

## 장기간의 Pyridoxine 부족이 흰쥐 뇌의 지방산 조성에 미치는 영향

최혜미 · 이홍미 · 김정희

서울대학교 가정대학 식품영양학과

### Effect of Long-Term Pyridoxine Depletion on the Fatty Acid Composition of the Rat Brain

Choi, Haymie · Lee, Hongmie and Kim, Junghee

*Dept. of Food of Nutrition, Seoul National University*

#### = ABSTRACT =

Weanling female Sprague Dawley rats were fed diets containing 22 mg pyridoxine · HCl/kg diet (control diet) and 1.2 mg pyridoxine · HCl/kg diet (deficient diet). One deficient group and one control group were fed their diets throughout the period of growth, gestation and lactation. After the pups were born and weaned, the deficient group was divided into two groups. Therefore, one (DC) switched to control diet and the other continued the same deficient diet until 10 week-old.

Analysis of chemical composition of fatty acid in the total brain lipid was conducted in the pups of 5, 10, 15, 21, 35, 50 days of age. Arachidonic acid content was significantly decreased in the deficient group at 5 days compared to the control, but at almost all ages, there were no significant differences in fatty acid contents among all the groups. The fatty acid compositions of the brain phospholipids were determined on pups at 1, 14, 21, 35, 70 days of age. The content of C<sub>20:4</sub> in the brain phosphatidylcholine birth and contents of C<sub>22:4</sub> and C<sub>22:5</sub> at birth, and C<sub>22:5</sub> and C<sub>22:6</sub> at 14 days in the phosphatidylethanolamine were depressed in the deficient group. These changes were not consistent with ages.

Therefore, it may reflect that the major part of the changes occurring in the pyridoxine depleted rats depends, not so much on the pyridoxine depletion itself, as on the age or development of the rats.

---

\* 본 연구는 한국과학재단 연구비로 이루어진 것임.

접수일자: 1985년 7월 30일

서 론

실험재료 및 방법

Pyridoxine의 완전한 결핍은 정상 성인에게서는 드물지만, 임신이나 수유로 인해 그 필요량이 증가할 수 있고, 경구 피임약이나 결핵약을 복용하는 경우, pyridoxine의 이용도가 저하되어 상대적인 부족이 생길수 있다. 임신 전에 장기간 경구 피임약을 복용하는 사례가 많고, 상당수의 임신부들이 상대적인 pyridoxine 부족 상태에 있다고 한 조사 발표들<sup>1)2)</sup>이 많음을 볼때, 장기간의 pyridoxine 부족이 2세의 뇌성분 변화에 미치는 영향을 살펴 볼 필요가 있다고 본다.

Pyridoxine의 결핍은 과민성, 행동질환, 경련, 지적 장애 등 여러가지 중추신경계의 이상을 초래하는 것으로 알려져 있다. 그 활성형인 pyridoxal phosphate는 아미노산의 이동과 대사, 지방산의 합성, GABA( $\gamma$ -aminobutyric acid) shunt pathway 및 sphingolipid의 합성 등에 작용하므로 뇌의 정상적인 발달에 필수적이다<sup>3)~6)</sup>.

지방산은 뇌의 주요 구성물로서, 막의 성질을 결정하는데 중요한 역할을 하며 polyenoic fatty acid의 증가는 뇌의 성숙과 관련이 있다고 한다<sup>7)</sup>. Arachidonic acid와 docosahexaenoic acid는 linoleic acid와 linolenic acid로부터 합성되는데, pyridoxine이 이들의 전환에 관여한다는 보고들<sup>8)~10)</sup>이 많은 한편 이외는 반대로 arachidonic acid나 다른 지방산들의 합성에 영향을 미치지 않는다는 보고<sup>11)~13)</sup>들도 있다. 다른 조직에 비해 뇌의 지방산 조성에 대한 pyridoxine의 작용은 연구된 바가 적으므로, 본 실험에서는 pyridoxine의 부족이 뇌의 지방산 조성에 미치는 영향을 알아보고자 한다. Thomas와 Kirksey<sup>14)</sup>는 pyridoxine이 결핍된 생후 15일된 쥐의 소뇌에서  $W_6$ 계 지방산들( $C_{18:2}$   $C_{20:4}$ ,  $C_{22:4}$ )이 유의적으로 감소했음을 보고하였다.

그러나, 같은 종의 뇌라도 subsellular fraction이나 지질의 종류에 따라 주된 지방산이 다르기 때문에<sup>15)</sup>, 총 지질보다는 지질의 종류별로 지방산 조성 차이를 살펴 볼 필요가 있다. 뇌의 여러 지질중에서 양이 가장 많은 인지질은 세포막의 주요 구성물로서 신경 전달물질의 대사에 관여하며, 다시 몇가지 fraction으로 나누어진다. 따라서 뇌의 총지질과 더불어, 인지질인 phosphatidylcholine과 phosphatidylethanolamine을 분리하여 각각의 지방산 조성이 pyridoxine 부족에 의해 영향을 받는지의 여부를 판정하고자 했다.

지방산 조성의 차이를 뇌의 총지질에서 비교한 실험 I과 인지질 즉, phosphatidylcholine과 phosphatidylethanolamine에서 비교한 실험 II로 나누어 살펴 보았다.

실험 I

1) 실험동물 및 식이

Sprague Dawley 종의 암쥐를 이유때부터 두군으로 나누어 각각 control diet(22 mg pyridoxine · HCl/kg diet)와 deficient diet(1.2 mg pyridoxine · HCl/kg diet)로 성장시켰는데, 그 식이 조성은 표 1과 같다. 체중이 200 g 정도 되었을 때 임신을 시켜, 태어난 2세들이 이유될 때 부족 식이군을 두군으로 나누어 한군(DC)을 control diet로 바꾸어 pyridoxine 부족 상태를 회복시켜 주고, 다른 한군(DD)과 control

Table 1. Composition of experimental diet (g/100g diet)

	Pyridoxine -deficient	Pyridoxine -sufficient
Vitamin-free casein	20.0	20.0
Corn starch	58.5	58.5
Corn oil	5.0	5.0
Beef tallow	5.0	5.0
Salt mixture <sup>b)</sup>	4.0	4.0
Cellulose	5.0	5.0
Vitamine mixture -B <sub>6</sub> <sup>2)</sup>	2.08	
+B <sub>6</sub> <sup>3)</sup>	0.12	2.2
DL-Methionine	0.3	0.3

- 1) Composition of salt mixture, g/kg of mixture: CaHPO<sub>4</sub> 500 g, NaCl 74 g, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52g, Potassium Citrate Monohydrate 220g, MgO 24g, Manganous Carbonate (43-48% Mn) 3.5g, Ferric Citrate (16-17% Fe) 6.0g, Zinc Carbante 1.6g, Cupric Carbonate (53-55% Cu) 0.3g, KIO<sub>3</sub> 0.01g, Chromium Potassium Sulfate 0.55g, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.01g, Sucrose, finely powdered 118.0g.
- 2) Nutrition Biochemicals, ICN Life Science Group, Cleveland Ohio, Vitamin mixture(-B<sub>6</sub>) : vitamin A conc. (200,000 units per gm) 4.5g, vitamin D conc. (400,000 units per gm) 0.25g,  $\alpha$ -tocopherol 5.0g, Ascorbic acid 45.0g, Inositol 5.0g, Choline chloride 75.0g, Riboflavin 1.0g, Thiamine hydrochloride 1.0g, Calcium Pantothenate 3.0g, Biotin 0.02g, Folic acid 0.09g, vitamin B<sub>12</sub> 0.00135g and starch to 1kg.
- 3) Vitamin mixture(+B<sub>6</sub>) contained, in addition to the above vitamins 1g of pyridoxine hydrochloride per kg of vitamin mixture.

Table 2. Effect of long-term pyridoxine depleted diet on the fatty acid composition of the brain total lipid (%).

Groups	C16	C16:0	C16:1	C17:0	C16:2	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:1	C20:2	C20:3	C20:4	C22:3	C22:4	C22:5	C22:6	C24:4	C24:5
5-CC	3.01a ±0.07	27.82 ±0.77	2.40 ±0.46	1.12 ±0.08	16.34 ±0.46	11.65 ±1.2	1.57 ±0.29	11.79 ±0.74	2.93 ±0.18	6.80 ±0.19	4.44 ±0.21	4.23 ±0.62	4.9	4.9					
5-DD	3.04 ±0.11	28.0 ±0.12	2.84 ±0.14	1.24 ±0.10	17.68 ±0.94	11.91 ±0.20	2.20 ±0.38	11.70 ±0.56	2.83 ±0.24	6.40 ±0.38	4.12 ±0.20	3.88 ±0.38	4.44 ±0.30						
10-CC	2.89 ±0.12	26.29 ±0.52	2.14 ±0.11	1.48 ±0.08	18.05 ±1.86	11.92 ±0.24	1.64 ±0.34	11.70 ±0.56	2.86 ±0.12	5.73 ±0.61	4.43 ±0.58	4.98 ±0.67	5.45 ±0.67						
10-DD	2.81 ±0.11	26.84 ±0.41	2.22 ±0.24	1.42 ±0.06	17.29 ±0.33	11.57 ±0.72	1.32 ±0.14	12.61 ±0.33	3.33 ±0.14	6.31 ±0.42	4.29 ±0.46	4.57 ±0.67	5.05 ±0.98						
15-CC	2.58 ±0.13	23.28 ±0.28	1.25 ±0.06	2.07 ±0.08	17.18 ±0.28	13.0 ±0.20	0.87 ±0.19	12.21 ±0.52	3.58 ±0.05	6.39 ±0.54	5.24 ±0.01	4.52 ±0.35	6.19 ±0.44						
15-DD	2.65 ±0.08	23.79 ±0.15	1.18 ±0.20	2.15 ±0.08	17.15 ±0.46	12.96 ±0.18	0.96 ±0.32	11.83 ±0.54	3.51 ±0.02	6.35 ±0.18	4.99 ±0.17	5.16 ±0.76	6.33 ±0.33						
21-CC	2.08 ±0.08	20.68 ±0.29	2.64 ±0.06	2.64 ±0.06	18.70 ±0.36	14.35 ±0.18	1.06 ±0.03	10.95 ±0.26	3.91 ±0.47	6.03 ±0.29	5.5 ±0.09	4.64 ±1.15	6.45 ±0.42						
21-DD	2.30 ±0.09	20.75 ±0.67	0.42 ±0.29	2.87 ±0.02	18.95 ±0.29	14.85 ±0.33	1.02 ±0.02	10.98 ±0.44	3.62 ±0.19	5.85 ±0.25	6.0 ±0.18	4.01 ±0.42	6.01 ±0.61						
35-CC	2.00 ±0.05	16.87 ±0.48	3.2 ±0.07	3.2 ±0.07	18.12 ±0.68	15.37 ±0.17	1.06 ±0.22	8.55 ±0.36	3.99 ±0.16	5.15 ±0.16	5.30 ±0.03	6.83 ±0.85	8.4 ±0.88						
35-DC	2.03 ±0.11	17.41 ±0.77	3.32 ±0.07	3.32 ±0.07	17.61 ±0.62	15.25 ±0.44	0.79 ±0.20	9.09 ±0.34	3.97 ±0.35	4.79 ±0.32	6.20 ±0.61	6.52 ±0.47	8.33 ±0.49						
35-DD	2.11 ±0.06	17.36 ±0.16	3.29 ±0.27	3.29 ±0.27	17.42 ±0.48	15.70 ±0.54	0.53 ±0.18	9.19 ±0.45	3.82 ±0.07	5.1 ±0.46	6.13 ±0.69	6.53 ±0.10	8.46 ±0.75						
50-CC	2.07 ±0.12	15.18 ±0.49	2.12 ±0.14	2.12 ±0.14	16.94 ±0.28	16.24 ±0.86	0.89 ±0.05	8.44 ±0.27	4.25 ±0.13	4.5 ±0.26	6.40 ±0.09	6.80 ±0.85	8.82 ±0.84						
50-DC	2.04 ±0.05	16.53 ±0.32	3.73 ±0.05	3.73 ±0.05	17.94 ±0.27	16.62 ±0.23	0.82 ±0.14	8.81 ±0.17	4.30 ±0.19	4.51 ±0.21	6.42 ±0.32	6.44 ±1.06	8.42 ±1.09						
50-DD	2.03 ±0.13	16.45 ±0.72	1.88 ±0.21	1.88 ±0.21	17.57 ±0.55	16.61 ±0.67	0.65 ±0.15	8.68 ±0.19	4.21 ±0.29	4.71 ±0.16	6.40 ±0.92	5.35 ±0.28	7.62 ± 81						

a : mean±S.D.  
 CC : control  
 DD : deficient throughout  
 DC : deficient group supplemented at 21 days postpartum.  
 \* : P < 0.05, significantly different from control group.

group(CC)은 각각의 실험식이를 그대로 계속 공급하였다.

생후 5일, 10일, 15일, 21일, 35일, 50일에 각 군에서 무작위로 추출하여 5시간 tasting 시킨후 de-capitation하고 전뇌를 분리하여 냉동 보관하였다.

### 2) 분석방법

뇌의 총지방은 Folch 등의 방법<sup>6)</sup>을 사용하여 추출하였다. 추출된 지방은 Boron fluoride-methanol 과 함께 100℃에서 20분간 가열됨으로써 transesterification되었다<sup>17)</sup>. Heptane 으로 용출된 methyl ester 는 Gas-Liquid chromatograph (YANACO G<sub>80</sub>)로 그 지방산을 분석했다. GP 10% SP-2330(Supleco, Inc.)로 packing된 3mm × 3m glass column을 사용하였으며, column의 온도는 160℃에서 시작한 후, 4℃/min의 속도로 증가하여 215℃에서 멈추도록 program 되었고 injection temperature는 200℃였다.

### 3) 통계처리 방법

각 군간의 실험결과와의 차이에 대한 통계적 유의성은 student's ttest<sup>18)</sup>로 점검하였다.

### 실 험 II

실험동물 및 식이조성은 실험 I에서와 같다. Sampling은 생후 1, 14, 21, 35, 70일에 하였고 sampling 방법은 실험 I과 같다.

실험 I과 같은 방법으로 추출된 지질은 silica gel G를 입힌 thin layer에서 chloroform : methanol : water (65 : 25 : 4)의 전개 용매를 사용하여 phosphatidylcholine 과 phosphatidylethanolamine 을 분리하였다<sup>19)</sup>. Dichloromethane에 녹인 0.05% rhodamine 6G 용액을 분무하고, 자외선 램프로 보아 나타나는 각 band들을 screw capped test tube에 긁어 모았다. 5 ml의 chloroform : methanol : water : acetic acid (5 : 4 : 1 : 0.1)의 용액으로 인지질을 용출시켰다. 인지질 eluate 들의 지방산 조성은 실험 I에서와 같은 방법으로 측정하였다.

### 실험결과 및 고찰

#### 실 험 I

뇌 총지질의 지방산 조성은 표 2와 같다. Palmitic, stearic, oleic acids가 주요 지방산으로서 전체의 50% 이상을 차지하였고, arachidonic acid (C<sub>20:4</sub>), docosahexaenoic acid (C<sub>22:6</sub>), 그리고 C<sub>24:4</sub>와 C<sub>24:5</sub>

로 여겨지는 두 지방산이 나머지의 대부분을 차지하였다. 그 외에도 소량의 docosatetraenoic (C<sub>22:4</sub>), docosapentaenoic (C<sub>22:5</sub>), eicosenoic (C<sub>20:1</sub>)와 C<sub>16</sub> 이하의 포화지방산이 관찰되었다. arachidonic acid의 양이 부족식이군의 생후 5일된 쥐에서 control보다 유의적으로 감소했으나 다른 모든 나이에서는 지방산 조성에 있어서 유의적인 차이가 없었다.

Myelin 지질의 특징적 성분인 eicosenoic acid (C<sub>20:1</sub>)의 극소량이 생후 15일된 control group의 뇌에서 발견되었으나 같은 나이의 부족식이군에서는 전혀 나타나지 않았다. 그러나 생후 21일부터는 모든 group에서 충분한 양이 발견되었다. 유의적인 차이는 아니었으나, 이 지방산의 함량은 control에 비해 부족식이군에서 더 낮은 경향이 있었다. 이것은 pyridoxine 결핍이 myelin에서의 지방산 조성에 영향을 미칠 수 있다는 가능성을 시사한다.

#### 실 험 II

Phosphatidylcholine 과 phosphatidylethanolamine의 지방산 spectrum은 총지방에서보다 훨씬 총지방에서 상당량이 존재했던 C<sub>24:4</sub>와 C<sub>24:5</sub>로 여겨지는 지방산들이 phosphatidylcholine이나 phosphatidylethanolamine에서는 발견되지 않았다. 뇌의 phosphatidylcholine은 polyunsaturated fatty acid(PUFA)의 함량이 상대적으로 낮은 것이 특징이다 (표 3). 총지방에서와 같이 palmitic, stearic, oleic acid가 주요 지방산이지만 그 함량이 전체의 80%나 차지했고, 이 수치는 나이가 들어가면서도 거의 일정하게 유지되었다. 나이가 들면서 palmitate 보다 작은 포화지방산, palmitate, palmitoleate가 감소하는 대신 stearate, oleate, linoleate와 docosahexaenoate가 증가하였다. Phosphatidylcholine의 지방산 함량들은 출생 직후만 제외하고는 세 group에서 서로 다르지 않았다. 출생 직후 부족식이군의 anachidonic acid의 함량이 control에 비해 유의적으로 낮았다. 이때 부족식이군의 palmitic acid 함량은 control보다 감소했고, oleic acid는 증가했다. 이 이들은 유의적이였다.

반면에 phosphatidylethanolamine은 상당량의 PUFA를 포함한다 (표 4). Palmitic acid가 10% 정도를 차지했고 palmitic, stearic, oleic acid의 합이 47% 정도였다. Phosphatidylethanolamine에서는 나이가 들에 따라 oleic, linolenic, 그리고 docosahexaenoic acid는 증가되고 arachidonic acid와 docosapentaenoic acid는 감소하였다. Arachidonic acid는 생후 14일까

- 장기간의 Pyridoxing 부족이 흰쥐 뇌의 지방산 조성에 미치는 영향 -

Table 3 Effect of long-term pyridoxine depleted diet on the fatty acid composition of rat brain phosphatidylcholine (%).

group	below C16:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C20:3	C22:4	C22:4	C22:5	C22:6
1-CC	2.70 a	51.72	7.29	6.07	21.94			6.62		1.16	
	±0.63	±1.29	±0.59	±0.25	±0.41			±0.33		±0.33	
1-DD	2.36	48.90*	8.01	7.00	23.54**			5.85*		1.06	
	±0.27	±1.82	±0.55	±1.50	±0.29			±0.20		±0.25	
14-CC	1.45	46.09	4.26	12.83	21.64	2.27	0.43	7.82	0.64	1.58	0.53
	±0.38	±1.82	±0.24	±0.95	±0.74	±0.25	±0.12	±1.01	±0.16	±0.39	±0.19
14-DD	1.28	49.34	4.46	10.39	20.90	1.27	0.42	8.86	0.78	1.22	0.68
	±0.19	±2.88	±0.29	±1.30	±0.86	±0.59	±0.08	±0.71	±0.17	±0.34	±0.43
21-CC	0.61	45.75	1.64	11.91	20.77	1.14	1.11	7.16	1.18	1.39	0.90
	±0.08	±3.03	±0.24	±1.08	±0.63	±0.11	±0.13	±0.80	±0.30	±0.09	±0.21
21-DD	0.69	43.61	1.38	14.80	24.76	1.73	1.91	6.41	1.18	1.32	0.92
	±0.23	±2.86	±0.04	±2.41	±2.33	±1.36	±1.01	±0.83	±0.30	±0.58	±0.06
35-CC	0.11	40.64		18.59	36.45	0.85	1.28	5.96	1.42	2.15	2.19
	±0.12	±2.35		±4.11	±2.01	±0.11	±0.32	±0.30	±0.40	±0.87	±1.18
35-DD	0.12	37.10		16.68	38.06	1.95	1.50	7.01	1.47	1.67	1.16
	±0.12	±2.72		±1.44	±1.90	±0.91	±0.22	±0.82	±1.11	±0.51	±0.19
35-DC		42.88		15.44	27.17	1.20	1.66	6.12	0.99	1.50	1.28
		±1.55		±1.44	±0.65	±0.36	±0.24	±0.67	±0.29	±0.54	±0.26
70-CC		36.62		17.35	27.91	1.83	2.38	6.40	1.15	0.94	2.07
		±4.07		±0.52	±1.62	±0.31	±0.47	±1.86	±0.80	±0.31	±0.35
70-DD		31.21		17.73	29.90	1.75	2.64	6.79	1.37	1.22	2.23
		±1.78		±2.69	±1.55	±0.64	±0.34	±1.26	±0.22	±0.45	±0.58
70-DC		37.87		16.73	29.00	1.25	2.29	5.95	1.36	1.16	2.43
		±1.60		±1.85	±0.62	±0.63	±0.13	±0.36	±0.45	±0.34	±0.32

a : mean±S.D.  
 CC: control.  
 DD: deficient throughout.  
 DC: deficient group supplemented at 21 days postpartum.  
 \*: P<0.05 significantly different from control group.  
 \*\*: P<0.01, significantly different from control group.

Table 4. Effect of long-term pyridoxine depleted diet on the fatty acid composition of rat brain phosphatidylethanolamine (%).

groups	below C16:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:4	C22:4	C22:5	C22:6
1-CC	5.12 a	13.42	1.15	24.87	8.63	2.99		16.07	5.96	16.38	6.06
	±1.60	±2.60	±0.27	±4.10	±1.23	±0.66		±1.15	±0.90	±0.29	1.48
1-DD	4.31	12.88	1.56	23.44	11.48	3.07		14.72**	4.54*	14.72**	9.42
	±1.65	±0.96*	±0.53	±3.18	±2.04	±1.85		±1.17	±0.26	±0.51	0.99
14-CC	5.39	9.23		25.96	7.38	1.65		20.77	7.87	13.16	9.42
	±1.45	±1.33		±2.82	±2.11	±1.53		±1.77	±2.17	±1.74	0.81
14-DD	6.97	12.69		27.14	8.58	1.87		19.75	5.39	8.81*	7.78*
	±2.45	±0.54		±3.16	±0.81	±1.30		±3.54	±0.08	±0.35	0.99
21-CC	6.30	10.35		21.36	12.10	1.64	1.11	16.96	7.39	10.02	9.01
	±0.83	±0.03		±1.84	±0.37	±1.23	±0.06	±0.70	±0.65	±0.28	0.60
21-DD	6.39	8.58		23.05	11.76	1.90	1.55	16.59	7.17	10.76	9.60
	±0.58	±0.59		±0.32	±0.82	±0.24	±0.21	±0.99	±0.33	±0.65	0.42
35-CC	6.04	6.25		22.63	15.32	0.30	2.00	14.97	6.55	9.34	9.95
	±0.77	±0.31		±1.50	±0.98	±0.11	±0.57	±0.67	±0.20	±0.34	0.70
35-DD	5.05	7.11		24.06	16.94		2.33	14.27	6.83	8.70	9.74
	±0.54	±1.88		±2.34	±0.11		±0.47	±1.15	±0.05	±1.62	0.61
35-DC	4.56	6.96		25.14	15.86	0.52	2.29	13.09	6.16	9.15	9.40
	±1.23	±0.50		±1.68	±0.88	±0.62	±0.11	±0.82	±0.44	±0.99	0.74
70-CC	6.03	9.40		24.61	17.26	2.30	1.11	12.87	6.36	6.68	9.47
	±1.43	±1.80		±1.06	±1.11	±1.15	±0.70	±0.71	±0.44	±0.96	1.19
70-DD	6.67	8.31		24.19	16.88	1.48	3.58	13.16	6.99	7.76	10.01
	±1.57	±0.76		±2.35	±0.59	±0.24	±0.68	±0.17	±0.70	±1.61	1.08
70-DC	6.20	11.04		22.77	17.60	3.14	3.48	11.78	6.71	6.07	9.06
	±2.10	±4.55		±3.54	±1.09	±3.52	±0.01	±1.88	±2.71	±1.97	3.39

a : mean±S.D.  
 CC: control.  
 DD: deficient throughout.  
 DC: deficient group supplemented at 21 days postpartum.  
 \*: P<0.05, significantly different from control group.  
 \*\*: P<0.01, significantly different from control group.

지는 증가하다가 그후 감소했다. 장기간 pyridoxine이 부족된 쥐는 출생 직후 phosphatidylethanolamine의  $C_{22:4}$ 와  $C_{22:5}$  함량이 유의적으로 감소했으며 생후 14일 된 쥐의 뇌에서는  $C_{22:5}$ 와  $C_{22:6}$ 이 control에 비해 감소되었고 palmitic acid가 유의적으로 증가되었다.

장기간의 pyridoxine 부족으로 출생 직후와 생후 5일, 14일 된 쥐의 뇌 총지질 혹은 phosphatidylcholine과 phosphatidylethanolamine에서  $C_{20:4}$ ,  $C_{22:4}$ ,  $C_{22:5}$ ,  $C_{22:6}$  등 PUFA 함량이 감소되긴 했으나 21일부터는 이러한 차이들이 사라졌다. 또 차이가 난 지방산들 종류에 일관성이 없기 때문에 pyridoxine이 부족된 쥐에서 나타난 지방산 조성 변화의 주요 부분은 pyridoxine 부족 자체에 의한 specific한 결과로 보기 보다는 일반적인 성장지연에 따른 간접적인 결과로 보여진다.

출생 직후 D group에서 phosphatidylcholine의 oleic acid와 생후 14일에 phosphatidylethanolamine의 palmitic acid의 함량이 증가한 것은 중요한 의미를 갖는 것으로 보이지 않으며, 이유 전 PUFA의 함량이 부족식이군에서 control보다 감소됨에 기인하는 것으로 보인다.

Pyridoxal phosphate는 linoleic acid의 desaturation에 관여함으로써 arachidonic acid에 영향을 준다는 가설이 있으나 여기에는 아직도 이론이 많다. Wiffen과 Holman<sup>8)</sup>은 linoleate가 arachidonate로 전환되는 데에 pyridoxine이 촉진작용을 한다고 보고하였다. Chrayil과 Cyrus<sup>9)</sup>는 antagonist인 4-methoxymethyl pyridoxine (4-MMP)를 사용하여 mouse brain의 monounsaturated fatty acid와 polyunsaturated fatty acid의 대사를 변화시켰다고 보고했다.

Sato<sup>10)</sup>는 pyridoxine이 결핍된 쥐의 간에서 linoleic acid 함량이 control에 비해 유의적으로 높고 arachidonic acid 함량은 유의적으로 낮음을 발견했다. 최근에는 Cunnane과 Manku<sup>20)</sup>가 pyridoxine이 결핍된 쥐의 간에서 linoleic acid desaturation과 r-linolenic acid elongation이 모두 장애를 받는다고 보고하였다. 또 pyridoxine의 결핍으로 간의 중성지방과 인지질 사이의 필수지방산의 turnover가 장애를 받는다고 주장하였다.

그러나, pyridoxine이 PUFA의 대사에 관여하지 않는다고 주장하는 보고들도 있다. Delorme와 Lupien<sup>21)</sup>은 장기간에 걸친 과량의 pyridoxine식이 쥐의 간, 혈장, 신장 등의 조직에서 주요 인지질의 지방

산 조성에 미치는 영향을 연구한 결과, pyridoxine이 PUFA의 상호전환에 관여함을 입증하지 못했다. 그들은 pyridoxine 처리한 쥐들에서 일어난 변화의 주는 pyridoxine 처리 자체로 보기 보다는 쥐의 나이나 성장에 따른 것이라고 주장하였다. Dussault와 Lepage<sup>13)</sup>는 pyridoxine이 결핍된 쥐의 지방산 대사를 in vitro 연구한 결과 palmitate와 linoleate의 대사가 크게 변함을 보고하였는데, 이젠 연구들이 보고했던 arachidonate의 함량 감소는 arachidonate의 대사가 달라졌기 때문으로 설명할 수 없다고 강력히 주장하였다. Williams와 Scheier<sup>22)</sup> pyridoxine 부족과 지방산 조성과의 관계를 좀더 명확히 살펴보고자 일련의 실험을 하였다. Pyridoxine 결핍의 정도를 여러가지로 만든 쥐들에게 methyl linoleate를 섭취시켜 보았는데, pyridoxine이 완전히 결핍되었던 경우에만 linoleate에서 arachidonate로 전환되는 양이 감소했고, 또 소량의 pyridoxine으로도 이것을 시정했음이 보여졌다. 따라서 이 반응에 대한 pyridoxine의 역할은 제한된 정도에 지나지 않음이 보여졌다.

위의 결과들을 종합해 보면 pyridoxine이 PUFA 대사에 관여하느냐에 대한 문제는 논란의 여지가 많기도 하려니와 PUFA 대사에 관여함을 지지하는 보고들 중에서도 각기 주장하는 결과들이 서로 일관성이 없다. Arachidonic acid 합성이 저하됨에 따라 linoleate가 축적된다고 하는 주장들<sup>8)~10)19)</sup>이 있는가하면 또 어떤 보고<sup>14)</sup>에서는 pyridoxine 부족이 linoleate를 포함한  $\omega_6$  지방산들의 감소를 초래한다고도 하였다.

본 실험결과에서는 pyridoxine의 부족으로 인해 어떠한 일관성 있는 감소나 증가가 총지질이나 인지질의 지방산 조성에 나타나지 않았다. 여러 보고들이 서로 다른 결과를 제시하는 것은, 각기 분석에 사용한 조직이 다른 데에도 원인이 있을 수 있다. 본 실험에서도 식이성 영양실조에 의해서 다른 조직보다 훨씬 덜 심각하게 영향을 받는 뇌를 사용하였는데 이 사실이 본 실험 결과에 영향을 주었을 가능성도 있다고 생각한다.

## 결 론

1.2 mg pyridoxine · HCl/kg diet 정도로 pyridoxine 부족이 장기간 계속되었을 때, 흰쥐의 뇌조직 중 총지질과 phosphatidylcholine 및 phosphatidylethanolamine 등 인지질의 지방산 조성에 일관적인 유의적 차이를 나타내지 않으므로, 뇌조직의 지방산 대사에는 pyridoxine이 specific하게 작용한다고 볼 수 없다.

REFERENCES

- 1) Wachstein, M.: *Evidence for a relative vitamin B<sub>6</sub> deficiency in pregnancy and some disease states. Vitamins and Hormones.* 22:705, 1964.
- 2) Schuster, K., Bailey, L.B. and Mahan, C.S.: *Vitamin B<sub>6</sub> status of low-income adolescent and adult pregnant women and the condition of their infants at birth Amer. J. Clin. Nutr.* 34: 1731-1735, 1981.
- 3) Pang, R.L. and Kirksey, A.: *Early postnatal changes in brain composition in progeny of rats fed different levels of dietary pyridoxine. J. Nutr.* 104: 111-117, 1974.
- 4) Driskell, J.A., Strickland, L.A., Poon, C.H. and Fochee, D.P.: *The vitamin B<sub>6</sub> requirement of the male rats as determined by behavioral patterns, brain pyridoxal phosphate and nucleic acid composition and erythrocyte alanine aminotransferase activity. J. Nutr.* 103:670-689, 1973
- 5) Moon, W.Y. and Kirksey, A.: *Cellular growth during prenatal and early postnatal period in progeny of pyridoxine deficient rats. J. Nutr.* 103: 123-133, 1973
- 6) Brady, R.O., Fomica, J.U. and Koval, G.J.: *The enzymatic synthesis of sphingosine. II. Further studies on the mechanism of reaction. J. Biol. Chem.* 233:1072-1075, 1958.
- 7) D'Adamo, A.F.: *In Handbook of Neurochemistry. Vol. 3. pp. 525-546, Lajtha, A. ed. Plenum Press, N.Y. 1970.*
- 8) Witten, P.W. and Holman, R.T.: *Polyenoic fatty acid metabolism VI. Effect of pyridoxine on essential fatty acid conversion. Arch. Biochem. Biophys.* 41:266-273, 1952.
- 9) Cherayil, G.D. and Cyrus, A.E. Jr: *Effect of 4-methoxy methyl pyridoxine on ganglioside, cholesterol and fatty acids in mouse brain. J. Neurochem.* 19: 1215-1219, 1972.
- 10) Sato, Y.: *A possible role of pyridoxine in lipid metabolism. Nagoya J. Med. Sci.* 33:105-130, 1970.
- 11) Greenberg, L.D. and Moon, H.D.: *Alterations in the blood fatty acids in single and combined deficiencies of essential fatty acids and vitamin B<sub>6</sub> in monkeys. Arch. Biochem. Biophys.* 94:405-416, 1961.
- 12) Kirschman, J.C. and Coniglio, J.C.: *The role of pyridoxine in metabolism of PUFA in rats. J. Biol. Chem.* 236: 2200-2203, 1961.
- 13) Dussault, P.E. and Lepage, M.: *In vitro studies of fatty acid metabolism in vitamin B<sub>6</sub> deficient rats. J. Nutr.* 109:138-141, 1979.
- 14) Thomas, M.R. and Kirksey, A.: *Postnatal patterns of fatty acids in brain of progeny from vitamin B<sub>6</sub> deficient rats before and after pyridoxine supplementation. J. Nutr.* 106: 1415-1420, 1976.
- 15) McIlwain, H. and Bachelard, H.S.: *Cerebral lipids. In: Biochemistry and Central Nervous System. pp. 308-367, Churchill Livingstone, London, 1971.*
- 16) Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G.H.: *A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem.* 226: 497-509, 1957.
- 17) Morrison, W.R. and Smith, L.M.: *Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl lipids with boron fluoride-methanol. J. Lip. Res.* 5: 600-608, 1964.
- 18) Chao, L.L.: *Statistics. In: Methods and analyses. 2nd ed. McGraw-Hill, pp. 268-274, 1974.*
- 19) Delorme, C.B. and Lupien, P.J.: *The effect of vitamin B-6 deficiency on the fatty acid composition of the major phospholipids in the rat. J. Nutr.* 106: 169-180, 1976.
- 20) Cunnane, S.C., Manku, M.S. and Horrobin, D.F.: *Accumulation of linoleic acid and  $\gamma$ -linolenic acid in tissue lipids of pyridoxine-deficient rats. J. Nutr.* 114: 1754-1761, 1984.
- 21) Delorme, C.B. and Lupien, A.J.: *The effect of a long-term excess of pyridoxine on the fatty acid composition of the major phospholipids in the rat. J. Nutr.* 106: 976-984, 1976.
- 22) Williams, M.A. and Scheier, G.E.: *Effect of methyl arachidonate supplementation on the fatty acid composition of livers of pyridoxine-deficient rats. J. Nutr.* 74: 9-15, 1961.