ABSTRACTS

This study was designed to investigate the changes in energy substrates, glucose and non-esterified fatty acid(NEFA), and fatty acid compositions in serum, following physiological stress in rats fed diets containing various fatty acids. Forty two Sprague-Dawley strain male rats, weighing 108 ± 2.1 g, were fed 3 different experimental diets for 4 weeks. The diets were composed of 10% fat(w/w) of either corn oil(CO;18:2 n6:57%), plant perilla oil(PO;18:3 n3:59%), or tuna fish oil(FO;20:5 n3:17%, 22:6 n3:19%). After 4 weeks of feeding, each group was subdivided into (a) control, (b) 2 min swim in ice-cold water. Animals were decapitated 20 min after commencing the swim; trunk blood, brain, liver and epididymal fat pad were obtained.

The levels of serum corticosterone, glucose, NEFA, triglyceride, fatty acid compositions, brain serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid were determined. Basal levels of corticosterone and NEFA of serum were significantly lower in fish oil fed animals than those of any other oil fed animals. Compared to either perilla oil-fed or corn oil-fed rats, cold swim stress in fish oil fed rats produced significantly smaller NEFA and larger corticosterone responses. However, there was no significant difference in basal levels of serum glucose. Stress increased serum glu-

cose levels slightly, and the amount of increment was larger in fish oil fed rats than those of any other oil fed rats, although all the values were normal level. Dietary fats and stress did not affect serotonin metabolism. In addition, the composition of fatty acids in serum was significantly affected by the dietary composition of fatty acids and stress. Stress induced decreases in monounsaturated fatty acid and non-polyunsaturated fatty acid concentration in either perilla oil fed or fish oil fed group, but did not in corn oil fed group. Stress resulted in changes in fatty acid metabolism similar to that associated with essential fatty acid(EFA) deficiency, when feeding animals n-3 fatty acids in diet.

In conclusion, feeding fish oil was more effective to decrease NEFA in serum than feeding perilla oil or corn oil and improved lipid metabolism, when the rats were maintained in normal or exposed to stressful environment. However, the fact that feeding diet containing n-3 fatty acids decreased EFA status under stress suggests that the requirement of n-6 PUFA should be increased in these groups.

KEY WORDS : stress · dietary fat · corticosterone · glucose · non-esterified fatty acid · fatty acid composition.

서 론

역학조사에 따르면 우리나라도 경제수준의 상승으로 동물성 식품의 섭취량이 증가하여 왔으며, 과식과 운동 부족에서 오는 비만, 스트레스, 음주, 흡연등의 요인과의 복합적인 작용으로 인해 만성퇴행성 질환의 발생율이 증가하는 추세에 있으며, 순환기 질환이 가장 큰 사망원인으로 밝혀졌다¹⁾ 순환기 질환의 원인은 확실하게 규명되어 있지 않으나 혈청내 비정상적인 지질대사가 주요한 위험인자로 간주되고 있다²⁾. 최근에는 혈청내 지질농도 뿐만 아니라 혈청내 지질을 구성하는 지방산 조성의 변화가 심혈관계 질환의 발병 및 증세를 악화시킬 수 있다고 보고하고 있다. Siguel과 Lerman³⁾은 관상동맥경화증 환자의 혈청내 지방산 조성을 분석한 결과 정상인에 비해 필수지방산 수준이 감소되었음을 관찰하였으며, Miettinen⁴⁾등은 혈액내 지방산 조성변화로 심근경색증을 예측할 수 있으며, linoleic acid 수준 감소와 관상동맥경화증이 유의적인 상관관계가 있음을 보고하고 있다.

지방산은 세포막의 이중지방층의 구성성분으로 세포막의 유동성 및 기능에 영향을 준다. 세포막의 인지질 지방산 조성의 변화는 유동성을 변화시켜 세포막을 중심으로 이루어지는 생리적 기능 및 물질 수송에 영향을 줄 수

있으며^{5,6)}, 또한 prostaglandin을 경유하는 여러 생리적 반응에 영향을 미칠 수 있음이 제시되어 왔다⁷⁾. 특히 심혈관계 질환자의 경우 필수지방산 결핍은 eicosanoids 간의 균형을 깨뜨리고 세포막 기능 변화를 초래하여 혈소판 응집반응을 증가시키고 고혈당, 고지혈증 및 동맥 경화를 초래하는 것으로 보고되고 있다⁸⁾.

혈청내 지질 및 지방산의 조성은 식이내 지방의 함량 및 종류에 의해서도 영향을 받지만 스트레스에 의해서도 영향을 받는다. 스트레스에 노출되면 탄수화물대사에 극심한 변화가 일어나 혈당량이 상승하며, 극심한 스트레스에 접하면 고혈당임에도 불구하고, 지방조직에서 중성지방의 분해가 증가한다⁹⁾. 스트레스에 단기간 노출되었을 때는 혈청내 유리지방산 및 중성지방이 증가하고, 이로 인해 고지방혈증, 고단백질 혈증이 발생한다고 보고된 바 있다^{10,11)}. 정신적 스트레스, 추위, 저혈당, 전기적 충격, 구금(immobilization), 수술등과 같은 신체적 스트레스에 접하면 신체는 시상하부-뇌하수체-부신계(hypothalamus-pituitary-adrenal gland, 이하 HPA계)를 통해 분비되는 호르몬의 분비를 통하여 반응을 보인다^{12,13)}. 스트레스에 노출되면 부신으로 부터 glucocorticoid분비가 증가되어 새로운 환경에 적응하기 위한 에너지 대사의 변화를 초래하며, 따라서 혈액내

corticosterone의 함량은 생체가 받은 스트레스정도를 직접적으로 반영한다. 선행연구 결과에 의하면, 스트레스로 인한 HPA계의 활성화 증가는 뇌의 serotonergic 신경세포에 의해 조절을 받으며, 스트레스를 받으면 뇌에서 serotonin 회전율(turnover)이 촉진되어 HPA계를 통해 분비물질을 억제하므로써 스트레스로 인한 대사 변화를 완하시키는 것으로 보고된 바 있다^{12,13,14}. 스트레스로 인한 serotonin 대사변화는 식이내 트립토판 함량에 의해 영향을 받아 고트립토판 식이 섭취시 serotonin 대사가 촉진되어 스트레스를 완하시켰으며¹⁵, Brindly등¹⁶과 Lawson등¹⁷은 각각 고지방 식이로 사육된 쥐가 정상식이로 사육된쥐보다 스트레스에 대한 반응이 커서 부신에서 corticosterone 분비를 증가시키고 간에서 중성지방 합성 및 분비능력을 증가시켰다고 보고하고 있다. 이러한 연구결과들은 식생활과 일상생활에서 끊임없이 접하게 되는 스트레스가 뇌 신경세포의 활성화에 지배를 받는 호르몬 분비기관의 반응을 통해 신체내 에너지 대사의 변화를 초래하여 퇴행성 질환을 유발시키는 원인 제공요인이 될 수 있음을 시사한다.

최근 심혈관계 질환에 대한 우려에서 포화지방산 함량이 높은 동물성 식품 대신 고도불포화지방산 함량이 높은 식물성 유지 및 어유 섭취를 혈청 지질 개선제로 권장하고 있다. 그러나 고도불포화 지방산중에서도 n-3계와 n-6계 지방산의 혈청지질 개선효과가 다르며, n-3계 지방산중에서도 식물성인 들깨유에 다량 함유된 α -linoleic acid(LNA C18:3)보다 동물성인 어유에 다량 함유된 eicosapentaenoic acid (EPA C20:5)의 혈청지질 개선효과가 더욱 컸음이 보고된바 있다¹⁸.

지금까지 스트레스와 영양소 상호간의 관계는 식이내 총지방의 함량이나 탄수화물의 종류에 의한 스트레스 반응 및 에너지 대사변화를 알아본 것으로, 식이내 불포화 지방산의 종류 달리하여 공급한 쥐를 스트레스에 노출시켰을 때 나타나는 스트레스 반응 및 혈액내 지방산 조성 변화에 대한 연구는 보고된 바 없는 실정이다. 그러므로 본 연구는 불포화지방산의 종류 및 스트레스에의 노출이 심혈관계 질환에 영향을 주기 때문에 3종류의 불포화지방산, n-6계로는 옥수수유를, n-3계로는 동물성인 참치유와, 식물성인 들깨유를 택하여 식이내 불포화지방산 조성의 차이가 스트레스에 노출된 흰 쥐의 뇌의 sero-

tonin과 그 대사물 농도 변화와 혈청내 corticosterone, 포도당, 유리지방산 및 지방산 조성 변화에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

실험방법

1. 실험동물의 식이

평균 체중 $108 \pm 2.1g$ 되는 수컷 Sprague-Dawley종 42마리를 체중에 따른 난괴법으로 14마리씩 3군으로 나누는 다음 정상조건 (온도, 습도, 채광을 각각 $20 \pm 1^\circ C$, 50~60%, 6:00~18:00) 에서 실험식이로 4주간 사육하였다.

실험식이는 식이지방을 무게의 10% (열량의 20%)로 하고 지방급원은 n-6계 급원으로 옥수수유(CO), n-3계 급원으로는 LNA가 풍부한 들깨유(PO)와 docosahexanoenoic acid(DHA)와 EPA가 다량함유된 참치유(FO)를 사용하여 공급하였다. 옥수수기름은 동방유량의 옥배유를, 들깨유는 풀무원 식품에서 제조한 것을 구입하여 사용하였고, 참치유는 풀무원 식품 연구소에서 회사받아 사용하였다. 실험식이의 조성은 Table 1에 사용된 지방의 지방산 조성은 Table 2에 나타내었다. 불포화지방산 공급에 따른 Vitamin E 요구량증가를 맞추기 위해 all-rac- α -tocopherol acetate(0.04g/100g diet)를 첨가하였다.

식은 냉동저장($-20^\circ C$)하였으며, 불포화지방산의 산화를 막기 위해 매일 공급 하였으며 물과 식이는 제한 없이 공급하였다. 1일 식이섭취량은 매일 일정한 시간에 측정하였으며, 체중은 1주일에 1회씩 측정하였다.

2. 시료의 수집

실험식이를 4주간 공급한 후 각 실험군을 정상군과 스트레스처리군으로 나누어, 각군에 7마리씩 배정하였다. 실험당일에 3시간 절식 후 정상군은 단두하여 희생시켰고, 스트레스처리군은 극심한 스트레스를 주기위해 실험동물을 찬물에 담그는 방법(cold swim treatment)¹⁹을 이용하여, 플라스틱 원형 수조(직경 약 50cm×깊이 30cm)에 4°C의 냉수를 담고 쥐를 2분간 침수시켜 스트레스를 받게한 후 20분 후에 단두하여 희생시켰다.

실험동물은 혈액내 corticosterone수준이 가장 낮은

식이지방 조성차이 및 스트레스로 인한 혈청내 에너지 대사물과 지방산 조성변화

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

Diet ingredients	Experimental groups		
	CO ¹⁾	PO	FO
Corn starch	700	700	700
Casein	150	150	150
Fat	100	100	100
Corn oil	100	80	80
Perilla oil	0	20	0
Fish oil	0	0	20
Salt mixture ²⁾	35	35	35
Vitamin mixture ³⁾	10	10	10
Choline chloride	2	2	2
DL-Methionine	3	3	3

- 1) CO : corn oil; PO : perilla oil; FO : tuna fish oil.
- 2) Salt mixture(g/kg mixture); same as in AIN-76 formula salt mixture : Calcium phosphate, dibasic 500, Sodium chloride 74, Potassium citrate, monohydrate 220, Potassium sulfate 52, Magnesium oxide 24, Manganous carbonate 3.5, Ferric citrate 6, Zinc carbonate 1.6, Cupric carbonate 0.3, Potassium iodate 0.01, Sodium selenite 0.01, Chromium potassium sulfate 0.55, Sucrose, finely powdered to make 1000g.
- 3) Vitamin mixture(mg/kg mixture); same as in AIN-76 formula vitamin mixture : Thiamin HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine HCl 700, Nicotinic acid 300, D-Calcium pantothenate 1600, Folic acid 200, D-Biotin 20, Cyanocobalamine 1, Retinyl palmitate 400,000IU vitamin A activity, dl- α -Tocopheryl acetate 5000IU vitamin E activity, Cholecalciferol 2.5, Menaquinone 5, Sucrose, finely powdered to make 1000g.

9:00-12:00사이에 희생 시켰으며, 희생직 후 단두된 부위로 부터 혈액을 채취하였다. 혈액 채취 후 즉시 뇌, 간, 부교환지방을 떼어 냉동보관 하였다(-20℃).

혈액은 응고를 위해 얼음위에서 20분간 방치 후 3,500rpm으로 10분간 냉장 원심분리 하여 혈청을 얻었으며 혈청내 corticosterone, 유리지방산, 포도당, 총성지방 및 지방산조성 분석을 위해 냉동보관하였다(-20℃).

3. 시료의 생화학적 분석

혈청의 포도당(GOD kit, WAKO사, 일본), 유리지방산(ACS-ACOD kit, WAKO사, 일본), 총성지방(영연화학, 일본)은 효소를 이용한 kit로 분석하였다.

혈청내 corticosterone농도는 I²⁵로 표지된 double antibody radioimmunoassay (ICN Co, USA)를 사

Table 2. Composition of fatty acids in dietary fats (% of total fatty acids)

Fatty acid	CO ¹⁾	PO	FO
14:0	0.11	0.17	4.65
16:0	11.25	6.90	12.79
16:1 n7	0.09	0.13	7.21
17:0	0.10	0.09	0.49
18:0	2.17	2.48	2.71
18:1 n9	24.90	16.33	16.50
18:2 n6	56.67	12.83	1.52
18:3 n3	0.53	58.52	0.63
20:0	0.43	0.15	1.56
20:1 n9	0.27	0.12	ND
20:4 n6	ND ²⁾	0.04	2.41
20:5 n3	ND	ND	16.82
20:6 n3	ND	ND	19.27
Total n6 ³⁾	56.67	12.86	1.52
Total n3 ⁴⁾	0.53	58.52	36.09
P/S ratio ⁵⁾	4.07	7.29	2.89

- 1) CO : corn oil; PO : perilla oil; FO : tuna fish oil
- 2) ND : Not detected
- 3) Total n6=C18 : 2 n6+C20 : 2 n6+C20 : 3 n6+C20 : 4 n6
- 4) Total n3=C18 : 3 n3+C20 : 5 n3+C20 : 6 n3
- 5) P/S ratio=PUFA/SFA

용하여 gamma counter(Cobra 5000, Packard Co., USA)로 측정하였다.

뇌조직의 serotonin과 그 대사물질인 5-hydroxyindoleacetic acid(5-HIAA)의 분석은 Curzon과 Green²⁰⁾의 방법을 약간 수정하여 실행하였다. 뇌를 cold acidified n-butanol로 5배 희석하여 균질화한 후 15,000rpm에서 15분간 1차 원심분리하였다. 2.5ml 상층액에 5ml의 heptane과 1.5ml의 0.1N HCL 용액을 넣어 강렬히 교반시킨 후 2차 원심분리하여, 상층액은 5-HIAA 함량측정에 사용하였으며, 하층액은 serotonin함량 분석에 사용하였다. 5ml의 상층액에 2ml의 0.5M phosphate buffer(pH 7.0)를 넣고 교반한 후 1,500rpm에서 10분간 원심분리한 후, 1.0ml의 하층액에 0.1ml의 0.1M HCL(1% L-cysteine 함유)과 0.004% o-phthaldehyde(OPT) 용액을 넣고 교반시킨 후 10분간 100℃에서 가열한 뒤 찬물에서 냉각시켜 spectrofluorometer로 activation 355nm, emission

470nm(A355/E470nm)에서 측정하였다. 2차 원심분리에서 만들어 놓은 하층액 1ml에 0.1ml의 0.1M HCL(1% L-cysteine함유)과 0.004% OPT 용액을 넣고 교반한 후 10분간 100℃에서 가열 후, 찬물에서 냉각시켜 spectrofluorometer(A355/E470nm)로 측정하였다.

혈청 총지질의 지방산은 혈청 100μl에 heptadecenoic acid(C17:0) 20μg을 internal standard로 첨가하여 Fletcher²¹⁾ 등의 방법에 의하여 지질을 추출한 후 Lepage와 Roy²²⁾의 방법에 의하여 metylester화시켜 gas chromatography(HP gas chromatography 5890, Hewlett Packard Co., USA)로 분리하였다. 분석조건은 Fused Omegawax capillary collum (0.25mm ID, 30mm length, 0.25μ film thickness)를 이용하였고, column 온도는 205℃로 항온 유지하였으며, oven 온도는 200℃ 까지 매분당 0.2℃ 씩 증가시켰다. Helium유량은 매분당 1.6ml이었다. Injector 온도는 250℃를, detector 온도는 260℃를 유지하였다. 분리된 지방산의 동정은 표준지방산 (NuChek, Prep, Inc, Minnesota, USA)의 머무름 시간과 비교하여 확인하였으며, 상대적 비율로 계산하였다.

4. 자료의 처리 및 분석

연구의 모든 실험 분석 결과는 SPSS package를 이용하여 평균치와 표준오차를 구하였으며, 통계적 유의성 검증을 실행하였다.

식이지방산 조성 및 스트레스처리에 따른 요인의 효과

및 상호작용을 알아보기 위하여 이원 분산분석을 실행하였으며, 각 실험군간의 평균치 비교는 유의수준 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan의 다중검정법으로 시행하였다.

결 과

1. 체중과 장기에 미치는 영향

식이지방산 조성차이에 따른 각 실험군의 체중 및 장기 무게는 Table 3에 나타내었다. 식이공급전 평균 체중은 각 실험군간에 유의적인 차이가 없었으나, 실험시기를 4주간 공급 후 식이내 열량소 함유량이 동일한 수준이었음에도 불구하고 FO군의 체중은 다른 군에 비해 유의적으로 증가하였다. 이는 FO군의 식이섭취량 및 식이효율이 CO군과 PO군에 비해 유의적으로 컸기 때문이며 이 결과는 정등¹⁸⁾의 실험에서 옥수수유나 들깨유를 첨가한 실험군은 체중 증가가 있었으나 EPA를 15% 첨가한 군에서는 체중 감소가 있었다는 보고와는 상반된 결과로, 이는 아마도 본 연구에서는 n-6계 필수지방산을 FO군에 따로 공급한 반면, 정등의 실험에서는 어유 100%를 지방공급원으로 공급했기 때문인 것으로 생각해볼 수 있다. N-6계 필수지방산 결핍은 식이섭취량을 감소시켜 성장지연을 초래하였다는 결과는 많은 연구에서 보고된 바 있다^{23,24)}. 너는 각 실험군간에 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 부교환 지방과 간은 FO군이 다른 군에 비해 유의적으로 컸으며, 이는 FO군의 체중증가량 및 식이섭취량이 다른 실험식이군에 비해 높았기 때문인 것으로

Table 3. Effect of dietary fats on daily food intake, body weight gain, food efficiency ratio and organ weight

	Experimental groups		
	CO ¹⁾	PO	FO
Food intake (g/day)	12.55 ± 0.55 ^{a,2)}	12.41 ± 0.38 ^a	14.98 ± 0.64 ^b
Body Weight gain(g/day)	3.91 ± 0.23 ^a	3.70 ± 0.16 ^a	5.39 ± 0.29 ^b
F.E.R. ³⁾	0.31 ± 0.02 ^a	0.30 ± 0.01 ^a	0.37 ± 0.02 ^b
Brain (g)	1.69 ± 0.03	1.64 ± 0.0 ⁴	1.68 ± 0.04
Liver (g)	7.92 ± 0.38 ^a	7.49 ± 0.42 ^a	10.74 ± 0.65 ^b
E.F.P. ⁴⁾ (g)	1.85 ± 0.14 ^a	1.44 ± 0.14 ^a	2.86 ± 0.29 ^b

1) CO : corn oil; PO : perilla oil; FO : tuna fish oil

2) Values are means ± SEM. Means with different superscript letters within the same row are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test

3) FER : food efficiency ratio = body weight gain for a week(g)/food intake for a week(g)

4) EFP : epididymal fat pad

로 볼 수 있다.

2. 뇌의 serotonin 및 5-HIAA농도변화에 미치는 영향

뇌의 serotonin 및 5-HIAA농도는 Table 4에 나타난 바와 같이 식이지방산 조성의 차이 및 스트레스의 영향에 따른 유의성이 나타나지 않았으며, 이는 본 실험과 비슷한 조건인 3분간 한냉스트레스에 노출 후 20분 후에 희생시킨 쥐의 뇌 5-HIAA와 serotonin농도가 스트레스를 안 받은 대조군과 유의적인 차이가 없었다는 결과와 일치한다²⁵⁾.

3. 혈청내 corticosterone, 포도당 및 유리지방산의 농도변화

Table 4에 혈청내 corticosterone, 포도당, 유리지방산 농도변화를 나타내었다. 혈청내 corticosterone농도는 식이지방산 차이에 따른 유의적인 차이가 나타나 스트레스를 받지 않은 FO군의 corticosterone 농도가 매우 유의적으로 낮았다. 스트레스를 받은 후 corticosterone수준은 각 실험군 모두 유의적으로 증가하였고, FO군에서 증가율이 가장 컸기 때문에 세 실험식이 군간의 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 이 결과로 미루어 볼때 FO군이 스트레스를 더 받았음을 간접적으로 알 수 있다.

스트레스를 받기전 혈청내 유리지방산농도는 FO군이 유의적으로 낮았으며 같은 n-3계 지방산이라도 식물성 공급원인 들깨유를 섭취한 군이 가장 높았다. 스트레스는 유의하게 유리지방산을 증가시켰으나 스트레스를 받은 후 혈청내 유리지방산은 FO군이 가장 낮은 수준이었으며 이 결과는 corticosterone 변화경향과는 반대였다.

스트레스는 지방세포로부터 중성지방을 분해하므로써 에너지 대사에서 저장지방에 대한 의존도를 높이는 것으로 알려졌으나, 이러한 반응은 섭취한 지방산 조성차이에 따라 달리 나타나 CO군과 PO군이 FO군에 비해 저장 지방에 대한 의존도가 높았다. 유리지방산과는 달리 혈청내 중성지방의 함량은 각 실험군간에 유의적인 차이가 없었다.

스트레스를 받기전 혈청내 포도당 수준은 n-3계 지방산을 섭취한 PO군, FO군이 CO군 보다 유의적으로 낮았으며, 스트레스 후 혈당수준은 정상 범위이내 이긴 하나

FO군에서 가장 높았고, 식물성 n-3계인 PO군은 스트레스 후에도 변화가 없었다. 이 결과는 FO군의 유리지방산 수준이 가장 낮았기 때문이며, 스트레스를 받으면 혈청내 포도당과 유리지방산 농도는 반비례한다는 사실과도 부합된다²⁶⁾.

4. 혈청의 지방산 조성에 미치는 영향

Table 5에 각 실험군의 혈청 지방산 조성의 평균값 및 각 지방산의 총합계를 나타내었다. 식이중 palmitoleic acid와 myristic acid함량이 많았던 FO군에서 이 지방산들의 함량비율이 높았으며, 스트레스에 의해서도 유의적으로 증가하였다. Oleic acid 함량비율은 FO군이 가장 높았으며, 스트레스는 PO군의 oleic acid 함량 비율을 증가시키는 경향으로 나타났다. 식이내 oleic acid 함량은 어유와 들깨유에서 차이가 없었으나, 4주간 식이 섭취후 FO군에서 유의적으로 증가했음은 palmitic acid로부터 stearic acid를 거쳐 상당량이 oleic acid로 전환되었음을 의미한다. N-6계 지방산은 CO군이 제일 높았으며, PO군, FO군 순으로 낮았고, 반면 n-3계 지방산은 FO군, PO군이 유의적으로 높았다. 이는 식이내 지방산조성이 혈액내 지방산 조성에 영향을 주었음을 의미하며, 식이지방이 혈액내 지방산 조성변화를 초래하였다는 선행연구 결과들과 일치하였다^{27,28,29)}.

포화지방산과 단일 불포화지방산을 합한 값을 나타내는 non-PUFA는 FO군에서 유의적으로 높았으며, PUFA의 함량비율은 낮았다. PUFA의 함량은 스트레스에 노출되면 감소하여, PO군 및 FO군에서 유의하게 감소하였으며 FO군이 가장 낮았다. 따라서 PUFA/non-PUFA 비율은 FO군이 유의적으로 낮았으며, 스트레스는 이 비율을 더 감소시키는 결과를 보였다. 16:1 n7/18:2 n6 함량비율은 필수지방산 영양상태를 판단하는 지표로 사용되었으며, 이 비율이 증가하거나, palmitoleic acid(16:1 n7)가 증가하면 n-6계 필수지방산 결핍으로 보고된 바있다³⁾. FO군에서 이 비율이 유의적으로 증가했으며, 식이지방 조성의 차이 뿐 아니라 스트레스도 통계적으로 유의하게 이 비율을 증가시키는 효과가 나타나 따라서 스트레스를 받은 FO군이 제일 높았다.

위 결과를 살펴보면 혈청의 지방산 조성은 섭취한 식

Table 4. The effects of dietary fats and stress on the concentration of serotonin, 5-hydroxyindoleacetic acid(5-HIAA), corticosterone, and energy substrates

	No stress				Stress				ANOVA ^{d)}	
	CO ¹⁾	PO	FO	CO	PO	FO	Diets (D)	Stress (S)	Interaction (D×S)	
Serotonin (ug/g brain)	0.51 ± 0.03 ²⁾	0.51 ± 0.02	0.47 ± 0.04	0.55 ± 0.05	0.47 ± 0.03	0.51 ± 0.04	ns	ns	ns	
5-HIAA (ug/g brain)	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.15 ± 0.01	ns	ns	ns	
Corticosterone (ng/ml blood)	208.46 ± 27.99 ^{b)}	245.53 ± 39.32 ^{b)}	78.33 ± 12.14 ^{a)}	471.76 ± 53.61 ^{c)}	492.63 ± 35.25 ^{c)}	559.26 ± 66.82 ^{c)}	*	**	*	
NEFA ³⁾ (mEq/L blood)	0.47 ± 0.08 ^{ab)}	0.67 ± 0.08 ^{b)}	0.38 ± 0.06 ^{a)}	0.82 ± 0.10 ^{c)}	0.86 ± 0.06 ^{c)}	0.65 ± 0.10 ^{b)}	*	**	ns	
Glucose (mg/dl blood)	110.5 ± 08.93 ^{bc)}	91.89 ± 6.61 ^{a)}	98.51 ± 7.15 ^{a)}	126.30 ± 9.09 ^{bc)}	99.92 ± 12.06 ^{ab)}	128.85 ± 7.64 ^{c)}	*	*	ns	
Triglycerides (mg/dl blood)	73.91 ± 6.66	73.11 ± 6.56	83.92 ± 13.81	75.54 ± 6.91	77.44 ± 6.06	75.67 ± 10.28	ns	ns	ns	

1) CO: corn oil; PO: perilla oil; FO: tuna fish oil
 2) Values are means ± SEM. Means with different superscript letters within the same row are significantly different by Duncan's multiple range test (p < 0.05)
 3) NEFA: non-esterified fatty acid
 4) Statistical significance was calculated at the α=0.05 level by 2-way analysis of variance.
 D : effect of dietary fat ; S : effect of stress ; D×S : interaction between dietary fat and stress ; *p<0.05 ; **p<0.01 ; ns, non significant

Table 5. The effects of dietary fats and stress on composition of serum fatty acids in rats

fatty acid	ANOVA ¹⁾							Interaction (D×S)
	No. stress			Stress				
	CO ¹⁾	PO	FO	CO	PO	FO	Diets (D)	Stress (S)
14:0	0.37±0.03 ^{a,2)}	0.42±0.03 ^a	0.65±0.05 ^b	0.47±0.06 ^a	0.69±0.08 ^b	0.73±0.06 ^b	**	**
16:0	17.54±0.54 ^a	17.29±0.44 ^a	19.96±0.24 ^b	17.23±0.49 ^a	18.85±0.45 ^{ab}	19.73±0.62 ^b	**	ns
16:1 n7	0.65±0.10 ^a	0.85±0.07 ^a	1.95±0.04 ^{bc}	1.05±0.19 ^a	1.20±0.04 ^{ab}	2.25±0.60 ^c	**	*
18:0	11.41±0.64 ^b	11.94±0.36 ^b	9.45±0.50 ^{ab}	12.34±0.40 ^b	11.17±0.66 ^b	9.20±0.41 ^a	**	ns
18:1 n9	9.74±0.69 ^{ab}	8.96±0.37 ^a	11.03±0.44 ^{bc}	8.78±0.12 ^a	10.80±0.57 ^{bc}	11.91±0.40 ^c	**	ns
18:2 n6	24.54±1.25 ^b	24.08±0.65 ^b	21.00±0.60 ^a	21.06±1.07 ^a	23.35±1.26 ^b	20.78±0.99 ^a	**	ns
18:3 n3	0.14±0.01 ^a	4.31±0.40 ^b	0.21±0.02 ^a	0.11±0.01 ^a	4.51±1.11 ^b	0.27±0.07 ^a	**	ns
20:4 n6	27.55±1.45 ^c	19.89±1.60 ^b	11.79±0.84 ^a	30.76±0.59 ^c	16.62±1.81 ^b	11.71±0.59 ^a	**	*
20:5 n3	0.05±0.01 ^a	2.66±0.27 ^b	8.17±0.49 ^c	0.11±0.06 ^a	1.76±0.35 ^b	6.84±0.68 ^c	**	*
22:6 n3	1.02±0.13 ^a	2.22±0.33 ^a	8.43±0.39 ^b	1.09±0.10 ^a	1.91±0.33 ^a	7.52±0.91 ^b	**	ns
18:1n7/18:2n6	0.03±0.004 ^a	0.04±0.003 ^{ab}	0.09±0.005 ^c	0.05±0.01 ^b	0.05±0.002 ^{ab}	0.10±0.01 ^c	**	*
MUFA ³⁾	10.81±0.70 ^{ab}	10.34±0.41 ^a	13.68±0.57 ^{cd}	10.23±0.24 ^a	12.36±0.59 ^{bc}	14.46±0.53 ^d	**	ns
SFA	31.38±0.72	31.59±0.32	31.49±0.53	32.06±0.53	32.31±0.78	31.38±0.69	ns	ns
PUFA	53.93±0.57 ^b	53.22±0.75 ^b	50.17±0.39 ^a	53.64±0.66 ^b	50.77±0.83 ^a	48.57±0.95 ^a	**	*
Non-PUFA	42.18±0.66 ^a	41.93±0.54 ^a	45.18±0.24 ^b	42.29±0.69 ^a	44.67±0.49 ^b	45.85±0.95 ^b	**	*
PUFA/Non-PUFA	1.28±0.03 ^c	1.27±0.03 ^c	1.11±0.11 ^{ab}	1.28±0.04 ^c	1.14±0.03 ^b	1.02±0.02 ^a	**	*
P/S ratio	1.73±0.05 ^b	1.69±0.04 ^a	1.60±0.02 ^a	1.68±0.05 ^a	1.58±0.06 ^a	1.56±0.02 ^a	*	ns
n6/n3 ratio	43.72±7.11 ^b	5.50±0.57 ^a	2.02±0.11 ^a	42.36±5.20 ^b	4.38±0.38 ^a	2.20±0.20 ^a	**	ns

1) CO : corn oil ; PO : perilla oil ; FO : tuna fish oil

2) Values are means±SEM. Means with different superscript letters within the same row are significantly different by Duncan's multiple range test (p < 0.05)

3) Abbreviations : MUFA : Monounsaturated fatty acid ; SFA : saturated fatty acid ; Non-PUFA : all saturated and fatty acids of families n7 and n9=SFA+MUFA

4) Statistical significance was calculated at the α=0.05 level by 2-way analysis of variance

D : effect of dietary fats ; S : effect of stress ; D×S : interaction between dietary fats and stress ; *P < 0.05 ; **P < 0.01 ; ns, non significant

이의 지방산 조성의 영향을 받는 것으로 나타났으며, 스트레스도 영향을 미칠 수 있음을 알 수 있다. 본 연구에서 분석한 혈청내 지방산 조성은 식이내 지방조성을 어유 9%+옥수수유 1%로 하여 어미쥐에게 공급하고 혈청내 지방산 조성을 분석한 황²⁹⁾등의 연구에 제시되었던 지방산 조성비율과 비슷하였다.

고 찰

많은 연구에서 스트레스가 성인병 유발과 밀접한 관계가 있으며^{10,11,30,31)}, 식이조성에 따라 스트레스반응이 다르게 나타난다고 보고되었다^{15,16,19)}. 식이내 영양소의 변화가 스트레스 반응에 미치는 영향은 포도당과 corticosterone 농도변화를 지표로 하여 제시되고 있으며, corticosterone의 변화는 간의 탄수화물 대사에 영향을 주어 간으로부터 혈액으로 포도당 분비를 증가시켜 일시적인 고혈당증을 초래한다³¹⁾. Glucocorticoid와 catecholamine은 체지방으로 부터 지방분해를 촉진하며 이 반응은 고탄수화물식이보다 고지방식에서 큰 것으로 보고된 바 있으며^{16,17)}, 식이내 지방산 조성의 차이에서 오는 변화는 보고된 바 없다. 본 실험 결과 식이지방산 조성의 차이도 스트레스로 인한 생체의 반응에 영향을 줄 수 있음이 나타났다. Corticosterone 농도변화를 지표로 하여 분석하였을 때, FO군의 증가율이 유의적으로 커 스트레스를 가장 많이 받았음을 간접적으로 알 수 있다. 스트레스로 인해 증가된 corticosterone 반응은 뇌의 신경전달물질 대사 변화에 의해 조절되는 것으로 보고된 바 있으나 본 연구에서 사용된 쥐의 serotonin 대사는 식이지방의 차이나 스트레스로 인한 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 스트레스로 인한 뇌의 serotonin의 변화는 일치된 결과가 없어, Muller등³²⁾과 Culman³³⁾등의 연구에서는 증가하였고, Morgan등³⁴⁾은 변화가 없었으며, Curzon⁴⁵⁾과 Knott등³⁶⁾은 감소하였다고 보고한 바 있다. 이러한 차이는 스트레스를 주는 방법, 스트레스 지속기간이 달랐던 것에 기인하며, 본 실험에서 사용한 2분간의 한냉스트레스도 지속기간이 짧아 serotonin 대사에 대한 영향이 나타나지 않았을 가능성도 제시해 볼 수 있다. Lawson¹⁷⁾등은 체내 지방대사

변화가 부신의 스트레스에 대한 민감도를 변화시켜 glucocorticoid분비에 영향을 준다고 보고하고 있다.

혈액내 glucocorticoid는 postabsorptive 상태의 basal 수준에서 포도당 신생작용과 체지방분해를 촉진시키는 glucagon의 기능을 상승시키는 기능이 있으며³⁷⁾, 스트레스에 노출되면 부신으로부터 glucocorticoid 분비를 증가시키므로써 단백질 이화작용과 포도당 신생작용을 증가시키며, 체지방조직으로 부터 중성지방 분해를 자극한다³⁸⁾. Table 4에 나타난 바와 같이 스트레스를 받지 않은 상태에서 FO군의 corticosterone 농도가 유의적으로 낮았음은, 지금까지 보고되었던 어유가 생체의 당질대사 및 지질대사에 미쳤던 영향에 corticosterone이 관여하고 있음을 시사한다. 그러나, 스트레스로 인한 corticosterone상승은 혈청내 유리지방산 및 포도당을 증가시켰음에도 불구하고 식이지방산의 영향으로 혈청내 유리지방산증가는 FO군에서 가장 낮았으며, CO군과 PO군은 유의적인 차이가 없었다. 이는 어유섭취가 지방조직으로 부터 중성지방 분해를 감소시켰기 때문인 것으로 생각되며, 스트레스에 노출되었을 때에도 같은 효과를 내는 것으로 나타났다. 또한 식물성 n-3계인 들깨유의 섭취는 동물성 n-3계인 어유섭취와는 달리 스트레스로 인한 혈청내 유리지방산 상승을 억제시키는 효과가 나타나지 않았음은 동물성 n-3계인 MaxEPA의 혈청지질 개선 효과가 식물성 n-3계인 linseed oil보다 더 효과적이었다는 Sanders등³⁹⁾의 연구 보고와도 일치한다. 이 결과는 어유의 섭취가 스트레스로 인한 체내 에너지대사 변화에 유익할 가능성을 시사하고 있다. 스트레스로 인한 유리지방산의 상승은 근육의 glycogen synthase 활성을 감소시키므로써 포도당 유입을 억제시키며⁴⁰⁾, insulin sensitivity 의 감퇴를 초래하며⁴¹⁾, lipoprotein lipase 활성을 억제하여 혈액내 중성지방을 상승시키며, 심혈관계 질환자의 심근경색을 유발시킨다고 보고되어 왔다¹⁰⁾. VLDL 기질로 사용되는 유리지방산 수준이 CO군과 PO군에 비해 FO군에서 감소하였고 스트레스를 받은 후에도 유의적으로 낮았음은 스트레스를 받는 상황에서도 어유 섭취가 간에서의 중성지방 합성을 저하시키는 효과가 있으리라 기대된다. 따라서 어유의 섭취는 정상 조건 뿐 아니라 스트레스를

받는 상황에서 체지방의 중성지방 분해를 억제함으로써 혈액으로의 유리지방산을 낮추어 결과적으로 스트레스로 인한 심혈관계 질환 유발 억제 효과를 나타내리라 사려된다.

GC를 이용한 지방산 분석은 혈액내 지방분획의 지방산의 상대적 비율을 나타내는 것을 가능케 하며, 개개의 지방산의 상대적 비율이 세포로 필수지방산 및 다른 지방산의 공급을 결정하는 데 있어서 그 주요한 의미를 내포한다. 2분간의 한냉스트레스는 Table 5에 나타난 바와 같이 혈청내의 필수지방산 조성 비율의 변화를 초래해 palmitoleic acid (C16:1 n7) 함량 증가, PUFA/nonPUFA 비율 감소, C16:1, n7/C18:2 n6 비율이 증가되었으며, PO군과 FO군이 CO군에 비해 필수지방산 수준이 감소하였다. 이는 n-3계 식이지방의 필수지방산 함량이 낮아 옥수수유 첨가하므로써 필수지방산을 추가로 공급하였음에도 불구하고 스트레스를 받으면 필수지방산 수준이 더욱 감소하는 것으로 나타났다. 스트레스를 받으면 생체에서는 신경전달물질, catecholamines, 호르몬 분비⁴²⁾ 및 에너지대사물 이동⁴³⁾ 등 세포막을 통한 물질의 이동이 증가하며, 물질의 이동은 세포막의 유동성에 의해 조절된다^{5,6)}고 보고되고 있다. 스트레스로 인한 혈청내 필수지방산의 상대적 감소가 고도불포화지방산의 hyperutilization에 의한 것인지는 본 연구에서 밝혀지진 않았으나, 스트레스를 받으면 세포막의 유동성을 유지하기 위해 세포막으로 고도불포화지방산의 유입이 증가되며 이로 인해 혈청내 필수지방산의 상대적 감소가 나타났을 가능성을 제시하고 있다.

결론적으로 본 실험과 선행연구의 결과는 식이 지방요인과 스트레스는 상호작용을 하며, 어유의 혈액내 지질대사를 혈액내 유리지방산 유입을 억제시킴으로서 개선하며 스트레스로 인해 유발될 수 있는 성인병유발을 지연시키는 데 기여할 가능성을 제시한다. 또한 스트레스는 정상상태보다 필수지방산 요구량이 증가하고, 특히 n-3계 지방산 섭취가 증가하면 n-6계 필수지방산의 요구량이 증가될 가능성을 제시하므로, 따라서 스트레스를 받을 때 n-6계/n-3계 지방산의 적절한 섭취 비율에 대한 연구가 더 필요하다.

요약 및 결론

본 연구에서는 불포화지방산 조성이 다른 식이지방의 섭취가 스트레스로 인해 나타나는 스트레스 반응도, 혈당, 혈청내 유리지방산 농도의 변화 및 혈청내 지방산 조성에 미치는 영향을 조사하였다. 실험식이(옥수수유, 들깨유, 참치유)로 4주간 사육한 수컷 SD계 흰쥐를 3시간 절식 후 2분간 원형수조에서 한냉스트레스에 노출시키고 20분 후 희생시킨 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) FO군의 식이섭취량이 CO군과 PO군에 비해 유의적으로 컸기 때문에 평균체중증가량이 가장 높았으며 따라서 식이효율도 FO군이 가장 높았다.
- 2) 뇌의 serotonin 및 5-HIAA 함량은 식이지방과 스트레스에 의한 영향을 받지 않았다.
- 3) 혈청내 corticosterone의 농도는 FO군이 CO군과 PO군에 비해 유의적으로 낮았으며, 스트레스를 받은 후 corticosterone 농도는 세 실험식이군에서 모두 유의적으로 증가했지만 그 증가율은 FO군에서 가장 높아 식이지방에 의한 효과가 상쇄되었다.
- 4) 스트레스를 받기전 혈청내 유리지방산 농도는 FO군이 유의적으로 낮았으며, 스트레스를 받은 후에도 CO군과 PO군에 비해 가장 낮은 수준이었다. 스트레스나 식이지방이 혈청내 중성지방농도에 미치는 영향은 관찰되지 않았다.
- 5) 스트레스에 노출되기 전 혈당은 FO군, PO군에서 유의하게 낮았으며, 스트레스에 노출되면 정상 범위 었기는 하나, 혈청의 포도당 수준이 증가하였다.
- 6) 혈청내 지방산 조성은 식이내 지방산 조성의 영향이 유의적인 것으로 나타나 n-3계 지방산 수준은 FO군과 PO군이 높았고, n-6계 지방산 수준은 CO군이 가장 높았다.

스트레스는 필수지방산인 고도불포화 지방산 수준을 유의적으로 감소시켰다.

위의 결과로 볼 때 어유의 섭취는 정상상태뿐 아니라 스트레스에 노출되었을 때도 혈액으로 유리지방산 유입을 억제시키는 유익한 효과를 보인 반면 같은 n-3계이나 식물성인 들깨유는 그 효과가 나타나지 않았다. 그러나 스트레스를 받으면 n-3계 지방산을 섭취한 실험군에서

정상일 때 보다 혈청내 필수지방산 수준이 감소하였으므로 스트레스로 인한 n-6계 필수지방산요구량의 증가 가능성이 제시한다.

Literature cited

- 1) 허갑범. 영양과 관련된 질환의 현황과 대책. 한국영양학회지 23 : 197-207, 1990
- 2) Kromhout D. Dietary Fats : Long-term implications for health. *Nutr Rev* 50 : 49-53, 1992
- 3) Siguel EN, Lerman RH. Altered fatty acid metabolism in patients with angiographically documented coronary artery disease. *Metabolism* 43 : 982-993, 1994
- 4) Miettinen TA, Naukkarinen V, Huttunen JK. Fatty acid composition of serum lipids predicts myocardial infarction. *Br Med J* 285 : 993-996, 1982
- 5) Berdancier CD. Role of membrane lipids in metabolic regulation. *Nutr Rev* 46 : 145-149, 1988
- 6) Siguel EN. Cancerostatic effect of vegetable diets. *Nutr Cancer* 4 : 285-289, 1983
- 7) Horrobin DF. The regulation of prostaglandin biosynthesis by the manipulation of essential fatty acid metabolism. *Rev Pure Appl Pharmacol Sci* 4 : 339-383, 1983
- 8) Siguel EN, Schaefer EJ. Aging and nutritional requirements of essential fatty acid. In : Berae J ed. Dietary fats, pp. 163-189, American Oil Chemists Society, Champaign IL, 1989
- 9) Elwyn DH. Nutritional requirements of adult surgical patients. *Crit Care Med* 8 : 9-20, 1980
- 10) Kissebah AH. Stress hormones and lipid metabolism. *Proc R Soc Med* 67 : 665-667, 1974
- 11) Gittleman B, Shatin L, Bierenbaum ML, Fleishman AI, Hayton T. Effects of quantified stressful stimuli on blood lipids in man. *J Nutr Ment Dis* 147 : 196-201, 1968
- 12) Paris JM, Lerens SA, Van de Kar LD, Urban JH, Richardson MKD, Bethea CL. A comparison of acute stress paradigms : Hormonal responses and hypothalamic serotonin. *Physiol Behavior* 39 : 33-43, 1987
- 13) Yahata T, Murazum K, Kuroshima A. Stress and cold-induced adrenocortical responses in repeatedly immobilized or cold acclimated rats. *Can J Physiol Pharmacol* 65 : 102-108, 1987
- 14) Corrodi H, Fuxe K, Hokfelt T. The effect of immobilization stress on the activity of central monoaminergic neurons. *Life Sci* 7 : 107-112, 1968
- 15) 서경원 · 김혜리. 고 트립토판 식이를 섭취한 마우스에서 immobilization 스트레스로 인한 면역변조와 serotonin 대사의 변화에 대한 연구. 한국영양학회지 27 : 153-161, 1994
- 16) Brindley DN, Cooling J, Glennly HP, Burditt SL, Mckechnie IS. Effects of chronic modification of dietary fat and carbohydrate on the insulin, corticosterone and metabolic responses of rats fed acutely with glucose, fructose or ethanol. *Biochem J* 200 : 275-283, 1981
- 17) Lawson N, Jennings RJ, Pollard AD, Sturton RG, Ralph SJ, Marsden CA, Fears R, Brindley DN. Effects of chronic modification of dietary fat and carbohydrates in rats. *Biochem J* 200 : 265-273, 1981
- 18) 정영진 · 박정숙 · 박화진 · 장유영. 어유의 Eicosa-pentaenoic acid의 식이섭취가 성숙쥐의 혈청 및 간의 지질조성에 미치는 영향. 한국영양학회지 27 : 537-551, 1994
- 19) Pascoe WS, Smythe GA, Storlien LH. Enhanced responses to stress induced by fat feeding in rats : Relationship between hypothalamic norepinephrine and blood glucose. *Brain Res* 550 : 192-196, 1991
- 20) Curzon G, Green A. Rapid method for the determination of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in small regions of rat brain. *Br J Pharmacol Chemother* 50 : 653-655, 1970
- 21) Fletcher DL, Britton WM, Cason JA. A comparison of various procedures for determining total yolk lipid content. *Poultry Sci* 63 : 1759-1763, 1984
- 22) Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 27 : 112-120, 1986
- 23) Alling C, Bruce A, Karlson I, Svennerholm L. The effect of different dietary levels of essential fatty acids on growth of the rat. *Nutr Metabol* 16 : 38-

- 50, 1974
- 24) Rafael J, Patzelt J, Schafer H, Elmadfa I. The effect of essential fatty acid deficiency on basal respiration and function of liver mitochondria in rats. *J Nutr* 114 : 255-262, 1984
 - 25) De Souza EB, Van Loon GR. Brain serotonin and catecholamine responses to repeated stress in rats. *Brain Res* 367 : 77-86, 1986
 - 26) Newsholme EA, Calder P, Yaqoob P. The regulatory, informational, and immunomodulatory roles of fat fuels. *Am J Clin Nutr* 57(suppl) : 738S-751S, 1993
 - 27) Houwelingen ACV, Kester ADM, Kromhout D, Hornstra G. Comparison between habitual intake of polyunsaturated fatty acids and their concentrations in serum lipid fraction. *Eur J Clin Nutr* 43 : 11-20, 1989
 - 28) Harris WS. Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans : A critical review. *J lipid Res* 30 : 785-807, 1989
 - 29) 황혜진 · 정은정 · 이종호 · 지규만 · 이양자. ω 3계 및 ω 6계 지방산 식이가 흰쥐의 모유와 혈청의 지방산 성분 및 비타민 E 수준에 미치는 영향. 한국영양학회지 27 : 141-152, 1994
 - 30) Surwit RS, Scovern AW, Feinglos MN. The role of behavior in diabetes care. *Diabetes care* 5 : 337-342, 1982
 - 31) Bruce DG, Chisholm DJ, Storlien LH, Kraegen EW, Smythe GA. The effects of sympathetic nervous system activation and psychological stress on glucose metabolism and blood pressure in subjects with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 35 : 835-843, 1992
 - 32) Muller GP, Twohy CP, Chen HT, Advis JP, Meites J. Effects of L-tryptophan and restraint stress on hypothalamic and serotonin turnover and pituitary TSH and prolactin release in rats. *Life Sci* 18 : 715-724, 1976
 - 33) Culman J, Kvetnansky R, Kiss A, Mezey E, Murgas K. Interaction of serotonin and catecholamines in individual brain nuclei in adrenocortical activity regulation during stress. In Usdin E, Kvetnansky R, Kopin IJ, ed. Catecholamines and stress : Recent advances, pp69-74, Elsevier/Norton-Holland, New York, 1980
 - 34) Morgan WW, Rudeen PK, Pfeil KA. Effect of immobilization stress on serotonin content and turnover in regions of the rat brain. *Life Sci* 17 : 143-150, 1975
 - 35) Curzon G. Effect of adrenal hormones and stress on brain serotonin. *Am J Clin Nutr* 24 : 830-834, 1971
 - 36) Knott PJ, Joseph MH, Curzon G. Effects of food deprivation and immobilization on tryptophan and other amino acids in rat brain. *J Neurochem* 20 : 249-251, 1973
 - 37) Chan TM. The permissive effects of glucocorticoid on hepatic gluconeogenesis. *Biol Chem* 259 : 7426-7432, 1984
 - 38) Gelfand RA, Matthews DE, Bier DM. Role of counterregulatory hormones in the catabolic response to stress. *Clin Invest* 74 : 2238-2248, 1984
 - 39) Sanders T, Roshnai F. The influence of different type of ω -3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clin Sci* 64 : 91-99, 1983
 - 40) Argyraki M, Wright PD, Venables CW. In vitro study of human skeletal muscle strips : Effect of non-esterified fatty acid supply on glucose storage. *Metabolism* 38 : 1183-1187, 1989
 - 41) Walker, Agius L, Orskiv H, Alberti K G M M. Peripheral and hepatic insulin sensitivity in non-insulin-dependent diabetes mellitus : Effect of nonesterified fatty acids. *Metabolism* 42 : 601-608, 1993
 - 42) Torrelas S, Guaza Borrel J, Borrel S. Adrenal hormones and brain catecholamines response to morning and afternoon immobilization stress in rats. *Physiol Behav* 26 : 129-133, 1981