

## 리보플라빈이 뇌조직의 지방과 신경전달 물질대사에 미치는 영향\*

이상선 · 안혜선 · 남혜경\*\* · 김선희\*\*

한양대학교 가정대학 식품영양학과  
국민대학교 사범대학 가정교육학과\*\*

### Effect of Riboflavin on the Metabolism of Lipids and Neurotransmitter in Rat Brain

Lee, Sang Sun · Ahn, Hae Sun · Nam, Hae Kyung\*\* · Kim, Sun Hee\*\*

*Department of Food and Nutrition, Hanyang University, Seoul, Korea*

*Department of Home Economics,\*\* Kookmin University, Seoul, Korea*

#### ABSTRACT

Rats were fed for an 8-week period a low riboflavin diet(5 $\mu$ g riboflavin/day) or a control diet(30 $\mu$ g/day) supplied either ad libitum or by pair feeding in order to study the effect of riboflavin on the metabolism of lipids and neurotransmitters. Erythrocyte glutathione reductase (EGR) and monomine oxidase(MAO) activity in the liver and brain were assayed. EGR activity coefficient in riboflavin deficient rats was significantly higher than in ad libitum controls whereas MAO activity was decreased in the deficient rats. Fatty acid composition showed a different trend in the serum, liver and brain. In the serum, the concentrations of essential fatty acids and  $\omega$ -3 fatty acids(eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid) were decreased about 20-40% in the deficient and pair-fed rats than in the ad libitum controls. Brain serotonin and 5-HIAA(5-hydroxyindole acetic acid) concentrations were decreased in the riboflavin deficient rats. Learning ability measured by a water maze and exploratory activity using the open field test were not impaired in the deficient rats. These results indicate that brain lipid metabolism was protected in subclinical riboflavin deficiency, however, riboflavin deficiency affected brain serotonin content.

KEY WORDS : riboflavin · lipid metabolism · neurotransmitter.

#### 서 론

리보플라빈(비타민 B<sub>2</sub>)은 결핍증이 생명을 위협

채택일 : 1993년 7월 21일

\*이 논문은 1991년도 교육부 학술진흥재단의 자유공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

할 정도로 심각하지 않기 때문에 별로 관심을 갖지 않는 비타민이지만 우리나라 국민영양조사 결과<sup>1)</sup> 가장 부족되기 쉬운 비타민 중의 하나이다. 특히 임산부나 어린이 중에서 우유를 섭취하지 않는 경우에는 리보플라빈이 부족되기 쉽다.

리보플라빈은 조효소형인 flavin mononucleotide

(FMN)와 flavin adenine dinucleotide(FAD)로서 지방대사에 필수적인 비타민이다. 지방산 산화의 첫 단계를 촉매하는 효소인 acyl-CoA dehydrogenase는 FAD를 조효소로 사용하므로 리보플라빈 결핍시 지방산 산화가 저하되며<sup>2)</sup> 간에 중성지방이 축적되고<sup>3)</sup> 혈청과 간에서 linoleic, linolenic, arachidonic acid의 농도가 저하되어 필수지방산 결핍시와 비슷한 현상이 야기된다<sup>4)</sup>. 또한 Electron-transfer flavoprotein(ETF)은 acyl-CoA dehydrogenase로부터 ETF-tubiquinone reductase로 전자를 전달해 주는 FAD flavoprotein으로 알려져 있다. 포화지방산에 이중결합을 형성하는 과정에서 cytochrome B<sub>5</sub> reductase가 NADP에서 cytochrome B<sub>5</sub>로 전자를 전달해 주는 작용을 하는데 이 효소도 flavoprotein이다<sup>5)</sup>. 그 외에도 NADPH-cytochrome P-450 reductase는 FAD와 FMN을 모두 함유한 효소로서 지방의 과산화작용에 관여하고<sup>6)</sup> 리보플라빈이 carnitine 대사에도 영향을 미치는 것으로 추측되어 세포막을 통한 지방산의 운반에도 관여하는 것으로 생각된다<sup>7)</sup>.

이와같이 리보플라빈이 지방의 운반, 산화, desaturation, 과산화작용 등에 관여하는 것을 고려할 때 리보플라빈 결핍시 여러가지 지방대사의 변화를 예상할 수 있다. Hoppel과 Tandler는<sup>8)9)</sup> 리보플라빈이 결핍된 쥐의 조직에서 trienoic acid의 함량이 높아지며 정상쥐보다 trienoic/tetraenoic acid의 비가 높아지는 것을 관찰하였다.

또한 리보플라빈이 결핍된 쥐에서 중추신경계와 말초신경계의 수초의 퇴화 현상(myelin sheaths degeneration)이 나타나는데<sup>10)</sup> 사람에게도 galactoflavin(리보플라빈의 길항물질)으로 리보플라빈 결핍을 유발시켰을 때 말초신경계의 질환이 나타났다는 보고가 있다<sup>11)12)</sup>. 이와같은 신경수초의 이상은 리보플라빈결핍으로 인한 지방대사의 이상과 관련이 있는 것으로 사료된다. 리보플라빈은 monoamine oxidase(MAO)와 diamine oxidase의 활성을 위해서도 FAD 조효소로 필요하며, 이 효소들은 중추신경계에서 catecholamine, serotonin, histamine 등을 불활성화 시키는 작용을 한다<sup>13)14)</sup>. 리보플라빈이 결핍된 동물의 조직에서 MAO 활성과 epineph-

rine 등의 농도를 측정된 결과 Sourker<sup>15)</sup>등은 간과 뇌의 epinephrine 함량은 감소되었으나 부신과 비장에서는 변화가 없었다고 하며 Leodolter와 Genner는<sup>16)</sup> 간에서 MAO 활성은 감소되었으나 뇌에서는 아무런 변화가 없었다고 보고하였다. Arakawa등<sup>17)</sup>은 리보플라빈이 결핍된 어린이들에게서 지적발달이 지연되고 뇌파검사에서 뇌파의 변화가 있음을 보고하였고 Fordyce와 Driskell<sup>18)</sup>은 태아기 아 수유기에 리보플라빈을 결핍시킨 쥐에서 행동형태의 변화가 일어나 과잉반응성이 나타남을 관찰하였다. 이와같이 리보플라빈이 신경전달물질의 대사에 관여하므로 중추신경계에서 리보플라빈 결핍이 미치는 영향은 지방대사 변화에 따른 이상과 더불어 신경전달물질의 이상도 함께 살펴볼 가치가 있다.

따라서 본 연구에서는 한국인에게 매우 부족되기 쉬운 비타민인 리보플라빈 결핍이 중추신경계에 미치는 영향을 알고자하여 두번의 실험을 실시하였다. 실험 I에서는 리보플라빈의 영양상태 지표로 가장 널리 이용되고 있는 적혈구의 glutathione reductase의 활성계수와 MAO 활성도 및 뇌의 지방산 조성을 측정하였고, 실험 II에서는 행동발달을 관찰하고 신경전달물질 중 serotonin과 그 대사물질인 5-hydroxyindole acetic acid(5-HIAA)의 함량을 측정하여 관련성을 알고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

본 실험에 사용한 쥐는 평균 체중이 약 70g 정도되는 수컷 흰쥐(Sprague Dawley)로 한번의 실험에 30마리를 10마리씩 3군으로 나누었으며 2번의 실험(I, II)에 총 60마리였다. 실험 I에서는 2일간 실험실의 환경에 적응시킨 후 8주간 사육하였다. 실험 II에서는 10일간 적응시켜 평균 체중이 106.4 ± 9.4g인 동물을 실험 I과 마찬가지로 8주간 사육하고 사육실의 온도는 22 ± 2°C, 상대습도는 65 ± 5%를 유지하도록하고 매일 광주기와 암주기를 12시간이 되도록 빛을 조절하였다. 실험 II에서는 행동검사를 할 때 밤의 주기가 되도록 낮(23 : 00-

11:00)과 밤(11:00-23:00)을 조정하였다.

8주간 사육한 후 24시간 절식시키고 실험 I에서는 ether로 마취한 혈액을 심장에서 채취하고 뇌와 간을 적출한 다음 무게를 측정하였으며 실험 II에서는 단두기로 희생시켜 뇌를 꺼낸 즉시 dry ice로 얼려 냉동보관하였다.

2. 실험 식이

실험식은 Table 1에서 보듯이 vitamin mixture에서 riboflavin을 제외한 표준식을 사용하였다. 매일 9:00-10:00에 식이를 제공하였으며 표준식을 주기전에 다른 점시에 표준식이 1g에 riboflavin 용액 1ml을 섞어서 separate feeding으로 먹였다. Riboflavin 용액은 1% 설탕물에 ml당 riboflavin이 30µg과 5µg 함유되도록 두 종류를 만들어 매일 1ml씩 섭취하도록 하였다. Pair-fed군은 결핍군과 짝을 지어 결핍군의 식이 섭취량만큼을 제공하여, 결핍군과 대조군의 차이가 riboflavin의 영향인지 또는 riboflavin 결핍에서 오는 식이 섭취량 부족의 영향인지를 구별할 수 있도록 하였다. 동

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredient	g/100g Diet
Casein(vitamin-free)	20
Corn Starch	20
Sucrose	45
Soybean Oil	5
Cellulose	5
Mineral Mixture <sup>1)</sup>	3.5
Vitamin Mixture <sup>2)</sup>	1
Choline Chloride	0.2
Methionine	0.3

- 1) Mineral mixture(g in 100g) : CaCO<sub>3</sub> 29.29, CaHPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.43, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 34.31, NaCl 25.06, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 9.98, Fe(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>) · 6H<sub>2</sub>O 0.623, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.156, MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 0.121, ZnCl<sub>2</sub> 0.02, KI 0.005, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O 0.0025, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.0015
- 2) Vitamin Mixture(mg in 100g) : Retinol-acetate 93.2, VD<sub>3</sub> 0.582, α-tocopherol-acetate 1200.0, VK<sub>3</sub> 6.0, Thiamin-HCl 59.0, Pyridoxine-HCl 29.0, VB<sub>12</sub> 0.2, VC 588.0, D-biotin 1.0, Folic acid 2.0, Ca-pantothenate 235.0, Inositol 1176.0, Nicotinic acid 294.0, Sucrose 96316.017

물의식이섭취량은 매일 측정하였고 체중은 1주일에 2회 측정하였다.

3. EGR과 MAO의 활성도 측정

EGR과 분석방법은 Glatzle등<sup>19)</sup>이 사용한 방법을 이용하여 적혈구에서 분석하였고 FAD 첨가효과에 따른 활성계수(activity coefficient)로 나타내었다.

뇌, 간의 MAO 분석을 위한 sample조제는 Kearney<sup>20)</sup>등의 방법에 의해 준비하였고 MAO의 활성도 측정은 Salach<sup>21)</sup>에 의한 방법을 이용하였는데 benzylamine을 기질로하여 250nm에서 10분간 OD값의 변화를 측정하였다. 1 unit는 1분당 OD값이 0.001 증가하는 것으로 정의하였다.

4. 지방산 분석

지방산분석을 위한 sample 조제는 Flicher등<sup>22)</sup>의 방법을 이용하여 분석하였다. 지방산의 정량분석은 Lapage와 Roy<sup>23)</sup>의 방법과 Chee등<sup>24)</sup>의 방법을 변형하여 분석하였다.

5. Serotonin의 측정

뇌 중의 serotonin과 그 대사 물질인 5-HIAA의 함량은 Curzon과 Green법<sup>25)</sup>에 의하여 뇌조직을 homogenize하여 냉장 원심분리 시킨 후 acidified butanol과 heptane으로 처리하고 o-phthalaldehyde와 반응시켜 fluorescence를 측정하여 정량하였다.

6. 행동 측정

행동발달은 Barnes등<sup>26)</sup>이 사용한 Y형 수미로틀 제작하여 학습행위를 측정하였고 open field를 이용하여 정서발달을 측정하였다<sup>27)28)</sup>. 검사는 실험 6주부터 일요일을 제외한 월요일부터 토요일까지 1주일에 6번 이루어졌으며 Y형 수미로검사는 3주간, 또다른 미로는 실험 8주의 1주간, 그리고 open field 검사는 실험 7, 8주의 2주간 실시되었다. 검사는 밤의 주기인 15:00부터 18:00사이에 행하여졌으므로 실험실에서는 식별이 가능한 정도의 적색등만 사용하였다.

7. 자료의 통계처리

본 연구의 모든 실험 결과는 One Way Analysis of Variance에 의해 분석하였으며 각 평균간의 유

의성 검증은 Duncan's multiple range test로 유의 수준  $\alpha=0.05$ 에서 비교하였다. 행동 측정의 결과는 정규 분포의 의미가 없으므로 nonparametric 통계<sup>29)</sup>에 의하여 Mann-Whitney's와 Kruskal-Wallis test에 의하여 실험군간의 유의성을 검증하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1. 체중과 사료효율

각 실험군간의 체중증가는 Fig. 1에서 보여지듯이 RF(riboflavin) 결핍군에서 가장 적었는데 이는 식이섭취량 저하에 더하여 RF부족으로 인한 것임을 알 수 있다. 사료효율은 RF결핍시 저하되었고 Pair-fed군의 사료효율은 대조군과 같았다.

#### 2. 실험동물의 장기무게

각 실험군의 뇌, 간의 무게는 Table 2에 나타나 있다. 뇌의 무게는 각군간에 별 차이가 없었으나

체중당으로 계산했을때는 결핍군과 pair-fed군에서 유의적으로 높게 나타났다. 이는 RF결핍이나 식이 제한시 체중은 감소되는데 반해 뇌의 무게는 감소되지 않았기 때문이다.

뇌와는 달리 간의 무게는 RF 결핍이나 식이제

Table 2. Organ weight of experimental rats

Group	Brain	Liver
..... g .....		
Control	1.78 ± 0.03 <sup>1)</sup>	10.06 ± 0.30 <sup>2)</sup>
Deficient	1.75 ± 0.12	6.82 ± 0.30 <sup>c</sup>
Pair-fed	1.77 ± 0.03	8.06 ± 0.32 <sup>b</sup>
..... % B.W. ....		
Control	0.54 ± 0.02 <sup>c</sup>	3.04 ± 0.07
Deficient	0.79 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.83 ± 0.23
Pair-fed	0.66 ± 0.03 <sup>b</sup>	2.77 ± 0.24

1) Mean ± SEM.

2) Values with different superscripts are significantly different among groups at the 0.05 level by the Duncan's multiple range test.

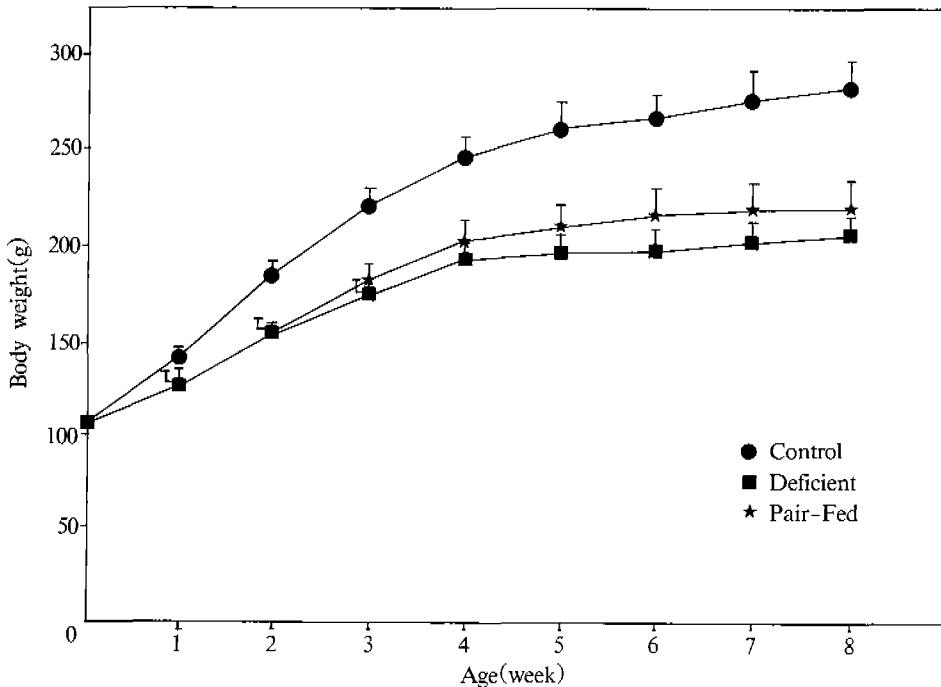


Fig. 1. Body weight gain.

\*Significantly different from other groups at the 0.05 level according to the Duncan's multiple range test.

한시 현저하게 감소되는 것을 볼 수 있었으며 간의 무게 감소는 체중의 감소와 함께 일어나서 체중당 무게는 각군간에 별차이가 없었다.

### 3. EGR과 MAO 활성도

Table 3에서 보여주듯이 대조군과 pair-fed군의 EGR 활성계수는 차이가 없었고 결핍군에서만 현저하게 증가되어 RF이 결핍되었음을 알 수 있다. 그러나 실험동물의 사육기간동안 RF결핍의 임상적 증상은 보이지 않았다.

본실험은 Table 3에서 보듯이 간에서의 MAO 활성도는 RF결핍군이 다른 두군에 비해 상당히 저하되는 경향을 볼 수 있었다. 그리고 뇌조직에서도 RF결핍군이 정상군이나 pair-fed군에 비해 약간 떨어졌으나 통계적으로 유의성은 없었다. Leodolter와 Genner의 연구결과<sup>16)</sup>에서도 RF결핍시간에서 MAO 활성이 저하되었다고 보고 하였으며 뇌에서는 변화가 없었다고 하였다. 뇌조직은 간조직에 비해 RF 결핍에 의한 영향을 덜 받은 것으로 사료된다.

### 4. 혈청, 간, 및 뇌의 지방산 함량 변화

간은 리보플라빈 결핍에 의해 지방대사에 영향을 많이 받는 조직이므로 뇌조직과 비교하고자 지방 조성을 조사한 결과 간이나 뇌조직의 총지질함량은 각 군사이에서 차이가 나타나지 않았다. 다른연구에서는 RF결핍시 간조직에 중성지방이 축적되는 것을 관찰<sup>3)</sup>하였고 뇌조직에서는 지방함량이 감소되는 것으로 보고<sup>10)</sup>되었는데 본 연구에서는 뇌조

직에서 약간 감소되는 추세는 보였지만 유의적인 차이는 보이지 않았다. 아마도 식이중의 지방함량이 5%로써 다른연구들의 10~20%에 비하여 낮았기 때문으로 사료된다.

혈청의 지방산함량을 Table 4에서 살펴보면 대조군에서 다른 두군에 비해 유의적으로 높은 것을 볼 수 있다. 그 조성에 있어서는 포화, 단일불포화, 복합불포화지방산의 비가 35 : 15 : 50 정도였고  $\omega$ 3,  $\omega$ 6,  $\omega$ 9지방산의 비가 4 : 73 : 23 정도 되었다. RF 결핍이나 식이제한에 의해 PUFA의 수준이 대조군에 비해 낮아졌으며  $\omega$ 3,  $\omega$ 6지방산의 수준도 저하되는 것이 관찰되었다. 또한 필수지방산의 농도도 현저하게 저하되었다. 특히  $\omega$ 3지방산인 linolenic, EPA(cicosapentaenoic acid), DHA(docosahexaenoic acid)의 수준은 결핍군과 pair-fed군에서 정상군의 60% 정도까지 저하되었다. 이와같은 저하현상은 결핍군과 pair-fed군에서 모두 나타났고 결핍군과 pair-fed군간에는 차이가 없는 것으로 보아 RF의 결핍보다는 식이제한으로 인한 것으로 사료된다.

RF결핍시 미토콘드리아에서 지방산의  $\beta$ -oxidation과 microsomal fatty acid desaturation system의 장애가 일어나고 RF결핍에 있어 고지방 식이를 할 때 간의 기능적 이상과 함께 triglyceride농도는 현저하게 증가된다고 하였다<sup>4)</sup>. 그러나 본실험은 Table 5에서 보듯이 간조직의 지방산함량은 각군간에 별로 차이를 보이지 않았다. 이는 식이중에 지방량이 낮았기 때문으로 사료된다. Linolenic acid만이 결핍군과 pair-fed군에서 대조군보다 현저하게 저하되었고 그에 따라 필수지방산의 농도(TEFA)가 RF결핍군과 pair-fed군에서 낮아지는 경향을 보였으나 통계적으로 유의적이지 않았다. 지방산의 조성은 포화, 단일불포화, 복합불포화지방산의 비가 40 : 14 : 45 정도였고  $\omega$ 3,  $\omega$ 6,  $\omega$ 9지방산의 비가 7 : 68 : 25 정도였다.

Table 6에서 보듯이 뇌조직의 지방산함량은 세군간에 별 차이가 없었다. 특히 생체내 인지질의 필수요소인 필수지방산은 그룹간에 별 차이를 보이지 않았다. 그러나 palmitic acid와 DHA는 RF결핍군과 pair-fed군에서 정상군보다 점차적으로 증가되는 것을 볼 수 있었다. Ogunleye등<sup>30)</sup>의 실험

Table 3. Erythrocyte glutathione reductase(EGR) activity coefficient and MAO activity of liver and brain in experimental rats

Group	EGR	MAO	
		Liver	Brain
		..... $\mu$ /mg protein .....	
Control	1.46 $\pm$ 0.07 <sup>1)a2)</sup>	75.89 $\pm$ 16.48	38.97 $\pm$ 10.04
Deficient	2.10 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	53.70 $\pm$ 9.03	30.36 $\pm$ 7.78
Pair-fed	1.46 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	81.89 $\pm$ 21.39	43.68 $\pm$ 10.15

1) Mean $\pm$ SEM.

2) Values with different superscripts are significantly different among groups at the 0.05 level according to Duncan's multiple range test.

Table 4. Fatty acid composition of rat serum by GLC

Fatty acid	Control	Deficient	Pair-fed
	..... mg/100ml .....		
14 : 0	0.08± 0.15 <sup>1)</sup>	0.70± 0.22	0.62± 0.21
14 : 1ω5	ND <sup>2)</sup>	ND	ND
16 : 0	40.05± 7.61 <sup>3)</sup>	32.60± 3.74 <sup>ab</sup>	30.11± 5.00 <sup>b</sup>
16 : 1T	0.83± 0.22 <sup>a</sup>	0.58± 0.13 <sup>b</sup>	0.54± 0.12 <sup>b</sup>
16 : 1ω7	4.44± 1.21	3.35± 1.04	4.26± 1.06
18 : 0	17.00± 1.74 <sup>a</sup>	15.02± 1.58 <sup>ab</sup>	13.72± 0.83 <sup>b</sup>
18 : 1ω9	22.44± 5.54	18.47± 4.13	19.84± 5.53
18 : 2ω6	34.69± 5.17 <sup>a</sup>	27.13± 3.21 <sup>b</sup>	23.59± 3.34 <sup>b</sup>
18 : 3ω6	0.52± 0.019	0.84± 0.71	0.46± 0.18
18 : 3ω3	2.20± 0.58 <sup>a</sup>	1.33± 0.33 <sup>b</sup>	1.56± 0.38 <sup>ab</sup>
20 : 0	0.15± 0.15	0.09± 0.08	0.10± 0.09
20 : 1ω9	0.24± 0.17	0.32± 0.09	ND
20 : 2ω9	0.19± 0.13	0.28± 0.23	0.15± 0.18
20 : 3ω6	0.41± 0.13	0.37± 0.11	0.37± 0.11
20 : 4ω6	48.06± 5.56 <sup>a</sup>	38.59± 3.87 <sup>b</sup>	35.80± 2.23 <sup>b</sup>
20 : 5ω3	0.49± 0.07 <sup>a</sup>	0.44± 0.17 <sup>a</sup>	0.23± 0.09 <sup>b</sup>
22 : 0	0.87± 0.04	0.87± 0.17	0.81± 0.10
22 : 1ω9	0.13± 0.13	0.07± 0.15	0.13± 0.08
22 : 6ω3	3.53± 0.61 <sup>a</sup>	2.23± 0.36 <sup>b</sup>	1.94± 0.31 <sup>b</sup>
24 : 0	0.58± 0.12	0.49± 0.13	0.42± 0.10
24 : 1ω9	0.42± 0.05 <sup>a</sup>	0.28± 0.06 <sup>b</sup>	0.27± 0.06 <sup>b</sup>
SFA	59.44± 9.49 <sup>a</sup>	49.78± 5.16 <sup>ab</sup>	45.78± 5.71 <sup>b</sup>
MUFA	28.50± 6.89	23.07± 5.15	25.05± 6.71
PUFA	90.09± 11.14 <sup>a</sup>	71.21± 7.45 <sup>b</sup>	64.09± 4.64 <sup>b</sup>
Total ω3 <sup>4)</sup>	6.23± 1.12 <sup>a</sup>	4.00± 0.54 <sup>b</sup>	3.73± 0.46 <sup>b</sup>
Total ω6 <sup>5)</sup>	83.67± 10.65 <sup>a</sup>	66.93± 6.96 <sup>b</sup>	60.22± 4.05 <sup>b</sup>
Total ω9 <sup>6)</sup>	23.42± 5.72	19.42± 4.27	20.39± 5.69
TEFA <sup>7)</sup>	84.95± 10.80 <sup>a</sup>	66.24± 6.60 <sup>b</sup>	61.86± 4.15 <sup>b</sup>

1) Mean± SEM. 2) Not Detectable

3) Values with different superscripts are significantly different among groups at the 0.05 level by the Duncan's multiple range test.

4) Total ω3=C18 : 3ω3+C20 : 5ω3+C22 : 6ω3

5) Total ω6=C18 : 2ω6+C18 : 3ω6+C20 : 3ω6+C20 : 4ω6

6) Total ω9=C18 : 1ω9+C20 : 1ω9+C20 : 2ω9+C22 : 1ω9+C24 : 1ω9

7) TEFA=linoleic+linolenic+arachidonic

에서 뇌의 total phospholipid의 함량이 RF 결핍시와 정상군에서 별차이를 보이지 않는다고 보고 하였다. 지방산의 조성은 포화, 단일불포화, 복합불포화 지방산의 비가 48 : 29 : 23 정도였고 ω3, ω6, ω9 지방산의 비가 23 : 22 : 55 정도였다. 뇌조직은 혈청

이나 간조직보다 포화, 단일불포화지방산이 높고 복합불포화지방산이 현저히 낮은 것을 알 수 있었다. 뇌조직은 ω3 지방산이 혈청이나 간조직의 3~5배 정도 높았으며 ω6 지방산은 1/3 정도로 낮았고 ω9 지방산은 2배정도 높게 나타났다.

뇌조직의 지방과 신경전달물질에 대한 리보플라빈의 영향

Table 5. Fatty acid compositions of rat liver by GLC

Fatty acid	Control	Deficient	Pair-fed
	.....mg/g.....		
14 : 0	0.06± 0.03 <sup>1)</sup>	0.07± 0.07	0.07± 0.01
14 : 1ω5	ND <sup>2)</sup>	ND	ND
16 : 0	6.29± 0.48	5.68± 0.74	6.52± 0.71
16 : 1T	0.09± 0.01	0.09± 0.02	0.10± 0.02
16 : 1ω7	0.50± 0.05	0.44± 0.19	0.67± 0.19
18 : 0	4.01± 0.35	3.99± 0.33	3.31± 1.65
18 : 1ω9	3.54± 0.76	3.52± 1.13	3.93± 0.79
18 : 2ω6	5.46± 0.89	4.94± 0.54	4.68± 0.68
18 : 3ω6	0.07± 0.02	0.09± 0.05	0.07± 0.02
18 : 3ω3	0.22± 0.06 <sup>3)</sup>	0.14± 0.04 <sup>b</sup>	0.13± 0.35 <sup>b</sup>
20 : 0	ND	ND	0.01± 0.02
20 : 1ω9	0.01± 0.01	ND	0.02± 0.02
20 : 2ω9	0.05± 0.04	0.07± 0.03	0.05± 0.02
20 : 3ω6	0.08± 0.01	0.08± 0.01	0.09± 0.02
20 : 4ω6	5.08± 0.61	5.01± 0.59	4.81± 0.53
20 : 5ω3	0.03± 0.03	0.03± 0.01	0.02± 0.02
22 : 0	0.02± 0.02	0.02± 0.02	0.04± 0.00
22 : 1ω9	ND	ND	ND
22 : 6ω3	0.95± 0.22	0.88± 0.12	0.73± 0.18
24 : 0	0.03± 0.03	0.05± 0.03	0.05± 0.03
24 : 1ω9	0.01± 0.01	0.00± 0.01	ND
SFA	10.42± 0.52	9.81± 0.63	10.01± 1.89
MUFA	4.14± 0.79	4.05± 1.32	4.72± 0.98
PUFA	11.95± 1.49	11.25± 0.82	10.58± 1.32
Total ω3 <sup>4)</sup>	1.21± 0.27	1.05± 0.12	0.88± 0.20
Total ω6 <sup>5)</sup>	10.69± 1.24	10.12± 0.77	9.64± 1.18
Total ω9 <sup>6)</sup>	3.61± 0.80	3.59± 1.15	4.00± 0.79
TEFA <sup>7)</sup>	10.76± 1.28	10.09± 0.78	9.62± 1.19

1) Mean± SEM. 2) Not Detectable

3) Values with different superscripts are significantly different among groups at the 0.05 level by the Duncan's multiple range test.

4) Total ω3=C18 : 3ω3+C20 : 5ω3+C22 : 6ω3

5) Total ω6=C18 : 2ω6+C18 : 3ω6+C20 : 3ω6+C20 : 4ω6

6) Total ω9=C18 : 1ω9+C20 : 1ω9+C20 : 2ω9+C22 : 1ω9+C24 : 1ω9

7) TEFA=linoleic+linolenic+arachidonic

5. 뇌 중 serotonin의 농도

뇌 중 serotonin의 함량은 Table 7에서와 같이 대조군이 제일 높고 pair-fed군, 결핍군의 순서로 나타났으며 결핍군이 대조군과 pair-fed군에 비하여 유의적으로 낮았다. Serotonin의 대사물질인 5-

HIAA는 결핍군이 대조군에 비하여 유의적으로 낮았고 pair-fed군은 대조군보다 낮고 결핍군보다는 높았으나 유의적 차이는 없었다. Serotonin(5-hydroxytryptamine : 5-HT)과 5-HIAA를 합한 값은 결핍군이 대조군과 pair-fed군에 비하여 유의적으로

Table 6. Fatty acid composition of rat brain by GLC

Fatty acid	Control	Deficient	Pair-fed
	.....mg/g.....		
14 : 0	ND <sup>1)</sup>	ND	ND
14 : 1ω5	ND	ND	ND
16 : 0	4.39 ± 0.22 <sup>2)1a)</sup>	4.71 ± 0.22 <sup>ab</sup>	4.98 ± 0.39 <sup>a</sup>
16 : 1T	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.03	0.06 ± 0.03
16 : 1ω7	0.09 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.02
18 : 0	5.06 ± 0.81	4.07 ± 1.91	5.25 ± 0.51
18 : 1ω9	4.81 ± 0.58	5.77 ± 1.84	5.32 ± 0.03
18 : 2ω6	0.14 ± 0.07	0.15 ± 0.08	0.20 ± 0.03
18 : 3ω6	ND	ND	ND
18 : 3ω3	ND	ND	ND
20 : 0	0.15 ± 0.04	0.13 ± 0.00	0.11 ± 0.06
20 : 1ω9	0.31 ± 0.16	0.36 ± 0.01	0.30 ± 0.01
20 : 2ω9	0.02 ± 0.04	ND	0.08 ± 0.01
20 : 3ω6	0.08 ± 0.02	0.07 ± 0.00	0.08 ± 0.01
20 : 4ω6	2.06 ± 0.31	2.00 ± 0.13	2.21 ± 0.21
20 : 5ω3	0.07 ± 0.14	ND	ND
22 : 0	0.13 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.06
22 : 1ω9	0.04 ± 0.02	0.02 ± 0.03	0.10 ± 0.13
22 : 6ω3	2.22 ± 0.26 <sup>b</sup>	2.38 ± 0.21 <sup>ab</sup>	2.62 ± 0.23 <sup>a</sup>
24 : 0	0.19 ± 0.04	0.16 ± 0.03	0.18 ± 0.02
24 : 1ω9	0.29 ± 0.05	0.24 ± 0.03	0.18 ± 0.12
SFA	9.18 ± 1.91	9.18 ± 1.91	10.63 ± 0.95
MUFA	5.59 ± 0.71	6.57 ± 1.80	6.09 ± 1.13
PUFA	4.58 ± 0.58	4.61 ± 0.32	5.20 ± 0.49
Total ω3 <sup>4)</sup>	2.29 ± 0.36	2.38 ± 0.21	2.62 ± 0.23
Total ω6 <sup>5)</sup>	2.27 ± 0.33	2.23 ± 0.13	2.50 ± 0.26
Total ω9 <sup>6)</sup>	5.46 ± 0.73	6.40 ± 1.83	5.99 ± 1.09
TEFA <sup>7)</sup>	2.20 ± 0.32	2.15 ± 0.13	2.41 ± 0.24

1) Not Detectable 2) Mean ± SEM.

3) Values with different superscripts are significantly different among groups at the 0.05 level by the Duncan's multiple range test.

4) Total ω3 = C18 : 3ω3 + C20 : 5ω3 + C22 : 6ω3

5) Total ω6 = C18 : 2ω6 + C18 : 3ω6 + C20 : 3ω6 + C20 : 4ω6

6) Total ω9 = C18 : 1ω9 + C20 : 1ω9 + C20 : 2ω9 + C22 : 1ω9 + C24 : 1ω9

7) TEFA = linoleic + linolenic + arachidonic

났었다.

뇌속의 tryptophan은 tryptophan hydrogenase에 의해 5-hydroxytryptophan(5-HTP)이 되고 이는 aromatic L-amino acid decarboxylase(AAAD)에 의해 serotonin으로 전환되며 serotonin은 MAO에 의해 5-HIAA로 전환된다<sup>31)</sup>. Tryptophan hydroxy-

lase는 환원형 pteridine을 보조인자로 이용하고 AAAD는 pyridoxal phosphate(PLP)를 조효소로 이용하며 MAO는 FAD를 공유결합하고 있는 flavoprotein이다. 따라서 riboflavin의 결핍이 뇌 중 serotonin수준에 영향을 미치는 과정을 살펴볼때 serotonin 합성시에 촉매하는 AAAD효소의 조효소로 이



뇌조직의 지방과 신경전달물질에 대한 리보플라빈의 영향

용되는 PLP의 합성시 RF이 필요하므로 serotonin 합성이 RF결핍시 저하될 수 있고<sup>32)33)</sup> MAO의 활성저하로 serotonin이 5-HIAA로 전환되는 과정이 저하되어 5-HIAA 농도가 저하될 수 있다고 생각된다.

본 실험에서 통계적 유의성은 없었지만 MAO활성이 결핍군에서 저하되는 경향을 보였고 serotonin과 5-HIAA의 합한 값이 결핍군에서 대조군과 pair-fed군에 비해 유의적으로 저하된 것을 보아 아임상적(subclinical) RF결핍상태에서도 뇌조직의

serotonin대사가 영향을 받는 것으로 생각된다.

6. 행동측정

1) 미로 검사

Y형 수미로 검사의 결과는 Table 8에서와 같다. Y형 수미로 검사에서 1주일 간의 시행으로 좋아하는 방향을 측정한 후 위치 전환 검사를 하였고 검사 시행 2주간은 1주씩 session으로 나누고 각 session을 다시 3번씩 들로 나누어서 실험군별 실수의 수와 발판의 올라서기까지의 시간을 측정하여 보

Table 7. Brain serotonin and 5-HIAA contents

Transmitter	Control	Deficient	Pair-fed
		µg/g wet tissue	
Serotonin	0.388 ± 0.020 <sup>1)32)</sup>	0.255 ± 0.015 <sup>b</sup>	0.359 ± 0.022 <sup>a</sup>
5-HIAA	0.352 ± 0.026 <sup>a</sup>	0.224 ± 0.013 <sup>b</sup>	0.290 ± 0.017 <sup>ab</sup>
5-HT+5-HIAA	0.740 ± 0.039 <sup>a</sup>	0.479 ± 0.022 <sup>b</sup>	0.649 ± 0.028 <sup>a</sup>

1) Mean ± SEM.

2) Values with different superscripts are significantly different among groups at the 0.05 level by the Duncan's multiple range test

Table 8. Error and time spent at the position reversal test in the Y-shaped water maze

			Control	Deficient	Pair-Fed
Session(I)	Trial 1-3	Error	4.22 ± 0.36 <sup>1)</sup>	4.20 ± 0.33	4.90 ± 0.48
		Time	107.6 ± 10.6	122.1 ± 10.2	121.4 ± 13.4
	Trial 4-6	Error	3.44 ± 0.50	2.50 ± 0.45	2.70 ± 0.47
		Time	65.4 ± 7.3	73.6 ± 12.8	60.4 ± 4.7
Session(II)	Trial 1-3	Error	3.67 ± 0.37	2.50 ± 0.26	3.60 ± 1.00
		Time	87.0 ± 13.2	74.2 ± 6.3	85.9 ± 10.9
	Trial 4-6	Error	3.56 ± 0.58	3.20 ± 0.39	3.80 ± 0.24
		Time	89.4 ± 10.0	88.3 ± 7.5	96.0 ± 12.4

1) Mean ± SEM. Mean between groups are not significantly different as determined by the Kruskal-Wallis test.

Table 9. Open field test

		Control	Deficient	Pair-fed
Session(I)	Days come out from starting box	2.2 ± 0.36 <sup>1)</sup>	1.4 ± 0.4	2.2 ± 0.5
	Squares entered	12.2 ± 2.7	14.5 ± 6.8	21.1 ± 7.1
	Seconds spent in open field	44.2 ± 14.0	53.5 ± 28.6	83.0 ± 27.4
Session(II)	Days come out from starting box	2.8 ± 0.8	2.4 ± 0.8	2.4 ± 0.7
	Squares entered	29.1 ± 13.6	34.6 ± 14.9	39.7 ± 19.9
	Seconds spent in open field	118.1 ± 57.5	120.9 ± 52.5	111.7 ± 51.3

1) Mean ± SEM. Mean between groups are not significantly different as determined by the Kruskal-Wallis test.

있다. 실수의 수와 시간에서 세 실험군 간의 차이가 나타나지 않았다. 그러므로 미로학습에 riboflavin의 결핍에 의한 손상은 태아기나 수유기에 결핍이 되면 그 영향이 크지만 출생후 짧은 기간이나 그 이후에는 별다른 영향이 없는 것으로 봐서<sup>18)</sup> 본 실험에서와 같이 성장기 8주간 riboflavin의 결핍이 학습 행동에 미치는 영향은 거의 없는 것으로 보인다.

## 2) Open Field 검사

Open field 검사의 결과는 Table 9에 제시된 바와 같다. 2주간의 검사 중 Y형미로 검사에서와 같이 1주를 단위로 session을 나누었으며 출발 상자에서 나온 날짜의 수, open field에서 보낸 시간, 들어간 네모칸의 수, open field내에서 본 변의 수 등을 측정하였는데 session I과 II 모두 세 실험군 간에 유의적 차이는 없었다. Scssion I과 II를 비교할 때 출발 상자에서 나와 open field에서 보낸 시간이나 들어간 네모칸 수가 1주에서 보다는 2주에서 거의 두배 이상 증가하는데 이는 동물들이 검사환경에 익숙해졌기 때문으로 생각된다.

Serotonin과 행동과의 관련성은 통증에 대한 예민도<sup>34-36)</sup>, 식이섭취<sup>37)</sup>, 수면<sup>38)</sup>, 정신불안<sup>39)</sup>, 운동성 활동<sup>40-42)</sup>, 체온과 혈압 조절 등으로 보고 있다. 이러한 행동의 변화는 뇌 중 tryptophan의 수준을 변화시키는 처리에 의하여 영향을 받는다. Tryptophan의 주입과 운동성 활동과의 관계는 일관되지는 않고 있다. Tryptophan을 실험동물에게 주었더니 활동성과 그외 일련의 행동이 증가하였다는 보고<sup>40)</sup> <sup>41)</sup>가 있는 반면 뇌의 scrotonin 수준을 감소시키는 parachlorophenylalanine을 주었는데 운동성활동이 더 증가하였다는 보고<sup>42)</sup>도 있다. 정서적 행동을 신경 전달 물질인 serotonin과 연결하여 해석해 보려는 시도는 많으나 많은 복합적 요인들이 관련되는 것으로 보이며 본 실험의 결과 또한 실험군 간의 차이는 나타나지 않았으나 실험 동물 개별적 차이는 느낄 수 있었으므로 좀 더 다른 각도에서 다시 분석해 볼 필요가 있다.

## 결 론

리보플라빈 결핍이 조직의 지방산 조성파 신경

전달물질 대사에 미치는 영향과 행동발달을 조사한 결론은 다음과 같다.

1) 적혈구 glutathione reductase 활성계수는 결핍군에서 대조군이나 pair-fed 군에 비해 현저히 상승되었다.

2) 간, 뇌조직의 monoamine oxidase 활성이 결핍군에서 다른 두군에 비해 저하되는 경향이 있었다.

3) 지방산 조성은 혈청, 간, 뇌에서 다른 양상을 보였는데 혈청에서는 필수지방산과 ω3지방산(EPA, DHA)의 농도가 결핍군과 pair-fed군에서 대조군에 비해 20~40% 정도 감소되었으며 간에서는 세군간에 별 차이가 없었고 뇌에서는 약간씩 증가하는 경향으로 나타났다.

4) 뇌조직의 serotonin과 그 대사물인 5-HIAA 농도가 결핍군에서 대조군과 pair-fed군보다 저하되었다.

5) 학습능력을 측정하는 수미로(water maze)검사와 정서발달을 측정하는 open-field검사에서 각 군간에 큰 차이가 관찰되지는 않았다.

이상의 결과를 볼때 subclinical한 리보플라빈 결핍시 뇌조직의 지방대사가 크게 영향을 받지 않고 보호되는 것을 알 수 있었지만 생화학적인 지표인 효소활성이나 신경전달물질의 농도가 현저히 저하되는 것은 간과할 수 없는 중요한 사실이다. 또한 학습능력이나 정서발달이 리보플라빈 결핍에 의해 큰 영향을 받지는 않았지만 뇌조직의 serotonin농도가 저하된 것은 scrotonin이 통증의 민감도, 정신불안, 수면장애 등과 연관이 있다는 보고들을 고려할때 리보플라빈의 영양상태를 개선하는데 노력을 기울여야 한다.

## Literature cited

- 1) 한국영양학회, 제 3 장 식품 및 영양섭취실태. 한국영양자료집, p98, 신광출판사, 1989
- 2) Hoppel C, Dimarco JP, Tandler B. Riboflavin and rat hepatic cell structure and function, mitochondrial oxidative metabolism in deficiency states. *J Biol Chem* 254 : 4164-4170, 1979
- 3) Sugioka G, Porta EA, Corey PN, Hartroft WS. The

- liver of rats fed riboflavin-deficient diet at two levels of protein. *Am J Pathol* 54 : 1-7, 1969
- 4) Olpin SE, Bates CJ. Lipid metabolism in riboflavin-deficient rats. I Effect of dietary lipids on riboflavin status and fatty acid profiles. *Br J Nutr* 47 : 577-588, 1982
  - 5) Olpin SE, Bates CJ. Lipid metabolism in riboflavin-deficient rats. II Mitochondrial fatty acid oxidation and microsomal desaturation pathway. *Br J Nutr* 47 : 589-596, 1982
  - 6) Schirmer RH, Lederbogen F, Krauth-Siegel RL, Eisenbrand G, Schulz G, Jung A. In : Bray RC et al. eds. *Flavins and Flavoproteins*. pp847, de Gruyter, Berlin, 1984
  - 7) Veitch RK, Meredith EJ, Turnbull DM, Sherratt HSA. Mitochondrial oxidations and tissue carnitine concentration in riboflavin deficient rats. *Biochem Soc Trans* 13 : 895-896, 1985
  - 8) Hoppel CL, Tandler B. Riboflavin and mouse hepatic cell structure and function. Mitochondrial oxidative metabolism in severe deficiency states. *J Nutr* 105 : 562-570, 1975
  - 9) Hoppel CL, Tandler B. Relationship between hepatic mitochondrial oxidative metabolism and morphology during riboflavin deficiency and recovery in mice. *J Nutr* 106 : 73-76, 1976
  - 10) Shaw JH, Phillips PH. The pathology of riboflavin deficiency in the rat. *J Nutr* 22 : 345, 1941
  - 11) Lane M, Alfrey CP, Mengel CE, Doherty MA, Doherty J. The rapid induction of human riboflavin deficiency with galactoflavin. *J Clin Invest* 43 : 357, 1964
  - 12) Lane M, Smith FE, Alfrey CP. Experimental dietary and antagonist-induced human riboflavin deficiency. In : Rivlin RS. ed. *Riboflavin*. pp245, Plenum Press, New York, 1975
  - 13) Ichinose M, Gomes B, Sanemori H, Yasunobu KT. Bovine liver mitochondrial monoamine oxidase is not an iron-dependent enzyme. *J Biol Chem* 257 : 887-888, 1982
  - 14) Pearce LB, Roth JA. Human brain monoamine oxidase : solubilization and kinetics of inhibition by octylglucosidase. *Arch Biochem Biophys* 224 : 464-472, 1983
  - 15) Sourkes TL, Murphy GF, Woodford VR. *J Nutr* 72 : 145, 1960
  - 16) Leodolter S, Genner M. Monoamine content of organs from rats fed on a vitamin B<sub>2</sub>-deficient diet. *Arch Intern Pharmacodynamie Therapie* 190 : 395-401, 1971
  - 17) Arakawa T, Mizuno T, Chiba F, Sakai K, Watanabe S, Tamura T. Frequency analysis of electroencephalograms and latency of photically induced average evoked responses in children with ariboflavinosis. *Tohoku J Expt Med* 94 : 327-335, 1968
  - 18) Fordyce MK, Dristell JA. Effects of riboflavin repletion during different developmental phases on behavioral patterns, brain nucleic acid and protein contents, and erythrocyte glutathione reductase activity of male rats. *J Nutr* 105 : 1150-1156, 1975
  - 19) Glatzle D, Korner WF, Christeller S, Wiss O. Method for the detection of a biochemical riboflavin deficiency. *Int J Vitamin Res* 40 : 166, 1970
  - 20) Kearney EB, Salach JI, Walker WH, Seng RL, Kenney W, Zeszotek E, Singer TP. *Eur J Biochem* 24 : 321-327, 1971
  - 21) Salach JI. Monoamine Oxidase from beef liver mitochondria : Simplified isolation procedure, properties and determination of its cysteinyl flavin content. *Arch Biochem Biophys* 192(1) : 128-137, 1979
  - 22) Fletcher DL, Britton WM, Cason JA. A composition of various procedures for determining total yolk lipid content. *Poultry Sci* 63 : 1759-1763, 1984
  - 23) Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 27 : 114-120, 1989
  - 24) Chee KM, Gong XJ, Rees DMG, Meydani M, Ausman L, Johnson J, Siguel EN, Schaefer EJ. Fatty acid content of marine oil capsules. *Lipids* 25 : 523-528, 1990
  - 25) Curzon G, Green AR. Rapid methods for the determination of 5-hydroxy-indole acetic acid in small regions of rat brain. *Br J Pharmacol* 39 : 653-655, 1970
  - 26) Barnes RH, Cunnold SR, Zimmermann RR, Simmons H, MacLeod RB, Krook J. Influences of nut-

- ritional deprivations in early life on learning behavior of rats as measured by performance in a water maze. *J Nutr* 89 : 399-410, 1966
- 27) 김선희 · 김숙희. 태아기와 수유기의 식이제한과 환경이 성장후 신경전달물질의 함량 및 행동에 미치는 영향. *한국영양학회지* 16 : 243-252, 1983
- 28) 이윤희 · 김선희. 식이내 아미노산의 조성과 환경이 흰 쥐의 두뇌중 RNA, 단백질함량 및 학습 능력에 미치는 영향. *한국영양학회지* 16 : 81-87, 1983
- 29) Scheffler WC. Statistics for the Biological Sciences. 2nd ed. Addison-Wesley Pub Co 1979
- 30) Ogunleye AJ, Odutuga AA. The effect of riboflavin deficiency on cerebrum and cerebellum of developing rat brain. *J Nutr Sci Vitaminol* 35 : 193-197, 1989
- 31) Wurtman RJ, Fernstrom JD. Control of brain monoamine synthesis by diet and plasma amino acids. *Am J Clin Nutr* 28 : 638-647, 1975
- 32) Clements JE, Anderson BB. Glutathione reductase activity and pyridoxine(Pyridoxamine) phosphate oxidase activity in the red cell. *Biochim Biophys Acta* 632 : 159-163, 1980
- 33) Adekan DA, Adekile AD, Thurnham DI. Dependence of pyridoxine metabolism on riboflavin status in sickle cell patients. *Am J Clin Nutr* 46 : 86-90, 1987
- 34) Messing RB, Lytle LD. Serotonin-containing neurons : Their possible role in pain and analgesia. *Pain* 4 : 1-21, 1977
- 35) Hoebel BG. Brain neurotransmitters in food and drug reward. *Am J Clin Nutr* 42 : 1133-1150, 1985
- 36) Telner J, Lepore F, Guillemot J-P. Effect of serotonin content on pain sensitivity in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 10 : 657-661, 1979
- 37) Li ETS. The viable serotonin hypothesis. *Nutr Rev* 50 : 214-215, 1992
- 38) Hartmann EL. Effect of L-tryptophan and other amino acids on sleep. *Nutr Rev* 44(suppl) : 70-73, 1986
- 39) Spring BJ, Liberman HR, Swope G, Garfield GS. Effect of carbohydrates on mood and behavior. *Nutr Rev* 44(suppl) : 51-60, 1986
- 40) Foldes A, Costa E. Relationship of brain monoamine and locomotor activity in rats. *Biochem Pharmacol* 29 : 1617-1621, 1975
- 41) Marsden CA, Curzon G. The contribution of tryptamine to the behavioral effects of L-tryptophan tranlycypromine treated rats. *Psychopharmacologia* 57 : 71-76, 1978
- 42) Marsden CA, Curzon G. Studies on the behavioral effects of tryptophan and p-chlorophenylalanine. *Neuropharmacology* 15 : 165-171, 1976