

## N-6와 n-3 지방산이 풍부한 식이가 뇌졸중 유발 모델에서 뇌경색 크기 및 항산화 효소계에 미치는 영향\*

이희주,<sup>1)</sup> 박경애,<sup>2)</sup> 박명숙,<sup>1)</sup> 이정희,<sup>1)</sup> 전상은,<sup>1)</sup> 최명애,<sup>1)</sup> 최스미<sup>1)</sup>

- Abstract -

Key Words : n-6(corn oil), n-3(fish oil), infarction volume, DHA, AA, DHA/AA ratio, CAT,  
Cu/Zn SOD, GPx, rat focal brain ischemia model

### Neuroprotective & antioxidant effects of diets high in n-6 and n-3 fatty acids in rat focal brain ischemia model

Lee, Hee Joo,<sup>1)</sup> Park, Kyoung Ae,<sup>2)</sup> Park, Myoung Sook,<sup>1)</sup> Lee, Joung Hee,<sup>1)</sup>  
Cheon, Sang Eun,<sup>1)</sup> Cho, Myoung Ae<sup>1)</sup> and Choi, Smi<sup>1)</sup>

This study was undertaken to investigate the effects of n-6(corn oil) & n-3(fish oil) fatty acids on infarction size and the cerebral activities of antioxidant enzyme in rat focal brain ischemia model. Weaning Sprague-Dawley rats were fed with either corn oil supplemented diet(COD, 14% corn oil) or fish oil supplemented diet(FOD, 14% menhaden oil) for 6 weeks. The right middle cerebral artery was occluded for 2 hours with a silicon rubber coated nylon surgical thread. After 24 hours of recirculation, the rats were sacrificed and brain sections were photographed using CCD camera after staining with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride for 60 minutes in room temperature. The infarcted area was measured and the volume of infarction was calculated. Catalase(CAT), superoxide dismutase(SOD) activities, and fatty acid composition in the brain were also measured.

\* Acknowledgement : 본 연구는 BK 21 핵심분야 "뇌졸중 후 회복촉진 방안 개발"에 관한 연구의 일환으로 수행되었음

1) College of Nursing, Seoul National University

2) Department of Food Science, KaYa University

The total and corrected infarction volumes were not significantly different between FOD and COD group. The docosahexaenoic acid(DHA) and DHA content/arachidonic acid(AA) ratio of the cerebral cortex, an index of defense against lipid oxidation, were significantly increased in FOD group compared to those of COD group( $p < 0.05$ ). In the left cortex(non-infarction side) as well as the right cortex(infarction side) of FOD group, CAT and Cu/Zn SOD activities were higher than those of the COD group( $p < 0.05$ ). However, CAT and Cu/Zn SOD activities were not significantly different between the left cortex(non-infarction side) and the right cortex(infarction side) of both FOD and COD group. GPx activities were also not significantly different between two groups.

Our results demonstrate that the brain infarction size in FOD and COD were not significantly different. However, cerebral lipid composition and antioxidant enzyme activities in FOD and COD group were different. Fish oil, a source of n-3 polyunsaturated fatty acid(PUFA) and corn oil, that of n-6(PUFA) may have a protective effect against oxidative stress induced via different mechanisms.

## 서 론

뇌졸중은 뇌혈관의 손상으로 뇌 기능 장애를 유발하며, 뇌출혈, 뇌경색 등의 뇌혈관 질환을 총칭하는데(이대희, 1998), 우리나라에서는 1999년 뇌혈관질환으로 사망한 사람이 100,000명당 72.9명으로 사망원인 1위를 차지한 질환이다(통계청, 1999). 뇌허혈 후 산소 재관류(perfusion)시 발생하는 반응성 산소종(reactive oxygen species : ROS)은 지질과산화반응과 단백질의 산화 및 직접적인 DNA 손상을 일으켜 뇌손상을 가속화시킬 수 있다(Braugler & Hall, 1989 ; Li, Chopp, Jiang, Zhang & Zaliga, 1995 ; Fellman & Raivio, 1997).

생물학적 반응으로 생성된 자유산소기를 제거시켜 생체를 보호하는 생리적 항산화 효소에는 superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GPx) 등이 있으며, 저분자로서 항산화제 또는 자유산소기 제거 역할을 하는 Glutathione(GSH)이 있다(Borrello et al., 1984). 뇌조직은 체내 다른 조직에 비해 많은 지방조직을 많이 함유하고 있고 활성산소와 지질과산화물을

제거할 수 있는 CAT, SOD, GPx 등의 항산화 효소의 활성도와 GSH 함량이 상대적으로 낮으며(Sinet, Hikkilia & Cohen, 1980), 높은 비율로 산소를 소비하는 작용으로 인하여 산화적 손상과 허혈에 특히 취약한 조직이다(Zaleska & Floyd, 1975 ; Sokoloff, 1977 ; Agranoff, 1984 ; Hill & Swizer, 1984).

뇌에 존재하는 구조 지방인 인지질은 대부분 다가 불포화 지방산(Polyunsaturated fatty acids : PUFA)인 DHA(Docosahexaenoic acid,  $C_{22-6}$  ; n-3)와 AA(Arachidonic acid,  $C_{20-4}$  ; n-6)로 이루어져 있다(Tahin, Blum & Carafoli, 1981). 최근 필수 지방산인 linoleic acid(n-6 : LA)와  $\alpha$ -linolenic acid(n-3 : LnA), 그리고 이들의 대사산물인 AA와 DHA 같은 다가 불포화지방산의 항산화 작용이 보고되어 이들의 뇌손상 보호 효과에 대한 관심이 증가되었다(Simopoulos, 1991).

어유와 등푸른 생선에 풍부하게 함유되어 있는 DHA와 EPA(Eicosapentaenoic acid,  $C_{20-5}$  ; n-3)의 심혈관계에 대한 보호 효과가 반복적으로 보고된 반면(Dyerberg & Bong, 1979 ; Okada et al.,

1996 ; Shahdat, Michi & Surnio, 1998), AA를 많이 함유하고 있는 옥수수유가 심혈관계에 미치는 효과는, 옥수수유가 PUFA의 비율이 커서(59%) 혈중 콜레스테롤 수치를 낮추어 심장에 보호효과(Dupont, et al., 1990)가 있음이 보고되기도 하였으나, 반면 그 반대의 효과(Kingsley & Snyder, 1988 ; Laganriere, Yu & Fetnandes, 1990 ; Paulson, Smith, Zhao & Bowman, 1992)가 보고되는 등 상반된 결과를 보이고 있다.

이와 같이 동양과 서양 모두 가장 많이 섭취하는, n-6 계열 지방산으로서 AA의 전구체가 되는 LA를 많이 포함하고 있는 옥수수유가 뇌손상 후 어떤 효과를 나타내는지에 대한 연구는 상당히 미비한 실정이다. 그러므로 한국인의 식생활에서 많이 사용되는 옥수수유가 뇌졸중 후 뇌손상의 크기에 미치는 영향과 그 기전을 조사할 필요가 있다.

따라서, 본 연구는 뇌 허혈 후 재관류시 자유산소기 생성에 의한 뇌 손상을 감소시킬 수 있는 방안을 알아보기 위해 시행되었다. 옥수수유 보충 식이가 뇌손상 보호 작용에 어떤 영향을 미치는지 어유 보충 식이와 비교 분석하고, 항산화 효소의 변화를 살펴보고자 하였다.

## 연구대상 및 방법

### 1. 실험동물 사육과 식이

각 군별 생후 4주령 수컷 Sprague-Dawley 랫드를 대한실험동물센터로부터 구입하여 AIN 93G purified rodent diet base(미국 Dyets사)를 기초로 사료를 제작하였다. 식이의 단위 무게당 차지하는 백분율(%)을 기준으로 하고, 식이 지방함량을 정상 식이의 2배인 14%(Weight/Weight)로 옥수수유(Corn oil : COD군)와 청어유(Menhaden oil : FOD군)를 각각 첨가시킨 Modified AIN 93G purified rodent diet(미국 Dyets사, Table 1)를 식이로 제공하였으며, 각 군에 25마리씩 두 그룹으로 나누어 6주간 사육하였다.  $\gamma$ -방사선으로 멸균 조사한 후, 산화를 방지하기 위해 냉동고에 보관

하면서(-70℃) 음수와 함께 공급하였다. 사육실의 환경은 온도는  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도는  $55 \pm 10\%$ , 조명은 12시간 간격으로(7:00~19:00) 밝음과 어두움을 조절하였다. 각 군의 25마리 중 뇌허혈 모델 수술과정에서 사망한 실험동물을 제외한 동물을 대상으로 뇌경색 크기 측정을 위해 COD 군에 12마리, FOD군에 10마리를 배정하였고, 효소 측정과 뇌내

Table 1. Composition of diet

Ingredient	grams/kilogram
High nitrogen casein	200.
Sucrose	90.
Menhaden oil	140.
Safflower oil	10.
t-Butylhydroquinone	0.03
Corn starch	327.47
Dyetrose	132.
Cellulose	50.
Vitamin Mix <sup>1</sup>	10.
Salt Mix <sup>2</sup>	35.
L-Cytine	3.
Choline Bitartrate	2.5

<sup>1</sup>Nutritional Biochemicals, ICN Life Science Group, Cleveland, Ohio. Vitamin mixture is composed of: Vit.A Acetate(500,000 IU/g) 1.8g, Vit.D<sub>2</sub>(850,000 IU/g) 0.125g, DL- $\alpha$ -Tocopherol(250 IU/g) 22.0g, Ascorbic acid 45.0g, Inositol 5.9g, Choline chloride 75.0g, Menadione 2.25g, p-Aminobenzoic acid 5.0g, Niacin 4.25g, Riboflavin 1.0g, Pyridoxine hydrochloride 1.0g, Calcium pantothenate 3.0g, Biotin 0.02g, Folic acid 0.09g, Vit.B<sub>12</sub> 0.00135g, and Dextrose to 1kg.

<sup>2</sup>Composition of Salt mixture, g/kg mixture; Calcium phosphate dibasic 500g, Sodium chloride 74g, Potassium sulfate 52g, Potassium citrate monohydrate 220g, Magnesium oxide 24g, Manganase carbonate (43~48% Mn), 3.5g, Ferric citrate(16~17% Fe) 6.0g, Zinc carbonate 1.6g, Cupric carbonate(53~55% Cu) 0.3g, Potassium iodate 0.01g, Chromium potassium sulfate 0.55g, Sodium selenite 0.11g, Sucrose, finely powdered 118.0g.

지방산 조성 분석을 위해 각 군당 6마리씩을 배정하였다.

## 2. 국소 뇌허혈 모델

6주간 사육이 끝난 10주령 수컷 Sprague-Dawley 랫드(280~310g)를 30% O<sub>2</sub>와 70% N<sub>2</sub>O에 1.5% enflurane을 추가한 혼합가스로 흡입마취 하여 총경동맥을 노출시키고, 연이어 내·외 경동맥 분기점을 찾아 내경동맥 위쪽에 incision을 가해 probe를 삽입하여 우측 중뇌 동맥을 폐쇄시킨다. 2시간 폐쇄 후 24시간 재순환(recirculation)시켰다(Nagasawa & Kogure, 1989). 뇌허혈 모델을 유발하는 동안 체온은 37±0.5℃로 유지하였다.

## 3. 염색 및 뇌경색크기 측정

우측 중뇌 동맥 2시간 폐쇄와 24시간 재순환 후 뇌허혈 모델 실험쥐를 희생시켜 1분내에 뇌를 적출하였다. Brain slicer에 적출한 뇌를 올려놓고, 전두엽을 기점으로 처음 1mm 절편 조각은 실험에 이용하지 않고, 그 다음부터 2mm 두께로 연속적으로 절편하여 총 7조각을 만든 다음 2% 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride(TTC) 용액에서 실온에 60분간 담그어 염색하였다(Benderson, Pitts, Nishimura, Davis & Bartkowski, 1986). 2% TTC 염색시 허혈이 일어난 조직은 염색이 되지 않아 하얗게(뇌경색), 정상조직은 붉게 나타나는데 이것을 확인한 후, 10% phosphate-buffered formalin 용액에 고정시켜 24시간 내에 각 절편의 표면 영상을 CCD video camera로 촬영하여, 영상 분석장치를 이용해 뇌경색의 면적, 부종률, 교정경색량, 용적 등을 계산하였다.

## 4. 항산화 효소의 활성도 측정

### 1) 시료의 수집 및 전처리

우측 중뇌 동맥을 2시간 폐쇄하고 24시간 재

순환시킨 후 뇌허혈 모델 실험쥐를 희생시켜 1분내에 뇌를 적출하였다. 적출한 뇌를 차가운 식염수로 세척하고, 3번째 절편의 일부를 2% TTC 용액에 담그어 뇌경색을 확인한 후 좌우 반구로 가른 다음 각각의 피질(cortex)을 분리하여 무게를 잰 후 균질용 완충용액(154mM Tris-HCl buffer, pH 7.4)을 첨가하여 균질화하였다. 그 다음 원심분리기로 4℃에서 10분간 1,000g로 분획하여 액체질소로 급속 냉동시킨 후 분석 전까지 -70℃ 냉동고에 보관하였다.

### 2) 항산화 효소의 측정

#### (1) CAT 활성도

CAT 활성도는 대뇌 균질화 용액 1,000×g 부유층을 phosphate buffer(50mM, pH 7.0)로 희석한 다음 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 첨가한 후 spectrophotometer를 이용하여 240nm에서 흡광도 감소를 측정하였다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 분자흡광계수인 43.6M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>을 이용하여 활성도를 계산하였다(Aebi, 1984).

#### (2) Cu/Zn-SOD 활성도

SOD 활성도는 대뇌 균질액의 12,500×g 부유층을 spectrophotometer를 이용하여 480nm에서 흡광도 감소를 측정하였다. Epinephrine의 자동산화물질인 adrenochrome의 축적을 50% 저해하는 데 필요한 SOD의 양을 1unit로 하여 활성도를 계산하였다(Misura & Pridovich, 1972).

#### (3) GPx 활성도

GPx 활성도는 대뇌의 균질액의 12,500×g 부유층에서 cumene hydroperoxide를 기질로 사용하여 측정하였다. NADPH가 NADP<sup>+</sup>로 산화되는 정도를 340nm에서 분광광도계로 측정하였고, NADPH의 분자흡광계수인 6.22mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>을 이용하여 활성도를 계산하였다(Tappel, 1978).

#### (4) 단백질 함량 측정

대뇌 균질화 용액과 분획물의 단백질 함량은 750nm에서 분광광도계로 측정하였고, bovine

serum albumin 용액을 표준용액으로 사용하여 단백질 함량을 계산하였다(Lowry, Rosebrough, Farr & Randall, 1951).

### 5. 지방산조성의 분석

항산화 효소 활성을 분석하는 조직의 일부를 이용하여 대뇌 균질액에서 지질을 추출하여 에스테르화하였다(Lepage & Roy, 1986). 지방산 함량은 DB-23(FFAP) capillary column을 이용하여 gas chromatography(Varian 3400GC)로 측정하였다. 표준 지방산 표본 ester의 retention time과 비교 측정하여 지방산을 분석하였으며, 각 지방산 함량은 그래프로 확인된 총 지방산의 면적에 대한 백분율로 표시하였다.

### 6. 자료분석방법

실험결과는 SAS 통계 program(Ver 6.2)을 이용하여 평균과 표준편차를 계산하였고 비모수검정으로  $p < 0.05$  수준에서 항산화 효소 활성 비교를 Wilcoxon rank-sum test를 이용하였으며, 지방산 분석 비교는 Dunncan's mutple range test를 이용하였다.

## 결 과

### 1. 뇌경색의 크기

TTC 시약은 허혈이 일어난 조직은 염색이 되지 않아 하얗게, 정상조직은 붉게 나타나게 한다(Fig. 1). 어유 보충 식이군과 옥수수유 보충 식이군에서 뇌경색의 크기를 비교하기 위해 뇌 부위별로 피질과 선조체를 각각 나누어 뇌경색의 크기를 측정하고, 전체 경색량(Total infarction volume)과 부종을 감안하여 측정된 교정경색량(Corrected total infarction volume)을 측정하였다. 모두에서 두 군간에 뇌경색 크기의 차이가 없었다(Fig. 2).

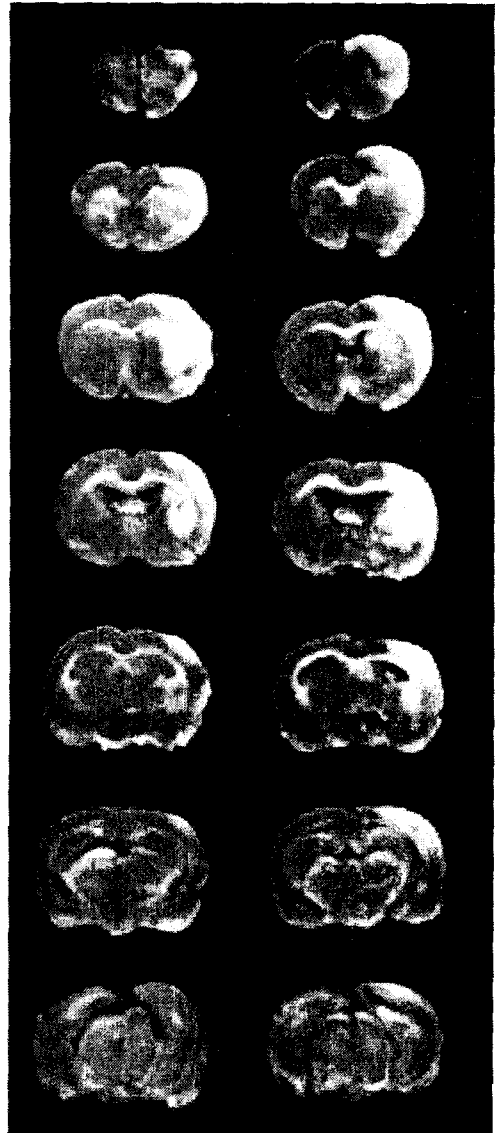
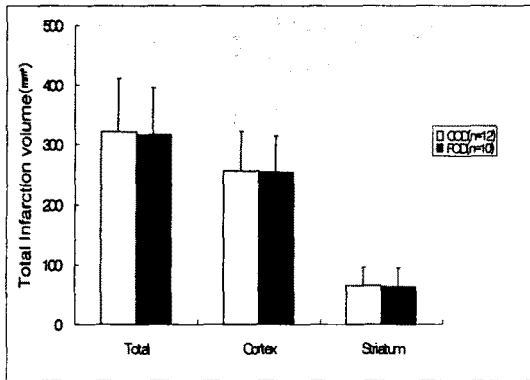
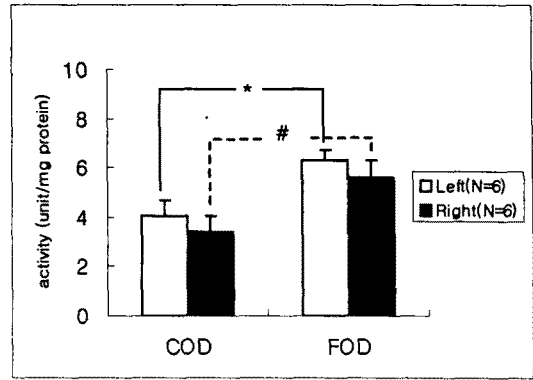


Figure 1. Brain infarction after 120min-ischemia/24hrs-reperfusion by occlusion of right common carotid artery. The whitish area in the right side of brain in corn oil supplemented diet(COD) and fish oil supplemented diet(FOD) groups depicts brain infarction. Left side; COD, Right side; FOD(a scale marker is 0.5mm).

어유 보충 식이군과 옥수수유 보충 식이군간의 체중에는 유의한 차이가 없었다.



**Figure 2.** Total infarction volume in COD and FOD group. (COD: corn oil supplemented diet, FOD: fish oil supplemented diet) There was no significant difference in total infarction volume between COD (□) and FOD(■) group. No significant differences were found in cortex and striatum infarction volume between two groups. Data were presented as the means  $\pm$  SD of 12 samples of COD and 10 samples of FOD group.



**Figure 3.** The CAT activity of left cortex(non-infarction side, □) in FOD group was significantly higher than that of COD group( $p < 0.05$ , \*). The CAT activity of right cortex(infarction side, ■) in FOD group was also significantly higher than that of COD group( $p < 0.05$ , #). Data were presented as the means  $\pm$  SD of six samples from two independent experiments.

## 2. 항산화 효소의 활성도

### 1) CAT 활성도

어유 보충 식이군이 옥수수유 보충 식이군에 비해 좌측 대뇌 피질(정상조직)에서의 CAT 활성도가 55.6% 증가하였다( $p < 0.05$ ). 우측 대뇌 피질(허혈조직)에서는 어유 보충 식이군이 옥수수유 보충 식이군에 비해 CAT 활성도가 65% 증가하였다( $p < 0.05$ ). 어유 보충 식이군의 우측 대뇌 피질(허혈조직)은 옥수수유 보충 식이군의 좌측 대뇌 피질(정상조직)에 비해서는 항산화효소 활성도가 높았다. 두 군 모두 뇌 허혈 후 CAT 활성도가 감소하였으나 유의하지 않았다(Fig. 3).

### 2) Cu/Zn-SOD 활성도

어유 보충 식이군이 옥수수 보충 식이군에 비해 좌측 대뇌 피질(정상조직)에서의 Cu/Zn-SOD 활성도가 43.8% 증가되었다( $p < 0.05$ ). 우측 대뇌 피질(허혈조직)에서는 어유 보충 식이군이 옥수수유 보충 식이군에 비해 Cu/Zn-SOD 활성도가

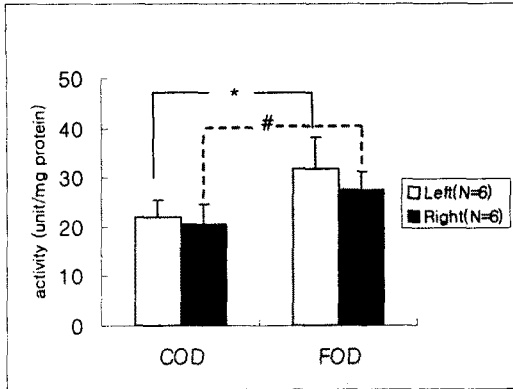
32.8% 증가하였다( $p < 0.05$ ). 어유 보충 식이군의 우측 대뇌 피질(허혈조직)은 옥수수유 보충 식이군의 좌측 대뇌 피질(정상조직)에 비해서는 항산화효소 활성도가 높았다. 두 군 모두 뇌 허혈 후 Cu/Zn-SOD 활성도가 감소하였으나 유의하지 않았다(Fig. 4).

### 3) GPx 활성도

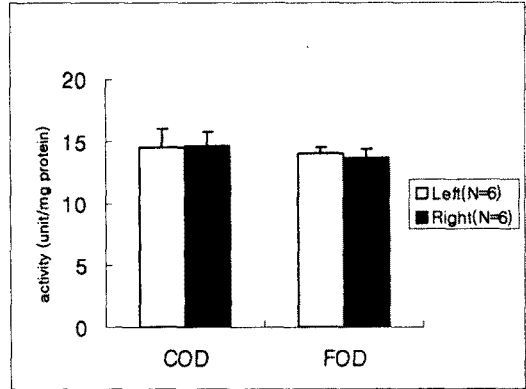
옥수수유 보충 식이군과 어유 보충 식이군에서 좌측대뇌피질(정상조직)과 우측대뇌피질(허혈조직)의 GPx 활성도에서는 유의한 차이가 없었다(Fig. 5).

## 3. 뇌내 지방산 조성

옥수수유 보충 식이군과 어유 보충 식이군 간에 좌측과 우측에서 대뇌피질과 선조체에서의 AA, DHA, DHA/AA의 비율은 유의한 차이가 있었다( $p < 0.05$ ). AA(20:4n-6)는 옥수수유 보충 식이군에서 높았고, DHA/AA의 비율은 어유 보충 식



**Figure 4.** The Cu/Zn-SOD activity of left cortex (non-infarction side, □) in FOD group was significantly higher than that of COD group ( $p < 0.05, *$ ). The Cu/Zn-SOD activity of the right cortex (infarction side, ■) in FOD group was also significantly higher than that of COD group ( $p < 0.05, \#$ ). Data were presented as the means  $\pm$  SD of six samples from two independent experiments.



**Figure 5.** The GPx activity. There was no significant difference in GPx activity between COD (□) and FOD (■) group. Data were presented as the means  $\pm$  SD of six samples from two independent experiments.

이군에서 옥수수유 보충 식이군에 비해 높았으며, 어유 보충 식이군에서 선조체보다는 대뇌 피질 부분이 유의하게 높았다(각각  $p < 0.05$ ). DHA(22:6n-3)는 어유 보충 식이군에서 유의하게 높았는데 ( $p < 0.05$ ), 어유 보충 식이군의 선조체는 좌우가 차이가 없고, 대뇌피질에서는 좌측이 높아 우측에서 약간의 감소를 보였다. 옥수수유 보충 식이군에서도 마찬가지로 선조체 보다는 대뇌피질에서 높았고, 좌우의 차이는 없었다. EPA(20:5n-3)는 좌측과 우측에서 대뇌피질과 선조체 모두 두 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2).

## 고 찰

본 연구는 AA가 풍부한 n-6 계열의 옥수수유 보충 식이 섭취와 DHA가 풍부한 n-3 계열의 다 불포화 지방산이 포함되어 있는 어유 보충 식이 섭취가 뇌졸중 유발 모델에서 뇌경색의 크기, 뇌내 지방산 조성, 항산화 효소의 활성도에 미치는 영향을 파악하여 뇌경색 시 뇌 손상 보호 효과와 그 기전을 규명하고자 시행되었다.

뇌경색의 크기는 피질, 선조체의 경색량, 총 경색량, 부종을 감안한 교정경색량 각각에서 옥수수유 보충 식이군과 어유 보충 식이군간의 차이가 없었다. 박명숙 등(2001)의 선행 연구에 의하면 6주간의 어유 보충 식이가 정상 식이군보다 뇌 경색 크기를 유의하게 감소시키는 것으로 보고되었다. 본 연구결과 어유 및 옥수수유의 보충 식이 후 두 군의 뇌경색의 크기 차이가 없는 것은, 옥수수유 보충 식이가 이미 연구된 어유 보충 식이와 같이 뇌경색의 크기를 감소시킨다는 것을 시사한다.

뇌의 항산화효소 활성도를 측정된 결과, 어유 보충 식이군이 옥수수유 보충 식이군에 비해 좌측 대뇌피질의 CAT 활성도가 55.6%, Cu/Zn-SOD는 43.8%로 유의하게 증가하여, 어유에 의해 이들 항산화 효소 활성이 유도되어짐을 알 수 있다. 또한 뇌 허혈 유발 후 CAT, Cu/Zn-SOD 활성도는 두 군 모두에서 감소하였으나 유의하지는 않았다. Cu와 Zn 이온을 cofactor로 하여 활성되는 Cu/Zn-SOD는 세포질에 존재하면서 뇌허혈과 재관류시 증가되는 superoxide radicals을 특이적으

Table 2. Fatty acid composition of the cerebrum(% of total fatty acids)

Fatty Acids	CD				FOD			
	Cortex		Striatum		Cortex		Striatum	
	Lt.	Rt.	Lt	Rt.	Lt	Rt.	Lt	Rt.
14:0	0.05±0.081	0.10±0.084			0.09±0.127	0.04±0.085		0.13±0.177
16:0	18.41±0.211	17.78±1.094	18.06±0.287	17.66±0.262	17.45±0.710	17.58±0.437	18.66±1.975	17.63±1.817
16:1	0.24±0.021	0.23±0.036	0.15±0.127	0.24±0.038	0.47±0.048	0.46±0.048	0.50±0.061	0.38±0.028
18:0	25.49±0.814	26.27±1.831	27.36±0.178	26.96±0.191	24.80±0.724	26.78±0.695	25.71±0.703	26.41±0.601
18:1	14.83±0.797	15.33±0.550	16.76±0.913	17.39±1.279	14.10±0.506	16.31±0.224	17.91±0.993	18.25±2.560
18:2	1.49±1.229	2.45±0.924	1.20±0.895	1.29±0.299	1.50±0.830	2.00±0.772	0.94±0.165	0.50±0.000
20:0	0.26±0.283	0.36±0.334	0.27±0.344	0.26±0.031	0.24±0.780	0.17±0.017	0.25±0.096	0.44±0.219
20:4	15.02±1.320 <sup>a</sup>	14.13±1.414 <sup>a</sup>	15.06±0.605 <sup>a</sup>	14.64±0.386 <sup>a</sup>	11.32±0.459 <sup>b</sup>	10.33±0.340 <sup>b</sup>	11.16±0.469 <sup>b</sup>	11.29±0.919 <sup>b</sup>
20:5	0.43±0.181	0.41±0.372	0.43±0.376	0.82±0.225	0.36±0.276	0.67±0.162	0.62±0.225	0.70±0.226
22:1	0.65±0.511	0.45±0.656	0.16±0.140	0.47±0.380	1.28±1.860	0.35±0.206	0.25±0.119	0.11±0.148
22:6	22.32±0.544 <sup>de</sup>	21.58±1.740 <sup>de</sup>	20.28±1.158 <sup>f</sup>	19.24±1.535 <sup>f</sup>	28.23±1.327 <sup>a</sup>	25.33±0.471 <sup>b</sup>	23.36±1.599 <sup>bcd</sup>	24.00±0.997 <sup>bc</sup>
20:5/20:4	0.03±0.013	0.03±0.250	0.03±0.026	0.06±0.017	0.03±0.028	0.06±0.017	0.06±0.018	0.06±0.250
22:6/20:4	1.50±0.168 <sup>e</sup>	1.55±0.268 <sup>e</sup>	1.35±0.047 <sup>c</sup>	1.31±30.071 <sup>c</sup>	2.49±0.099 <sup>a</sup>	2.46±0.104 <sup>a</sup>	2.09±0.058 <sup>b</sup>	2.13±0.065 <sup>b</sup>

COD: corn oil supplemented diet, FOD: fish oil supplemented diet

Values represent mean±standard deviation. The different letters(a,b,c,d) indicate significant differences at p<0.05 by Duncan's multiple range tests.

로 제거하는 역할을 하고(Pak, 1996), Polyethylene glycol-conjugated SOD(합성 효소)의 역할로 국소적 뇌허혈을 유발시킨 실험쥐에서 뇌경색 크기를 감소시킨다는 보고(He, Hsu, Ezrin & Miller, 1993)가 있다. 따라서, SOD는 국소 뇌허혈 상태에서 생성된 superoxide radical을 청소하는 데 1차적인 역할을 하므로 뇌허혈과 재관류시 증가된 superoxide radical을 제거하기 위해 효소 활성이 증가된 것으로 생각된다. 어유 보충 식이군의 우측 대뇌피질(허혈조직)에서 Cu/Zn-SOD의 활성도가 감소했으나 옥수수유 보충 식이군의 좌측(정상조직)보다 더 높은 수준을 유지하고 있는 것은 어유 섭취에 의해 Cu/Zn-SOD 활성도의 기본값이 높게 유도되어짐을 알 수 있으며, 어유 보충 식이군에서 좌측(정상조직)에 비해 우측 피질의(허혈조직) CAT와 Cu/Zn-SOD의 활성도가 감소하였으나 유의한 차이가 없는 것은 정상조직(좌측)의 높게 유도된 항산화 효소 수준이 허혈 후 조직(우측)의 항산화 효소수준에도 영향을 미치는 것으로

생각된다. 이것은 DHA로 인해 뇌 허혈 후 재관류 시 자유 래디칼에 대한 방어 능력의 향상에 기인한 결과라고 볼 수 있다.

옥수수유 보충 식이군에서도 좌측(정상조직)에 비교해 우측 피질의(허혈조직) CAT와 Cu/Zn-SOD의 활성도가 감소하였으나 유의한 차이가 없으면서 뇌경색 크기에 영향을 미친 것은 CAT와 Cu/Zn-SOD의 활성도와는 다른 기전의 보호 효과가 있음을 생각할 수 있다. 또한 GPx 활성도는 옥수수유 보충 식이군과 어유 보충 식이군간에 유의한 차이가 없었고, 각각의 좌측 대뇌피질(정상조직)과 우측 대뇌피질(허혈조직) 사이에 GPx 활성도의 차이도 없는 것으로 나타났다. 이것은 옥수수유가 어유와 같은 수준의 GPx 값을 유지하여 옥수수유 섭취로 인해 GPx 활성도를 높여 뇌손상 보호 기전에 관여하는 것으로 생각된다. 또한 옥수수유 보충 식이군에서 뇌 허혈 후에도 활성도의 변화가 없는 것은 뇌졸중 유발 모델이 2시간 중뇌 동맥 폐쇄에 이어 재관류 24시간 후에 항산화 효



소의 활성도를 측정했기 때문에 24시간 이내의 시간에 GPx의 회복이 일어날 가능성도 생각할 수 있다. 그러므로 뇌 내 항산화 효소에 대한 결과로 옥수수유 보충 식이는 CAT, Cu/Zn-SOD 효소의 활성을 유도하지는 못했지만 뇌경색 크기가 어유(청어유) 보충 식이와 비슷한 것으로 볼 때 CAT, Cu/Zn-SOD의 항산화 효소를 제외한 Glutathione(GSH) 의존성 항산화 효소계의 하나인 GPx의 활성을 유도하여 뇌경색 크기에 영향을 미친 것으로 사료된다. GSH는 자유 라디칼을 제거하고, 다른 항산화 효소를 재사용하는 데 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다(Meister & Larsson, 1989). 또한 성상세포에서 뇌 내로 분비되는 GSH가 산화적 손상으로부터 뉴런을 보호하는 데 중대한 영향을 미칠지도 모른다는 선행 연구(Yudkoff et al., 1990)와 같은 맥락으로, 본 연구에서도 GSH와 관계된 GPx의 영향으로 인한 뇌경색 크기에 미치는 영향을 볼 수 있고, 다른 GSH 의존성 항산화 효소계의 glutathione-S-transferase (GST)나 glutathione reductase(GR)에 대한 연구도 제기해 볼 수 있다.

뇌내 지방산 조성 분석결과 옥수수유 보충 식이군과 어유 보충 식이군간에 좌측과 우측에서 대뇌피질과 선조체에서의 AA, DHA, DHA/AA의 비율에 유의한 차이가 있었다. 옥수수유 보충 식이군은 AA가, 어유 보충 식이군은 DHA가 유의하게 증가하였고 DHA/AA의 비율은 어유 보충 식이군에서 유의하게 높았다. 또한 DHA는 어유 보충 식이군 대뇌 피질의 좌측보다 우측이 약간 감소하였으나 기본 수치가 옥수수유 보충 식이군에 비해 유의하게 높아 n-3계열의 지방산은 어유 보충 식이군에서, n-6계열의 지방산은 옥수수유 보충 섭취군에서 식이 지방의 효과가 뇌 내 세포막에 잘 반영되었다고 할 수 있다. 이것은 어유의 비율이 높을 때 AA(20:4)의 양은 감소되고, n-3계열의 지방산인 EPA(20:5)의 양이 소량이지만 증가하며 다른 지방산에는 영향이 없음을 보고한 선행 연구와 일치하며(Bourre et al., 1990), 또한 뇌와 망막을 형성하는데 옥수수유를 섭취한 군에

서 AA의 농도 유지를 할 수 있었다는 연구와도 비교할 수 있다(Pawlosky, Denkins, Ward, & Salem, 1997). 그리고, linoleic acid(18:2n-6 : LA)는 옥수수유 섭취군에서 높게 나타났는데, 이것은 옥수수유와 올리브유를 섭취하였을 경우 LA가 높게 나타났고, 어유 섭취군에서 DHA(22:6)가 증가한 선행 연구와 일치하였다(Ruiz, Molina & Vazquez, 1990). 또한 옥수수유 섭취군에서 DHA/AA의 비율이 낮아 랫드의 심실세동 유발이 증가하므로 세포내 인지질의 n-6와 n-3 지방산의 균형이 중요한 역할을 한다고 주장한 연구도 있었다(Gudbjarnason, Benediksdottir & Skuladottir, 1989). 본 연구에서도 옥수수유 섭취군에서의 DHA/AA 비율이 낮으므로 이것이 뇌졸중에 영향을 미쳐 뇌손상에 관여하지 않을까 생각되며 이에 대한 추후 연구가 필요하다. DHA/AA의 비율 또한 산화제(oxidants)로 인한 손상에 대해 인체의 방어능력을 나타내는 지표로 이용되는데(Hossain, Hashimoto & Msumura, 1988), 이 비율이 어유 보충 식이군에서 유의하게 높게 나타났다. 이것은 어유에 의해 허혈로 인한 뇌 손상시 산화제로부터 보호하는 방어능력이 향상되었음을 의미한다고 볼 수 있다.

본 연구에서는 6주간의 어유 섭취가 뇌 내 항산화 효소인 CAT 및 Cu/Zn-SOD의 활성도를 증가시킬 수 있었고, 뇌 내 지방산의 조성의 변화를 유발하여, 이로 인해 뇌경색의 크기에 영향을 미친 것으로 보이며, 옥수수유 섭취가 GPx의 활성을 유도하여 뇌경색 크기에 영향을 미친 것으로 생각된다. 또한 옥수수유 보충 식이군에서 뇌졸중 유발 후 CAT 및 Cu/Zn-SOD의 활성이 유의하게 감소하지 않은 것은 어유와는 다른 보호 기전이 있음을 시사한다. 즉, 옥수수유의 뇌 내 지방산의 조성 형식의 결과는 기존의 연구와 같고, CAT, Cu/Zn-SOD 등의 항산화 효소의 활성이 어유 섭취군에 비해 낮게 나타났지만, 어유 섭취군과 같은 수준의 GPx가 뇌경색 크기를 두 군간에 유의한 차이가 없게 하였으므로 옥수수유의 GPx에 의한 뇌손상 보호 기전을 확인할 수 있었다.

본 연구에서는 AA의 전구체가 되는 LA를 풍부하게 함유하고 있는 옥수수유와 DHA를 식이로 공급할 수 있는 급원인 어유(청어유)가 뇌허혈 유발 모델에서 뇌경색크기, 항산화 효소계 활성화도 및 뇌 내 지방산 조성에 미치는 영향을 알아보았다. 실험쥐를 이용한 2시간 중뇌동맥 뇌경색모델에서 6주간의 옥수수유와 어유 섭취는 뇌경색크기, 항산화 효소 및 뇌 내 지방산 조성에 영향을 미쳤다.

본 연구결과에 비추어 뇌경색 전 옥수수유와 어유의 섭취는 뇌졸중의 크기를 감소시킬 수 있는 예방적 식이로 권장할 수 있으며 특히 일반 식단에서 많이 섭취되는 옥수수유가 뇌경색 크기에 어유가 미치는 영향과 비슷하다는 것은 앞으로 옥수수유로 인한 뇌경색 크기 감소와 그 기전에 대한 추후 실험의 필요성을 제기한다. 이러한 연구의 반복을 통하여 어유 섭취와 옥수수유 섭취가 뇌졸중 예방 식이로써 적절하다는 임상적 적용의 결과를 기대할 수 있겠다.

## 결론 및 제언

Sprague-Dawley male rat을 이용하여 n-6와 n-3 지방산이 풍부한 식이가 뇌졸중 유발 모델에서 뇌경색 크기 및 항산화 효소계에 미치는 영향에 대하여 알아보기 위해, n-6 계열 다가 불포화 지방산이 풍부한 옥수수유와 n-3 계열 다가 불포화 지방산이 풍부한 어유(청어유)를 6주간 식이로 공급한 다음 우측 중뇌 동맥을 폐쇄시킨 후 재순환시켜 뇌졸중 유발 모델을 확립하였다.

옥수수유 보충 식이군과 어유 보충 식이군에서

각각의 피질과 선조체, 전체 경색량, 교정경색량을 측정해 본 결과 두 군 모두에서 뇌경색의 크기는 차이가 나지 않았다. 어유 보충 식이군이 옥수수유 보충 식이군에 비해, 각 군의 좌측 대뇌 피질(정상조직)에서와 우측 대뇌 피질(허혈조직)에서의 CAT 활성화도는 각각 55.6%, 65% 증가하였고( $p<0.05$ ), Cu/Zn-SOD 활성화도는 각각 43.8%, 32.8% 증가하였다( $p<0.05$ ). 어유 보충 식이군의 우측 대뇌 피질(허혈조직)은 옥수수유 보충 식이군의 좌측 대뇌 피질(정상조직)에 비해서 CAT와 Cu/Zn-SOD 활성화도가 높았다. 그러나 두 군 모두 뇌 허혈 후 CAT와 Cu/Zn-SOD 활성화도가 감소하였으나 유의하지 않았다. 그리고, 옥수수유 보충 식이군과 어유 보충 식이군에서 좌측대뇌피질(정상조직)과 우측대뇌피질(허혈조직)의 GPx 활성화도는 유의한 차이가 없었다.

이상의 결과에서 볼 때 랫드의 뇌졸중 유발 모델에서 어유(청어유) 섭취가 뇌 내 항산화 효소인 CAT, Cu/Zn-SOD의 활성화도 증가를 유도하였으나, GPx의 활성화도는 두 그룹간에 차이가 나지 않았다. 뇌경색 크기를 측정해 본 결과 옥수수유 섭취군이 어유 섭취군과 차이가 나지 않았다. 이것은 일부분 옥수수유가 어유와는 달리 CAT, Cu/Zn-SOD의 역할보다는 어유와 비슷한 GPx 활성화도 수준을 유지하며 뇌손상 보호 효과를 유도함이 규명되었으므로 추후에는 다른 기전의 뇌경색 손상에 대한 방어 기전에 대한 연구가 요구된다. 또한 6주간의 어유의 지방 식이 섭취가 뇌 내에 잘 반영된 것을 확인하였으므로, 어유의 장기간 섭취와 뇌졸중 후 학습 능력의 평가를 옥수수유와 비교하는 연구도 필요하다.

## 참고문헌

- 박명숙, 박경애, 이희주, 이정희, 전상은, 진창배, 최명애, 최스미(2001) : 어유 섭취가 뇌졸중 유발 실험 쥐의 뇌경색 크기 및 항산화효소계에 미치는 영향. 대한뇌졸중학회지 3(1) : 92-97.
- 이대회(1998) : 뇌졸중의 예방. 대한의사협회지 41(12) : 1258-1266.
- Aebi H(1984) : Catalase in Vitro. Methods in enzymology, New York, Academic Press. 121-127.

- Agranoff BW(1984) : Lipid peroxidation and membrane aging. Neurobiol Aging 5 : 337-338.
- Benderson JB, Pitts LH, Nishimura, MC, Davis RL, Bartkowski HM(1986) : Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. Stroke 49 : 671-690.
- Borrello S, Seccia A, Galleotti T, Bartoli GM, Farallo E, Serri F(1984) : Protective enzymes in human epidermal carcinomas and psoriasis. Arch Dermatol Res 276 : 338-340.
- Bourre JM, Bonneil M, Dumont O, Piciotti M, Calaf R, Portugal H, Nalbone G, Lafont H(1990) : Effect of increasing amounts of dietary fish oil on brain and liver fatty acid composition. Biochemica et Biophysica Acta 1043 : 149-152.
- Braugher JM, Hall ED(1989) : Central nervous system trauma and stroke. I Biochemical considerations formation and lipid peroxidation. Free Radic Biol Med 6 : 289-301.
- Dupont J, White PJ, Carpenter MP, Schaefer EJ, Meydani SN, Elson CE, Woods M, Gorbach SL(1990) : Food uses and health effects of corn oil. J of Am College of nutr 9(5) : 438-470.
- Dyerberg J, Bong HO(1979) : Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in eskimos, Lancet 2 : 433-435.
- Fellman V, Raivio KO(1997) : Reperfusion injury as the mechanism of brain damage after perinatal asphyxia. Ped Research 41 : 599-606.
- Gudbjarnason S, Benediktsdottir VE, Skuladottir G(1989) : Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on coronary heart disease. Bibliotheca Nutr et Dieta 43 : 1-12.
- He YY, Hsu CY, Ezrin AM, Miller MS(1993) : Polyethylene glycol-conjugated superoxide dismutase in focal cerebral ischemia-reperfusion. Am J Physio 265 : 252-256.
- Hill JM, Switzer RC II(1984) : The regional distribution and cellular localization of iron in the rat brain. Neurosci 11 : 595-603.
- Hossain MS, Hashimoto M, Msumura S(1988) : Influence of docosahexaenoic acid on cerebral lipid peroxide level in aged rats with and without hypercholesteremia. Neurosci Lett 244 : 157-160.
- [Http://www.nso.go.kr/report/data/svca9900.htm](http://www.nso.go.kr/report/data/svca9900.htm)(99년 사망원인 통계 보도자료)
- Kingsley TR, Snyder DL(1988) : Serum lipids in spontaneously hypertensive rats and Sprague-Dawley rats fed menhaden oil. Lipids 23(6) : 564-567.
- Laganier S, Yu BP, Fetnandes G(1990) : Studies on membrane lipid peroxidation in omega-3 fatty acid-fed autoimmune mice: effect of vitamin E supplementation. Advances in Experi Medi & Biology 262 : 95-102.
- Lepage G, Roy CC(1986) : Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. J Lipid Res 27 : 114-120.
- Li Y, Chopp M, Jiang N, Zhang ZG, Zaliga C(1995) : Induction of DNA fragmentation after 10 to 120 minutes of focal cerebral ischemia in rat. Stroke 26 : 1252-1258.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RT(1951) : Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 193 : 265-275.
- Meister A, Larsson A(1989) : Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the gamma glutamyl cycle. The Metabolic Basis of Inherited Disease, McGraw-Hill, New York.

- Misura HP, Fridovich I(1972) : The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. J Biol Chem 247(10) : 3170-3175.
- Nagasawa H, Kogure K(1989) : Correlation between cerebral blood flow and histologic changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion. Stroke 20 : 1037-1043.
- Okada M, Amamoto T, Tomonaga M, Kawachi A, Yazawa K, Mine K, Fujiwara M(1996) : The chronic administration of docosahexaenoic acid reduced the spatial cognitive deficit following transient forebrain ischemia in rats. Neurosci 71(1) : 17-25.
- Pak HC(1996) : Role of oxidants in ischemic brain damage. Stroke 27 : 1124-1129.
- Paulson DJ, Smith JM, Zhao J, Bowman J(1992) : Effects of dietary fish oil on myocardial ischemic/reperfusion injury of wistar kyoto and stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Metabolism : Clin & Experi 41(5) : 533-539.
- Pawlosky RJ, Denkins Y, Ward G, Salem N Jr(1997) : Retinal and brain accretion of long-chain polyunsaturated fatty acids in developing felines: the effects of corn oil-based maternal diets. Am J of Clin Nutr. 65(2):465-472.
- Ruiz-Gutierrez V, Molina MT, Vazquez CM(1990) : Comparative effects of feeding different fats on fats on fatty acid composition of major individual phospholipids of rat hearts. Annals of Nutr & Metabolism 34(6) : 350-358.
- Simopoulos AP(1991) : Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. Am J Clin Nutr 54 : 438-463
- Sinet PM, Hikkilia RE, Cohen G(1980) : Hydrogen peroxide production by rat brain in vivo. J Neurochem 34 : 1421-1428.
- Shahdat H, Michio H, Sumio M(1998) : Influence of docosahexaenoic acid on cerebral lipid peroxide level in aged rats with and without hypercholesterolemia. Neurosci Letters 244 : 157-160.
- Sokoloff L(1977) : Relation between physiological function and energy metabolism in the central nervous system. J Neurochem 29 : 13-26.
- Tahin QS, Blum M, Carafoli E(1981) : The fatty acid composition of subcellular membranes of rat liver, heart, and brain ; diet-induced modification. Eur J Biochem 121 : 5-13.
- Tappel AL(1978) : Glutathione peroxidase and hydroperoxides. Methods in enzymology. New York, Academic Press. 506-513.
- Yudkoff M, Pleasure D, Cregar L, Lin ZP, Nissim I, Stern J, Nissim I(1990) : Glutathione turnover in cultured astrocytes: studies with [15N]glutamate. J of Neurochem 55(1) : 137-45.
- Zaleska MM, Floyd RA(1975) : Regional lipid peroxidation in rat brain in vivo ; possible role of endogenous iron. Neurochem Res 10 : 397-410.