韓國營養學會誌 29(3) : 267~277, 1996

DHA가 풍부한 어유가 새끼쥐의 뇌발달과 학습능력에 미치는 영향*

정 경 숙 · 박 현 서

경희대학교 가정대학 식품영양학과

Effect of DHA-Rich Fish Oil on Brain Development and Learning Ability in Rats

Chung, Kyung Sook · Park, Hyun Suh

Department of Food and Nutrition Kyung Hee University, Seoul, Korea

ABSTRACT

Effect of DHA-rich fish oil on brain development and learning ability has been studied in Sprague Dawley rats. Female rats were fed experimental diets containing either corn oil or fish oil at 10%(w/w) level throughout the gestation and lactation. Corn oil was added in fish oil diet to supply essential fatty acid at 2.3% of the calories. All male pups were weaned to the same diets of dams at 21-days after birth. Plasma fatty acid composition was analyzed for dams and pups at 21-days, 28-days and 22-weeks after birth. The analysis of DNA and fatty acid profile in the brain were undertaken at birth, 3, 7, 14, 21, 28 days and 22 weeks after birth and learning ability was tested at 18 – 20 weeks of age.

Regardless of dietary fats, arachidonic acid(AA) and docosahexaenoic acid(DHA) were the principal polyunsaturated fatty acids in the brain. Rats fed CO diet showed a continuous increase of AA content in the brain from 10.9%(at birth) to maximum 15.3% level(14-days old), while the rats fed FO diet showed 78 – 79% of CO group throughout the period. Rats fed FO diet showed higher incorporation of DHA from 15.2% at birth to a maximum level of 18.5% at 14-days, while the rats fed CO diet showed only 7.0% incorporation of DHA at birth and a maximum level of 11.1% at 21-days. Compared to CO group, FO group showed lower ratio of chol/PL and higher content of DHA in brain microsomal membrane, resulting in better membrane fluidity.

Total amount of DNA per gram of brain was reached maximum level at 21 days in both groups. This would be a period of the cell proliferation during brain development. Overall, the rats fed fish oil diet showed a higher incorporation of DHA and membrane fluidity in the brain and better learning performances($p < 0.05$). (*Korean J Nutrition* 29(3) : 267~277, 1996)

KEY WORDS : Docosahexaenoic acid · Arachidonic acid · Fish oil · Brain development · learning ability.

서 론

1980년이후 성장과 발달에 대한 영양학적인 관심이 필수지방산인 linoleic acid(C18 : 2n-6, LA) 와 α-linolenic acid(C18 : 3n-3, LNA), 그리고 이들의 대사산물인 arachidonic acid(C20 : 4n-6, AA)와 docosahexaenoic acid(C22 : 6n-3, DHA)와 같은 다불포화지방산에 집중되었다[1]. 최근에는 DHA가 두뇌발달 및 학습능력에 중요한 역할을 함이 밝혀져[2-6] DHA의 필

채택일 : 1996년 3월 5일

*본 연구는 1995년도 풀무원 식품 주식회사 연구비에 의하여 이루어졌음.

수성이 강조되고 DHA의 섭취가 뇌기능에 미치는 영향에 관하여 촛점이 맞춰지고 있다. AA와 DHA는 세포막을 이루는 인지질에 많이 함유되어 있는 지방산으로서 생체막의 구조와 기능에 중요한 역할을 한다[7]. AA는 모든 생체막에 고루 분포되어있으며 인지질 지방산 중 5~15%를 차지하고 있다. 한편 DHA는 중추 신경계를 구성하는 중요한 지방산으로 망막, 대뇌피질, 고환, 정자에 고농도로 존재한다[7-9].

사람의 경우 두뇌 형성이 활발하게 이루어지는 시기는 태아기와 영아기로서 DHA와 AA의 수준이 임신 제3기에 3~5배 증가하여 뇌조직내 DHA의 절반 가량이 출생 이전에 축적되며 출생 후에도 DHA가 지속적으로 뇌조직에 축적된다. 그러나 쥐의 경우, 뇌세포가 빠르게 분열되는 시기인 생후 20일 안에 DHA가 뇌조직에 축적된다[7-14]. 이와같이 태아기와 출생 초기에 cellular differentiation, active synaptogenesis, photoreceptor membrane biogenesis가 일어나므로 상당량의 DHA가 두뇌형성에 필요하기 때문이다[9]. 두뇌 형성기에 식이내 n-3계 지방산, 특히 DHA가 결핍 될 경우 뇌조직내 DHA 함량이 감소되고 이것으로 인해 학습능력에 영향을 준다고 보고되었다[4)9)15-17].

그러므로 본 연구에서는 어미쥐의 임신과 수유기간 동안에 어유를 섭취시켜 새끼쥐의 뇌조직내 DHA가 축적되는 정도와 두뇌발달 및 학습능력에 미치는 영향을 관찰하였다.

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

Ingredients	Experimental Groups	
	Corn oil(CO)	Fish oil(FO)
Corn Starch	59.5	59.5
Casein	20.5	20.5
Fat		
Corn oil	10.0	1.8
Fish oil	–	8.2
DL-methionine	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2
α-Cellulose	4.5	4.5
Vitamin mixture[1]	1.0	1.0
Mineral mixture[2]	4.0	4.0

1) AIN-76 vitamin mix(modified without vitamin E and vitamin A) : g/kg of mix : thiamin HCl 0.6, riboflavin 0.6, pyridoxine HCl 0.7, nicotinic acid 3, D-calcium pantothenate 1.6, folic acid 0.2, D-biotin premix(1%) 2, cyanocobalamin(0.1%) 1, cholecalciferol(4,000,000 IU/g) 0.25, manaquinone 0.05, sucrose 990. Vitamin A was provided at the level of 4800 IU/kg diet. Vitamin E was provided at the level of 836.5 IU/kg diet (CO diet), 970.6 IU/kg diet(FO diet).

2) AIN-76 mineral mix : g/kg of mix : $CaHPO_4$, 500 ; NaCl, 74 ; $K_3H_6O_7H_2O$, 220 ; K_2SO_4, 52 ; MgO, 24 ; $MnCO_3$, 3.5 ; FeC_6H_2O, 6 ; $ZnCO_3$, 0.3 ; $Na_2SeO_35H_2O$, 0.01 ; KIO_3, 0.01 ; $CrK(SO_4)_{12}H_2O$, 0.55 ; sucrose, finely powdered, 118.03.

실험재료 및 방법

1. 실험계획 및 동물

Sprague-Dawley종 암컷 쥐 18마리를 8주 되었을 때(체중 200~250g) 두 군으로 나누어 같은 종의 수컷과 교배시킨 후 임신기간 동안 옥수수유(corn oil, CO)와 어유(fish oil, FO)가 함유된 실험식이를 각각 섭취시켰다. 어미에서 태어난 새끼쥐는 어미당 10마리로 조절하였고 새끼쥐의 뇌조직은 출생 당일 부터 3일, 7일, 14일, 21일, 28일째 각 군당 6마리씩 뇌조직을 채취하였다. 수유가 끝난 새끼쥐(28일, 22주된 쥐)는 어미쥐와 동일한 실험식이를 섭취시켰으며 생후 18주에서 20주 사이에 open field 와 Y-maze를 사용하여 정서상태와 학습능력을 평가한 후 뇌조직을 채취하였다.

2. 실험식이

실험식이는 Table 1 에서와 같이 식이의 단위 무게당 탄수화물 59.5%, 단백질 20.5%, 지방질 10%(총 열량의 22%) 수준으로 동일하게 구성하였으며 식이지방의 종류만 다르게 공급하였다. 즉 식이지방으로 옥수수유를 섭취시킨 군을 CO군, 어유를 섭취시킨 군을 FO군이라고 하였으며, FO군의 경우 필수지방산을 총 섭취열량의 2~3% 공급하기 위하여 실험식이 100g당 옥수수유 1.8g 을 같이 혼합하였다. 실험식이의 지방산조성은 Table 2 와 같다.

3. 지질함량과 지방산조성 및 DNA 분석

쥐를 ether로 마취시킨 후 복부 대정맥에서 혈액을 채

Table 2. Fatty acid composition of experimental diet

Fatty acids	Corn oil diet	Fish oil[1)] diet
	%	%
C12 : 0	–	0.02
C14 : 0	–	1.90
C16 : 0	10.83	21.03
C18 : 0	2.01	4.44
C18 : 1	27.45	18.08
C18 : 2	58.07	11.34
C18 : 3	1.64	1.14
C18 : 4	–	0.41
C20 : 4	–	2.34
C20 : 5	–	6.24
C22 : 6	–	25.17

Expressed as relative % distribution of total fatty acid in two experimental diets.
1) Fish oil containing DHA 30.69% by weight was added to FO diet and was supplied by Pulmuwon Food Co.

취하고 뇌조직을 적출한 다음 혈액은 EDTA로 처리한 vacutaner에 모은 뒤 plasma층을 분리하여 각각 -70℃ 냉동고에 보관하였다. 뇌조직의 일부를 초원심분리하여 뇌소포체막을 분리한 후[18] -70℃ 냉동고에 보관하였다. Bligh와 Dyer 방법[19]을 이용하여 혈장과 뇌조직 및 뇌소포체막의 지질을 추출한 후 Morrison과 Smith의 방법[20]에 따라 methylation하여 gas chromatography(Hewlett Packard, Co., USA : Model 5890 Ⅱ)을 이용하여 지방산조성을 분석하였다. 이때 SP2330 fused silica capillary column (60m×0.25mm ID)을 사용하였으며, gas flow rate은 N_2 25ml/min, air 300ml/min, H_2 30ml/min이었으며 split flow rate은 100 : 1이었다. 각 지방산의 retention time을 표준지방산과 비교하여 확인한 후 총 지방산의 백분율 또는 함량으로 표시하였다. 뇌소포체막의 cholesterol 함량은 McDougal과 Farmer 방법[21]을 이용하여 측정하였고 phospholipid의 함량은 Bartlett의 방법[22]을 이용하여 phosphorus 함량을 측정한 후 factor 25를 곱하여 산출하였다. 뇌조직의 DNA 함량은 Burton의 방법[23]으로 측정하였고 DNA 함량을 통해 뇌세포수를 산출하였다[11][24].

4. 정서상태와 학습능력 평가

수유가 끝난 새끼쥐는 어미쥐와 동일한 식이를 생후 22주 까지 섭취시켰으며 생후 18주에서 20주 사이에 수컷쥐 12마리를 대상으로 open field와 Y-maze를 시행하였다[25]. Open field test 는 정서상태를 알아보기 위한 실험으로 단 1회만 시행하였다. 이 평가에서는 25개 구획으로 나뉘어져 있는 open field에서 쥐가 5분동안 지나다니는 구획의 수를 활동정도로 정하여 측정한 후 그 구획의 총합에 따라 정서상태를 판정하였다. Y-maze test 는 학습능력을 평가하기 위한 방법으로서 물을 24시간 공급하지 않은 후 물을 제대로 찾아가는 능력을 측정하였다. 본 실험에 들어가기에 앞서 3일간의 적응기를 거치며 이 기간 동안 쥐의 선호하는 방향을 조사하였다. 적응기 동안에는 실험하기 전에 물을 24시간 공급하지 않은 후 한쪽 방의 문을 닫고 쥐를 두며 다른 두 방에는 접시에 물을 두었다. 쥐가 있는 방의 문을 열어 물이 놓여 있는 다른 방으로 물을 찾아가면 그 방의 문을 닫는데 이것을 1시행이라고 하며 1일 20시행을 실시하였다. 3일간의 적응기를 거친 후 본 실험에 들어가는데 적응기 때와는 달리 두 방에 물을 두는 것이 아니라 쥐가 선호하는 방향과 반대 쪽 방에만 물을 두었다. 본 실험 역시 1일 20시행을 행하며 20시행중 선호도와 반대되는 쪽에 둔 물을 제대로 찾아가는 횟수를 기록하였다. 이때 2일 연속 20시행중 18회(90%) 이상 물을 제대로 찾아가는 데 소요된 기간을 기록하였으며 그 기간을 학습에 소요된 기간으로 보았다.

5. 통계처리

모든 실험결과의 통계처리는 Statistic Analysis System(SAS) 프로그램을 이용하였고 그 결과는 평균(mean)과 표준오차(standard error, SE)로 표시하였다. 성장에 따른 어유의 효과를 보기 위해 $p<0.05$ 수준에서 Duncan's Multiple Range Test로 one way ANOVA와 repeated measures design을 이용하여 유의성을 검증하였고 각 군의 성장에 따른 함량 변화를 알아보기 위해서 $p<0.05$ 수준에서 Duncan's Multiple Range Test로 one way ANOVA를 실시하였다.

결과 및 고찰

새끼쥐의 체중과 뇌무게의 변화는 Fig. 1 과 같다. 출생 당일부터 22주까지 체중과 뇌무게는 CO와 FO군간의 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 뇌무게는 두군 모두 생후 3주까지 크게 증가되었다.

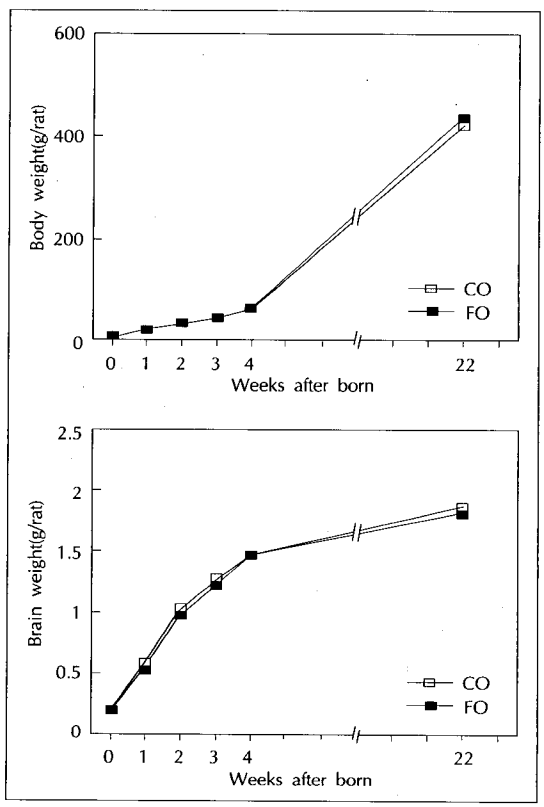

Fig. 1. Brain and body weight change of rat fed corn oil or fish oil.

1. 혈장과 뇌조직의 지방산조성

어미쥐와 생후 21일, 28일, 22주된 새끼쥐에서 혈장의 지방산 조성을 살펴보면(Table 3) 섭취한 식이지방을 그대로 반영하였다. LA가 약 58% 함유된 식이지방을 섭취한 CO군에서는 LA와 AA의 수준이 유의성있게 더 높았고, DHA가 약 25% 함유된 식이지방을 섭취한 FO군에서는 EPA, C22 : 5, DHA의 수준이 유의성있게 더 높았다. 혈장의 지방산중 AA와 DHA 수준을 비교해보면(Fig. 2), 어미쥐와 새끼쥐 모두 비슷한 양상을 보였다. AA 수준은 CO군에서 유의성있게 더 높았으며, DHA 수준은 FO군에서 더 높았다. AA 또는 DHA가 함유되어있지 않은 식이를 섭취한 CO군과 AA가 함유되지 않은 식이를 먹은 FO군의 혈장에서 이들 지방산이 발견되었는데 이는 그 전구체인 LA, LNA의 desaturation과 elongation에 기인한 것이며 어미쥐의 경우 체내에 축적된 지방이 분해되어 유출된 것으로 사료된다[7)9)]. 또한 새끼쥐의 경우 혈장내 DHA 수준이 어미의 경우보다 높은 경향을 보였는데 이는 뇌발달에 필요한 DHA를 충족시키기 위해 어미로 부터 유즙을 통해 DHA를 공급받았을 뿐 아니라 새끼쥐의 간에서도 DHA를 합성하는데 기인한다. 식이와 유즙, 새끼쥐 혈장의 AA/LA와 DHA/EPA의 비율을 비교한 연구[26)]에 의하면 식이, 유즙 그리고 새끼쥐 혈장 순으로 AA/LA와 DHA/EPA의 비율이 높았는데 이는 새끼쥐의 간에서도 LA와 LNA에서 AA와 DHA로의 전환이 활발하게 일어난다고 하였다.

뇌조직의 각 부분을 이루는 주된 지방산은 각각 다르며 이들 지방산이 축적되는 시기 역시 다르다. Myelinated conducting nerve fiber로 이루어져 있는 백질부분은 주로 포화지방산이나 단일불포화지방산으로 구성되어 있으며 생후 10일 이후부터 성장이 진행되는 동안 지속적으로 축적된다. 이에 반해 unmyelinated neuron으로 구성되어 있는 회백질부분은 AA나 DHA와 같은 불포화지방산이 다량 분포되어 있고 뇌세포의 분화가 왕성하게 일어나는 출생 후부터 생후 20일 사이에 축적된다[13)27)].

Table 3. Plasma fatty acid profile of dams and pups in rats fed corn oil or fish oil diet

Fatty acid	Dams		Pups					
			21-day[1)]		28-day		22-week	
	CO	FO	CO	FO	CO	FO	CO	FO
	%	%	%	%	%	%	%	%
c14 : 0	0.68 ± 0.10^{b}	0.99 ± 0.05^{a}	3.10 ± 1.19^{b}	$4.03 \pm 0.54^{a,1}$	0.78 ± 0.07^{b}	$1.08 \pm 0.05^{a,2}$	0.47 ± 0.19	0.70 ± 0.14^{2}
c16 : 0	19.15 ± 1.15	20.01 ± 0.93	19.88 ± 0.53^{b}	24.48 ± 1.33^{a}	19.79 ± 0.75^{a}	21.83 ± 1.06^{b}	17.98 ± 1.14^{b}	21.46 ± 0.84^{a}
c16 : 1	1.53 ± 0.23^{b}	2.33 ± 0.22^{a}	$0.48 \pm 0.48^{b,2}$	1.83 ± 0.18^{a}	0.30 ± 0.04^{2}	2.12 ± 0.13	1.26 ± 0.30^{1}	1.50 ± 0.27
c18 : 0	14.92 ± 0.54	14.68 ± 0.61	11.74 ± 1.12	10.54 ± 0.66	10.38 ± 0.43	10.95 ± 0.40	13.26 ± 0.67	12.89 ± 1.27
c18 : 1	14.13 ± 1.03	11.55 ± 0.56	9.93 ± 1.19	9.85 ± 0.39	13.03 ± 0.41^{a}	9.88 ± 0.53^{b}	9.18 ± 1.78	10.93 ± 1.51
c18 : 2	23.03 ± 0.98^{a}	9.98 ± 0.28^{b}	$28.33 \pm 1.50^{a,2}$	$13.51 \pm 0.35^{b,2}$	$32.22 \pm 1.06^{a,1}$	$12.95 \pm 0.23^{b,2}$	$20.95 \pm 1.40^{a,3}$	$15.36 \pm 0.97^{b,1}$
c18 : 3	0.28 ± 0.08	0.32 ± 0.03	0.18 ± 0.13	0.12 ± 0.12	0.05 ± 0.05	0.07 ± 0.07	ND	ND
c18 : 4	0.32 ± 0.01^{a}	ND^{b}	$0.55 \pm 0.05^{a,1}$	ND^{b}	0.24 ± 0.12^{2}	ND	ND^{2}	ND
c20 : 2	ND	ND	0.41 ± 0.05^{a}	ND^{b}	0.08 ± 0.16	ND	0.24 ± 0.16	ND
c22 : 0	0.49 ± 0.04^{a}	0.33 ± 0.04^{b}	$0.73 \pm 0.05^{a,1}$	0.08 ± 0.08^{b}	0.29 ± 0.12^{2}	0.09 ± 0.09	0.15 ± 0.09^{2}	ND
c20 : 4	22.34 ± 1.49^{a}	13.56 ± 1.23^{b}	$18.29 \pm 2.73^{a,2}$	$10.30 \pm 1.11^{b,2}$	$17.45 \pm 0.73^{a,2}$	$13.64 \pm 0.54^{b,2}$	$33.49 \pm 2.62^{a,1}$	$28.83 \pm 1.27^{b,1}$
c20 : 5	0.52 ± 0.03^{b}	9.27 ± 0.51^{a}	0.42 ± 0.05^{b}	$6.12 \pm 0.24^{a,2}$	0.13 ± 0.08^{b}	$8.14 \pm 0.36^{a,1}$	0.13 ± 0.10^{b}	$6.06 \pm 0.64^{a,2}$
c22 : 4	0.59 ± 0.08	0.72 ± 0.12	0.85 ± 0.06^{a}	ND^{b}	1.13 ± 0.13^{a}	0.57 ± 0.14^{b}	0.35 ± 0.11^{a}	0.12 ± 0.07^{b}
c24 : 1	0.81 ± 0.10^{a}	0.52 ± 0.06^{b}	0.87 ± 0.12^{a}	0.24 ± 0.14^{b}	1.38 ± 0.19^{a}	0.68 ± 0.06^{b}	0.71 ± 0.29^{a}	ND^{b}
c22 : 5	0.06 ± 0.04^{b}	0.93 ± 0.04^{a}	$0.14 \pm 0.05^{a,1}$	$0.97 \pm 0.1^{b,1}$	$ND^{b,2}$	$1.29 \pm 0.99^{a,1}$	$ND^{b,2}$	$0.58 \pm 0.22^{a,2}$
c22 : 6	1.24 ± 0.17^{b}	12.41 ± 0.53^{a}	2.22 ± 0.39^{b}	$15.44 \pm 1.99^{a,1}$	1.27 ± 0.10^{b}	$16.86 \pm 0.99^{a,2}$	1.22 ± 0.14^{b}	$9.58 \pm 0.44^{a,2}$
ΣSFA	35.45 ± 0.75	36.84 ± 1.66	$37.81 \pm 1.45^{b,1}$	$41.91 \pm 1.87^{a,1}$	31.20 ± 0.68^{2}	33.95 ± 1.21^{2}	31.98 ± 1.41^{2}	34.56 ± 1.41^{2}
ΣMUFA	15.70 ± 1.57	14.21 ± 0.79	10.08 ± 1.36	11.54 ± 0.96	15.07 ± 0.63	12.57 ± 0.54	11.15 ± 1.93	21.92 ± 9.31
ΣPUFA	48.60 ± 1.49	47.13 ± 1.26	52.56 ± 1.59	46.48 ± 1.64	53.13 ± 0.34	53.41 ± 1.12	56.52 ± 2.94	47.56 ± 6.13
Σn-3	1.97 ± 0.28^{b}	22.94 ± 0.38^{a}	2.92 ± 0.60^{b}	23.43 ± 2.13^{a}	1.94 ± 0.24	26.35 ± 1.05	1.54 ± 0.33	15.72 ± 0.27
Σn-6	45.87 ± 1.45^{a}	24.19 ± 1.28^{b}	$46.92 \pm 1.72^{a,2}$	23.68 ± 1.76^{b}	$51.27 \pm 0.62^{a,1,2}$	27.06 ± 0.66^{b}	$54.75 \pm 2.82^{a,1}$	36.18 ± 1.85^{b}
n-3/n-6	0.04 ± 0.01^{b}	0.96 ± 0.06^{a}	$0.06 \pm 0.01^{b,1}$	$1.03 \pm 0.16^{a,1}$	$0.04 \pm 0.01^{b,1,2}$	$0.98 \pm 0.05^{a,1,2}$	$0.03 \pm 0.01^{b,2}$	$0.44 \pm 0.02^{a,2}$

1) 21-day : lactation for 21 days
28-day : fed experimental diet for 1 week after weanling.
22-week : fed experimental diet for 19 weeks after weanling.
Expressed as relative % of total fatty acids.
Values are Mean ± SE, N = 5.
Means with different alphabets in the same row are significantly different between groups at $p < 0.05$.
Means with numbers in the same row are significantly different within groups at $p < 0.05$.

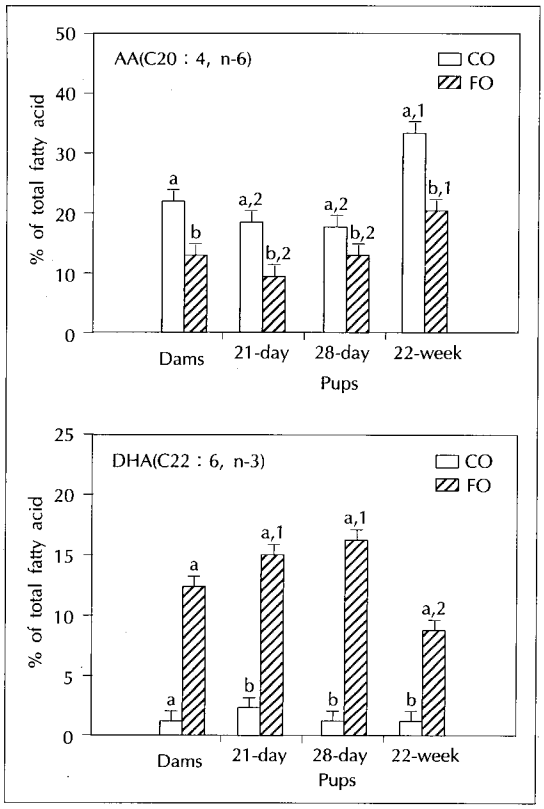

Fig. 2. Comparison of plasma levels of arachidonic acid(AA) and docosahexaenoic acid(DHA) in dams and pups of rats fed corn oil or fish oil. Bars with different alphabets are significantly different between groups ($p < 0.05$). Bars with different numbers are significantly different within groups($p < 0.05$).

본 연구에서 새끼쥐 뇌조직의 지방산조성을 살펴보면 (Table 4) 포화지방산 중 C16 : 0 와 C18 : 0 가 가장 많이 분포하였고 단일 불포화지방산인 oleic acid 수준은 생후 21일 이후에 그 수준이 크게 증가하여 22주까지 지속적으로 증가하였다. Oleic acid는 필수지방산은 아니지만 myelin sheath에 다량 존재하므로 myelin이 빠르게 형성되는 시기에 많은 양이 뇌조직에 축적되었다[28]. 본 연구에서는 성장함에 따라 뇌조직내 oleic acid의 축적이 지속적으로 증가되어 출생당일에 비해 22주째 뇌조직에서 단일불포화지방산과 포화지방산의 비율(MUFA/SFA)이 더 높았다. 사람의 경우에도 뇌조직내 MUFA/SFA 비율이 출생 당시에는 낮으나 myelination이 시작되면서 그 비율이 증가되어 3살때 plateau에 이른다고 하였다[29]. 뇌조직을 이루는 불포화지방산 중 탄소수가 적은 지방산은 혈장에 비해 뇌조직내 분포 정도가 낮았다. AA의 전구체인 LA는 새끼쥐 혈장내 13~32% 수준이었으나 뇌조직에는 2% 미만이었다. 또한 어유 섭취군의 경우 혈장내에 EPA가 6~8% 존재하였으나 뇌조직내에는 1% 미만 함유되었다. 이에 반해 탄소수가 22개 되는 C22 : 4, DHA는 혈장에서 보다는 뇌조직에 더 많은 양이 존재하였는데 이는 뇌조직이 탄소수 22개 이상인 지방산을 선택적으로 받아들이며 뇌조직내에서 LA, LNA, AA, EPA가 C22 : 4, DHA로 전환되었기 때문이다[30][31].

이와같이 AA와 DHA는 뇌조직에 다량 분포되어 있었으며 섭취한 식이지방 종류가 AA와 DHA의 분포에 영향을 주었다(Fig. 3). 뇌조직내 AA 함량을 비교해보면, AA가 함유되어 있지는 않았지만 그 전구체인 LA가 58.1% 정도(총열량의 12.7%) 함유된 옥수수유를 섭취한 CO군은 출생당일 뇌조직내 총지방산중 AA가 10.9% 분포되었고 성장함에 따라 점차 증가하여 생후 14일째에 최대치에 이르러 15.3% 였다. FO군은 LA의 수준이 낮은 식이(총 열량의 2.5%)를 섭취하였는데 뇌조직내 총지방산중 AA 가 8.5% 존재하였고 생후 14일에 최고치인 11%를 이루었다. 뇌조직내 DHA 수준은 preformed 된 DHA가 약 25.2%(총열량의 5.5%), EPA가 6.2%(총열량의 1.4%) 함유된 식이를 섭취한 FO군이 유의적으로 더 높았다. FO군에 비해 CO군의 식이내에는 DHA가 전혀 함유되어있지 않았고 DHA의 전구체인 α-LNA도 1.64% 정도(총 섭취열량의 0.36%) 함유되어 있었으나 뇌조직내 에는 DHA가 높은 수준 분포되어 있었다. 성장에 따른 DHA의 분포 정도를 살펴보면 출생 당일에는 CO군이 7.1% 였고 FO군이 13.8% 였으며, CO군의 경우 생후 7일에 9.9%, 21일에 11.3%에 이르러 그 이상 증가되지는 않았다. 반면 FO군의 경우 CO군에 비해 뇌조직내 DHA수준이 더 증가하여 생후 14~21일에 18.9%에 이르렀다. 이와같이 식이내 AA 또는 DHA가 결여되었어도 다른 조직에 비해 뇌조직은 AA와 DHA를 최대한 보유하려고 하는 능력이 있는 것으로 보여진다. 따라서 뇌조직내 AA와 DHA의 수준은 생후 14일째에 최고 수준에 이르렀으며 생후 7일에서 21일 사이에 많은 양의 AA와 DHA가 급격히 뇌조직에 유입되었다(Fig. 4). 출생후 21일째 뇌조직내 AA와 DHA의 함량은 성장이 끝난 22주된 쥐의 뇌조직내 AA와 DHA 함량의 70~90% 수준으로 생후 20일안에 뇌조직 형성에 필요한 AA와 DHA의 대부분이 축적되었다.

뇌발달이 진행되는 동안 DHA/AA의 비율이 두군에서 각각 달랐는데 출생당일의 그 비율을 살펴보면 CO군은 0.65이였고 FO군은 1.64였으며 뇌발달이 진행되는 동안 지속적으로 그 비율이 증가되었다. 한 보고에 따르면[28] 사람의 경우 임신 30주까지는 뇌조직의 DHA/AA의 비율이 0.8 였는데 임신 45주(생후 5주)때에는 DHA/AA 비율이 약 1.2였다. 미숙아의 경우 뇌조직내

Table 4. Fatty acid profile in the developing brain of pups in rats fed corn oil or fish oil diet

Fatty Acid	0-day		3-day		7-day		14-day		21-day		28-day		22-week		P-value	
	CO	FO	CO	FO	CO	FO	CO	FO	CO	FO	CO	FO	CO	FO	Time	TxG
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%		
c14 : 0	2.75±0.54[1]	2.44±0.36[1]	2.39±0.14[1]	2.13±0.10[1]	2.33±0.10[1]	1.97±0.15[1]	1.28±0.17[2]	1.78±0.18[1]	0.98±0.10[2]	0.97±0.170[1]	1.17±0.48[2]	1.76±0.44[2]	0.38±0.12[2]	0.31±0.10[2]	0.0001	NS
c16 : 0	36.05±1.21[1]	34.37±0.39[1]	34.41±0.67[1]	34.28±0.60[1]	34.98±0.23[1]	35.49±2.38[1]	33.49±0.98[1]	34.60±2.00[1]	27.80±0.69[2]	27.20±0.23[2]	25.62±0.71[2]	25.65±0.86[2]	21.96±1.02[3]	21.74±0.91[3]	0.0001	NS
c16 : 1	2.57±0.09[1,2]	2.54±0.08[1]	2.30±0.07[1,2]	2.24±0.07[2]	2.09±0.14[2]	1.62±0.17[3]	1.13±0.10[3]	1.23±0.12[4]	2.84±0.30[1]	0.40±0.01[5]	0.21±0.06[4]	0.28±0.01[5]	0.46±0.42[4]	0.14±0.06[5]	0.0001	0.0001
c18 : 0	17.75±0.31[2,3]	18.43±0.29[2]	17.78±0.53[2,3]	18.23±0.41[2]	17.32±0.20[2,3]	19.37±1.33[1,2]	19.62±0.39[1,2]	19.74±0.96[1,2]	20.77±0.39[a,1]	21.78±0.29[b,1]	21.89±0.74[1]	22.02±0.25[1]	16.06±1.90[3]	17.59±1.72[2]	NS	NS
c18 : 1	12.11±0.31[b,3,4]	13.10±0.23[a,3,4]	10.99±0.18[4]	11.88±0.34[4]	10.21±0.08[b,4]	11.02±0.29[a,4]	10.71±0.37[4]	11.88±0.96[4]	14.33±0.46[3]	16.10±1.60[2,3]	17.28±1.46[2]	16.80±0.28[2]	28.01±1.80[1]	29.56±2.15[1]	NS	NS
c18 : 2	1.36±0.14	1.36±0.36[1,2]	2.08±0.36	1.78±0.26[1]	1.66±0.05[a]	1.14±0.03[b,2]	1.56±0.10	1.29±0.08[1,2]	1.56±0.07[a]	1.02±0.05[b,2]	1.79±0.21[a]	0.83±0.06[b,2,3]	1.68±0.40[a]	0.38±0.13[b,3]	0.0364	NS
c18 : 3	0.17±0.11[2]	0.25±0.06[2,3]	ND[2]	0.17±0.11[3]	ND[2]	0.09±0.06[3]	0.09±0.06[2]	0.15±0.06[3]	0.19±0.08[2]	0.35±0.11[2,3]	0.94±0.22[1]	0.46±0.05[2]	0.77±0.20[1]	0.88±0.13[1]	0.0001	NS
c18 : 4	0.13±0.08[2,3]	ND	ND[3]	ND	ND[3]	0.05±0.05	0.15±0.07[2]	0.15±0.06	ND[3]	ND	0.55±0.05[a,1]	0.05±0.05[b]	ND[3]	ND	0.0014	0.0007
c20 : 2	0.16±0.10	0.27±0.07[1]	0.14±0.09	0.17±0.11[1,2]	ND	ND[2]	0.03±0.03	0.09±0.06	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0003	NS
c22 : 0	0.29±0.12	0.49±0.03	0.49±0.12	0.65±0.03	0.48±0.12	0.77±0.08	0.44±0.11	0.83±0.06	0.65±0.16	0.85±0.02	1.03±0.44	0.88±0.03	0.34±0.11	0.41±0.06	0.0001	NS
c20 : 4	10.90±0.57[a,4]	8.46±0.19[b,3]	12.51±0.23[a,2,3]	9.74±0.23[b,2]	13.75±0.46[a,1,2]	11.05±0.51[ab,1]	15.28±0.43[a]	11.09±0.27[b,1]	13.94±0.33[a,1,2]	10.70±0.59[b,1,2]	11.70±0.84[a,3,4]	10.04±0.21[b,1,2]	10.32±0.55[a,4]	7.72±0.38[b,3]	0.0001	NS
c20 : 5	0.56±0.44	0.82±0.45	ND[b]	0.43±0.06[a]	D[b]	0.46±0.09[a]	ND[b]	0.54±0.06[a]	0.27±0.12	0.19±0.05	ND[b]	0.14±0.06[a]	ND[b]	0.27±0.10[a]	NS	NS
c22 : 4	2.86±0.14	1.73±0.35	3.12±0.13	1.59±0.08	3.13±0.13	1.33±0.09	3.09±0.57	1.40±0.18	3.97±0.09	1.95±0.13	4.68±0.36[a]	2.02±0.09[b]	4.90±0.34	2.88±0.20	0.0001	NS
c24 : 1	5.10±0.61[a]	1.48±0.82[b]	3.24±0.28[a]	0.58±0.04[b]	2.89±0.36[a]	0.59±0.03[b]	2.98±0.34[a]	0.58±0.16[b]	3.42±0.25[a]	0.37±0.15[b]	4.02±0.17[a]	0.50±0.06[b]	2.59±0.17[a]	0.17±0.05[b]	0.0001	NS
c22 : 5	0.03±0.03[b]	0.59±0.15[a]	ND[b]	0.79±0.06[a]	ND[b]	0.68±0.04[a]	ND[b]	0.68±0.10[a]	ND[b]	0.60±0.06[a]	ND[b]	0.41±0.07[a]	ND[b]	0.31±0.08[a]	0.0047	0.0050
c22 : 6	7.12±0.41[b3]	13.78±1.40[a3]	9.33±0.23[b2]	14.89±0.45[a2,3]	9.91±0.93[b,1,2]	15.97±0.93[a,123]	9.55±0.51[b,2]	18.66±1.75[a,1]	11.32±0.67[b,1]	18.97±0.83[a,1]	9.48±0.29[b,2]	18.02±0.65[a,1,2]	10.44±0.36[b,1,2]	14.95±0.46[a,2,3]	0.0001	NS
∑SFA	53.60±4.67	55.70±2.00	55.07±0.83	55.27±0.06	55.75±0.63	54.19±0.61	56.07±2.33	54.75±0.82	50.22±0.81	50.74±0.35	49.20±1.14	50.11±1.09	40.79±2.09	42.00±1.79	0.0056	NS
	19.79±0.89[a]	18.28±0.28[b]	17.77±0.83[a]	14.70±0.43[b]	15.05±0.33[a]	13.41±0.25[b]	14.87±0.44[a]	13.69±1.10[b]	19.99±1.03[a]	15.95±1.25[b]	21.56±1.45[a]	17.64±0.28[b]	30.66±1.64[a]	29.40±2.19[b]	0.0001	NS
	23.92±2.34	24.85±3.27	27.67±0.44[b]	29.79±0.71[a]	23.28±5.17[a]	31.72±2.36[b]	29.97±1.24	34.21±2.30	31.16±0.88	33.84±1.17	28.36±1.21[b]	31.96±0.87[a]	28.05±0.69	26.75±0.80	0.0054	NS
∑n-3	7.77±0.53[b]	16.11±0.83[a]	9.83±0.41[b]	16.28±0.60[a]	10.11±0.71[b]	16.75±1.19[a]	10.09±0.38[b]	20.07±1.94[a]	13.25±1.91[b]	20.07±0.78[a]	10.23±0.31[b]	19.02±0.69[a]	11.14±0.44[b]	15.82±0.63[a]	0.0003	NS
∑n-6	15.13±0.56[a]	11.15±0.57[b]	19.65±2.15[a]	13.11±0.21[b]	18.39±0.94[a]	12.93±0.33[b]	19.90±0.68[a]	13.95±0.38[b]	17.91±1.28[a]	13.66±0.57[b]	17.78±0.91[a]	12.89±0.30[b]	16.91±0.47[a]	10.99±0.59[b]	0.0006	NS
n-3/n-6	0.52±0.04[b]	1.25±0.11[a]	0.55±0.03[b]	1.24±0.04[a]	0.55±0.03[b]	1.30±0.09[a]	0.53±0.03[b]	1.32±0.03[a]	0.61±0.04[b]	1.47±0.06[a]	0.60±0.02[b]	1.48±0.05[a]	0.66±0.03[b]	1.46±0.11[a]	NS	NS

Expressed as relative % of total fatty acids.
Values are mean ± SE, N = 5.
Means with different alphabets in the same row are significantly different between groups at $p < 0.05$ by Duncan's Multiple Test.
Means with different numbers in the same row are significantly different within group at $p < 0.05$ by Duncan's Multiple Test.

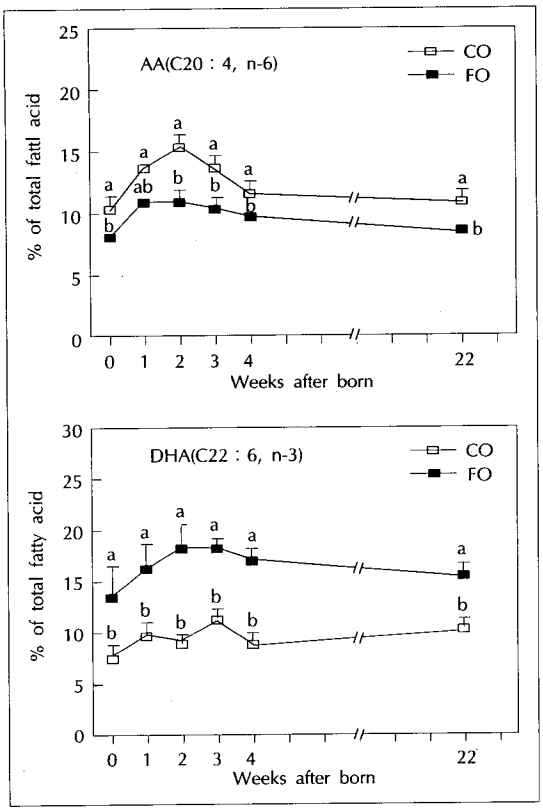

Fig. 3. Comparison of the relative % of AA and DHA incorporated into the brain of rats fed corn oil(CO) or fish oil(FO). Values with different alphabets are signficantly different between groups at $p < 0.05$.

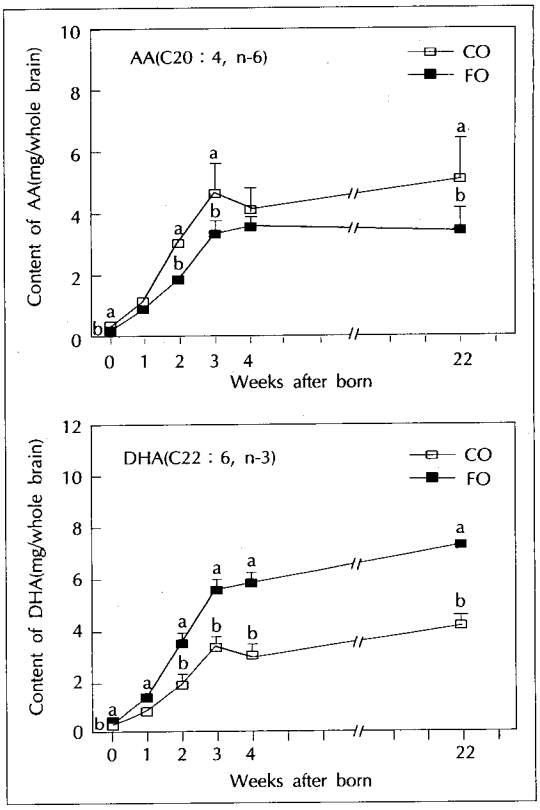

Fig. 4. Comparison of the cummulated amount of AA and DHA in the whole brain of rats fed corn oil(CO) or fish oil(FO). Values with different alphabets are signficantly different between groups at $p < 0.05$.

DHA/AA 비율이 매우 낮았으며, 정상의 경우 출생후 성장이 진행되면서 이 비율은 완만하게 지속적으로 증가하는 경향을 보였고, n-6/n-3의 비율이 높은 분유를 섭취한 영아에서는 뇌조직의 DHA/AA의 비율이 상당히 낮았음이 발견되었다[13)28)].

2. 뇌소포체막의 지질 함량 및 지방산조성

식이로 섭취한 불포화지방산은 세포막의 지방산조성에 큰 영향을 미치며 DHA는 특히 뇌조직을 구성하고 있는 막에 다량 함유되어 있다. 막을 이루는 지방산 조성이 변화될 경우 막유동성이 변화되고 막두께에도 영향을 주며 막단백질과의 상호작용에 영향을 미친다[32)]. 보고된 바에 의하면 n-6/n-3의 비율이 높은 식이를 섭취했을 때 뇌소포체막의 DHA 수준이 5~7배 감소하였으며, n-3계 지방산이 결핍된 식이를 섭취하던 쥐에게 정상 식이를 공급할 경우 뇌소포체막의 DHA 수준을 정상 수준으로 끌어올리는데 2달 이상이 소요되었다[32)]. 또한 DHA의 전구체인 LNA가 낮은 수준 함유된 식이를 섭취한 쥐의 뇌세포막에서의 효소 활성을 측정한 결과 Na^+, K^+- ATPase 활성이 LNA 함유된 식이를 섭취한 쥐의 60% 수준이었다[15)].

본 연구에서는 뇌소포체막의 유동성과 지방산 조성을 살펴보았다(Fig. 5). 생후 21일과 22주된 쥐에서 뇌소포체막의 cholesterol(Chol)과 phospholipid(PL) 함량은 두 군간의 차이가 없었으나 막유동성의 지표로 이용되는 Chol 과 PL 의 비율(Chol/PL)은 22주된 쥐에서 FO군이 유의적으로 더 낮았다. 또한 생후 28일과 22주된 쥐의 뇌소포체막의 지방산조성을 살펴보면 AA 수준은 8.6~11.6%로서 28일된 쥐에서는 유의성있는 차이가 없었으나 DHA 수준은 28일과 22주된 쥐에서 FO군(18.7%)이 CO군(12.6%)에 비해 유의적으로 더 높았다(Fig. 6). 따라서 Chol/PL의 비율이 낮아 막유동성이 더 좋은 FO 군에서 뇌소포체막의 DHA 수준이 더 높았는데 이는 막유동성이 DHA 분포와 서로 상관관계가 있음을 보여 주었다. 보고된 바[15)]에 의하면 이와같은 막 유동성의 변화는 막의 기능에 영향을 주며 여러가지 효소의 활성이나 신경자극 전달에 영향을 주며, 행동발달이나 학습능력에도 영향을 미칠것이라고 하였다.

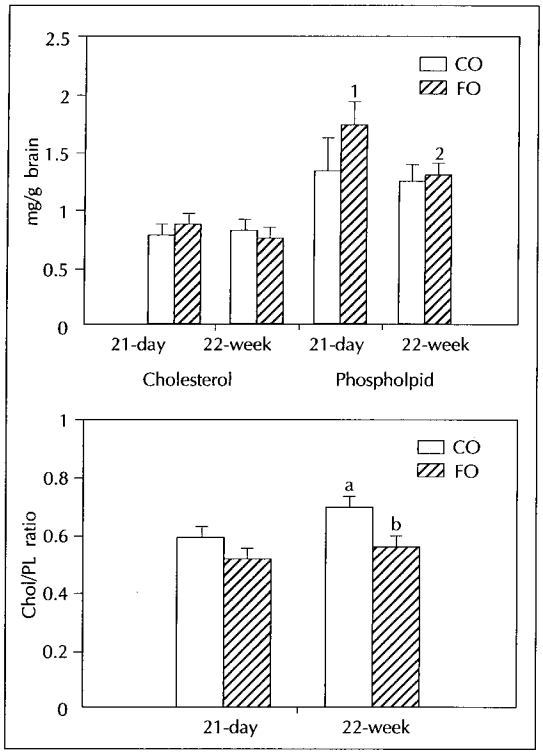

Fig. 5. Comparison of the effect of corn oil or fish oil diet on the levels of cholesterol(Chol), phospholipid(PL) and Chol/PL ratio in rat brain microsome. Bars with different numbers are significantly different within groups($p < 0.05$). Bars with different alphabets are significantly different between groups($p < 0.05$).

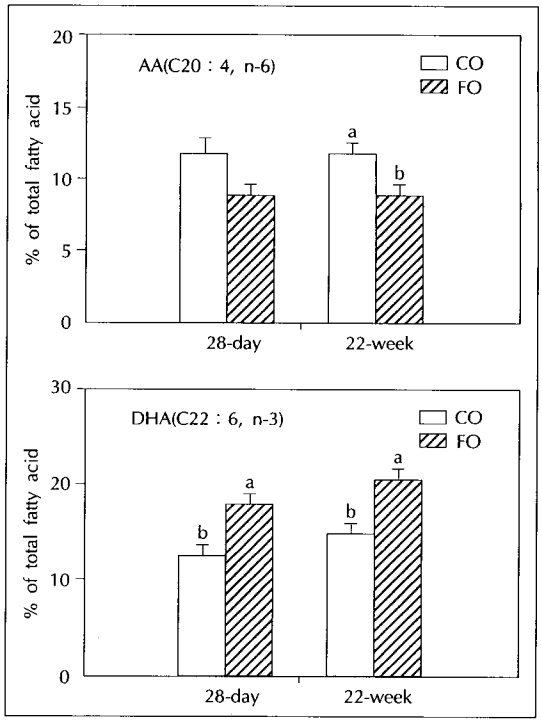

Fig. 6. Comparison of the effect of corn oil(CO) or fish oil (FO) diet on the relative % of AA and DHA in rat brain microsome. Bars with different alphabets are significantly different between groups at $p < 0.05$.

3. 뇌조직의 DNA 함량과 뇌세포수

쥐의 경우 성장을 크게 세 단계로 구분하는데 임신기간부터 생후 17일까지는 세포의 수가 증가하는 hyperplasia 단계이고 그 이후 생후 48일까지는 세포 분화는 느려지고 세포의 크기가 증가하는 단계이며 마지막 단계는 세포의 분화는 일어나지 않으며 세포의 크기가 증가하는 단계이다[11]. 동물의 조직내 세포의 수와 크기는 조직내 함유되어있는 DNA 함량을 통해 산출하였다[11)24)]. 쥐의 경우 생후 9일에 뇌세포의 분열이 빠르게 일어나면서 뇌조직내 DNA 함량이 출생후 14일까지 급격히 증가하고, 생후 19일 이후에는 DNA 함량의 변화가 없었다[11)24)].

본 연구에서는 새끼쥐 뇌조직내 DNA 함량은 두군 모두 생후 3주까지 급격히 증가하였으며, 4주때는 plateau에 이르렀다(Fig. 7). FO군은 생후 1~2주 사이에, CO군은 생후 2~3주 사이에 DNA 함량이 급격히 증가하였는데 바로 이 시기가 뇌발달이 왕성하게 일어나는 시기일 것이라고 사료된다. 뇌조직내 DNA 함량을 통해 뇌조직의 세포수를 산출해보면 출생후 1주에서 3주까지 빠르게 세포수가 증가되었다(Fig. 8). 이 시기는 세포의 분화가 활발하게 일어나는 hyperplasia 단계로 앞서 언급한 뇌조직내 AA와 DHA의 축적이 활발하게 이루어지는 시기와 일치하였다. 특히 생후 9일째 가장 빠르게 세포분화가 이루어진다고 하였는데[24)] FO군의 경우 생후 1~2주 사이에 세포수가 급격히 증가하였으며 CO군은 같은 시기에 세포수가 FO군에 비해 유의적으로 낮아서 뇌발달이 왕성하게 일어나는 시기가 어느정도 지연되었다고 사려된다. 따라서 태아기와 출생후 수유기 때 DHA를 공급받지 않은 경우 뇌발달이 왕성하게 일어나는 시기에 뇌세포의 분화정도가 떨어졌으며 DHA의 축적 정도도 더 낮았다.

4. 정서상태와 학습능력에 미치는 영향

이와같은 결과가 학습능력에 어떠한 영향을 미치는지 관찰하기 위하여 18~20주 사이에 정서상태와 학습능력을 평가하였다. Open field로 정서상태를 평가한 결과 5분동안 CO군은 75개의 칸을 밟았으며 FO군은 85개의 칸을 밟아 두군간의 차이를 보이지 않았다. Y-maze를 이용하여 학습능력을 평가한 결과(Table 5) CO군은 평균 7.6일, FO군이 평균 5.8일로서 학습에 소요된 기간

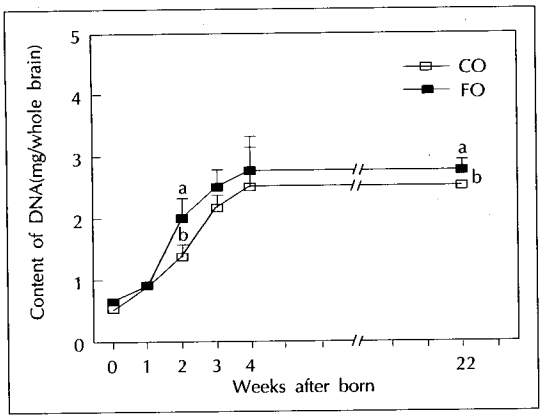

Fig. 7. This shows the change of total DNA content in the whole brain of rats fed corn oil(CO) or fish oil(FO) diet. Values with different alphabet are significantly different between groups at $p < 0.05$.

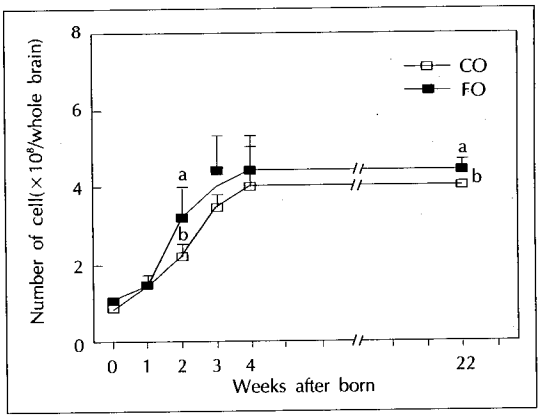

Fig. 8. This shows the change of total number of cell in the whole brain of rats fed corn oil(CO) or fish oil(FO) diet. Values with different alphabet are significantly different between groups at $p < 0.05$.

Table 5. Learning ability test through Y-maze in rats fed corn oil or fish oil diet (unit : day)

CO diet	FO diet
7.6 ± 0.8	5.8 ± 0.5*

Values are Mean ± SE, N = 12.
*Significantly different at $p < 0.05$

이 FO군에서 유의성있게 더 짧아 학습능력이 더 좋았던 것으로 나타났다. 그러므로 뇌세포가 빠르게 분화되는 기간 동안의 뇌조직내 DHA 축적은 학습능력에 영향을 미칠 수도 있다고 사료된다. 뇌세포는 일단 손상을 받으면 회복이 거의 불가능하며 세포막의 재생 역시 매우 느리게 이루어진다고 하였다[15]. 보고된 바에 의하면[26] 수유기 동안 어미쥐가 n-3계 지방산이 결핍된 safflower oil을 섭취했을때 soybean oil을 식이로 섭취한 경우에 비해 새끼쥐의 뇌조직내 DHA 수준이 낮았고 탐구력이 감소되었으며 젖을 뗀 후 safflower oil에서 soybean oil로 식이를 대치한 경우 뇌조직내 DHA 수준은 정상수준으로 회복되었으나 탐구력이 정상수준으로 회복되지 않았다고 하였다. 이처럼 뇌조직내 DHA 수준은 식이 공급에 의해 정상수준으로 끌어올릴 수 있으나 일단 손상된 활동능력이나 학습능력은 회복되지 않았다고 보여진다. 따라서 뇌세포가 분화되고 발달되는 동안 충분한 DHA 공급은 정상적인 두뇌발달을 위해 필수영양소 중의 하나라고 사료된다.

요약 및 결론

본 연구는 어미쥐가 섭취한 DHA 가 새끼쥐의 뇌발달에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 임신과 수유기 동안 어미쥐에게 DHA가 전혀 함유되어있지 않은 옥수수유와 DHA가 풍부하게 함유되어 있는 어유를 섭취시킨 후 그 새끼쥐의 뇌발달정도와 학습능력을 평가하였다. 수유가 끝난 어미쥐 혈장의 지방산 조성은 섭취한 식이를 그대로 반영하여 어유를 섭취한 어미쥐 혈장내 DHA 수준이 유의성있게 높았으며 새끼쥐의 혈장내 DHA 수준도 어미쥐와 유사한 경향을 보였다. 뇌조직내 AA의 수준은 CO군에서 유의적으로 높았고, 뇌조직내 DHA 수준은 FO군에서 유의적으로 높았다. 또한 뇌조직내 AA와 DHA의 축적은 생후 21일째까지 왕성하게 이루어져 성인기의 뇌조직내 그 수준의 약 70~90%를 이 시기에 축적하였다. 이외에도 FO군에서는 뇌소포체막의 Chol/PL 비율이 더 낮았으며, DHA 수준은 더 높아 막유동성이 더 좋게 나타났다($p < 0.05$).

뇌조직내 DNA 함량을 측정하여 각 시기마다 뇌세포수를 산출하였을 때 생후 7일에서 21일사이에 뇌세포수가 급격히 증가되었으며, 생후 14일째에 CO군이 FO군에 비해 뇌세포수가 유의성있게 적었다. FO군에 비해 CO군에서는 뇌발달의 시기가 어느정도 지연되었을 것이라고 사려된다. 뇌세포가 빠르게 분화하는 이 시기는 뇌조직내 DHA가 왕성하게 축적되는 시기와 일치하였는데 식이내 DHA가 제한된 경우 뇌세포 분화가 더 늦었으며 뇌조직내 DHA의 축적도 적었다.

뇌세포 분화단계의 DHA 축적이 학습능력에 미치는 영향을 관찰하기 위해 18주와 20주 사이에 Y-maze를 사용하여 평가한 결과 뇌조직에 DHA 축적이 높은 FO군에서 학습능력이 유의성있게 더 좋았다.

종합하여보면 수유기동안 즉, 생후 21일까지 뇌세포의 분화가 빠르게 일어났으며 이 시기에 뇌에 DHA가 다량 축적되었고 또한 DHA의 축적정도가 학습에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

따라서 뇌발달이 왕성하게 이루어지는 태아기와 출생

초기에 충분한 양의 DHA를 직접 공급하는 것이 두뇌발달을 위해 바람직한 방법이라고 사려된다. 그러므로 수유부는 모유내 DHA 수준을 증가시키기 위해 DHA가 많이 함유되어 있는 식품을 섭취할 것을 권장한다. 그러나 DHA는 다불포화지방산이므로 불안정하고 산화되기 쉬우며 2-series eicosanoids 와 leukotriene의 전구체인 AA와 서로 경쟁하므로 다량의 DHA의 섭취는 AA 수준을 감소시켜 미숙아의 성장을 방해할 수도 있다. 앞으로 식이내의 지방산조성을 변화시키므로서 뇌발달을 최대로 향상시킬 수 있는 식이의 n-3/n-6 비율과 DHA/AA 비율을 책정하는 연구가 요구된다.

Literature cited

1) Crawford MA, Hassam AG, Stevens DA. Essential fatty acid requirements in pregnancy and lactation with special reference to brain development. *Prog Lipid Res* 20 : 31-40, 1981
2) Simopoulus AP. ω-3 fatty acids in heath and disease and in growth and development. *Nutr Today March/April* 10-19, 1989
3) Simopoulus AP. ω-3 fatty acids in heath and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* 54 : 438-463, 1991
4) Enslen M, Milon H, Malnoe A. Effect of low intake of n-3 fatty acids during development on brain phospholipid fatty acid composition and exploratory behavior in rats. *Lipids* 26 : 203-208, 1991
5) Conner WE, Neuringer M, Reisbick S. Essential fatty acids : The importance of n-3 fatty acids in the retina and brain. *Nutr Rev* 50 : 21-29, 1992
6) Crawford MA. The role of essential fatty acids in neural development : implication for perinatal nutrition. *Am J Clin Nutr* 57(suppl) : 703S-710S, 1993
7) Neuringer M, Anderson GJ, Connor WE. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Ann Rev Nutr* 8 : 517-541, 1988
8) Simopoulos AP, Kifer RR, Martin RE. Health effects of polyunsaturated fatty acids in seafoods. Academic Press Inc, 1986
9) Neuringer M, Connor WE. N-3 fatty acids in the brain and retina : evidence for their essentiality. *Nutr Rev* 44(9) : 285-294, 1986
10) Neuringer M, Connor WE, Lin DS, Barstad L, Luck S. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal ω3 fatty acid deficiency on retina and brain in rhesus monkeys. *Proc Natl Acad Sci USA* 83 : 4021-4025, 1986
11) Hurley LS. Developmental nutrition. Prentice-Hall, Inc, 1980
12) Cuzner ML, Davison AN. The lipid composition of rat brain myelin and subcellular fractions during development. *Biochem J* 106 : 29-34, 1968
13) Sinclair AJ, Crawford MA. The accumulation of arachidonate and docosahexaenoate the developing brain. *J Neurochem* 19 : 1753-1758, 1972
14) Scott BL, Bazan NG. Membrane docosahexaenoate is supplied to the developing brain and retina by the liver. *Neurobiology* 86 : 2903-2907, 1989
15) Bourre JM, Francois M, Youyou A, Dumont O, Piciotti M, Pascal G, Durand G. The effects of dietary α-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J Nutr* 119 : 1880-1892, 1989
16) Wainwright PE, Huang YS, Bulman-Fleming B, Mills DE, Redden P, Cutcheon D. The role of n-3 essential fatty acid in brain and behavioral development : A cross-fostering study in the mouse. *Lipids* 26 : 37-45, 1991
17) Neuringer M, Connor WE, Barstad L. Dietary n-3 fatty acid deficiency and visual loss in infant rhesus monkey. *J Clin Invest* 73 : 272-276, 1984
18) Yeh YY, Gehman MF, Yeh SM. Maternal dietary fish oil enriches docosahexaenoate levels in brain subcellular fractions of offspring. *J Neuro Res* 35 : 218-226, 1993
19) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37 : 911-917, 1959
20) Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acid methylesters and dimethylacetals from lipids with boron fluoridemethanol. *J Lipid Res* 5 : 600-608, 1964
21) McDougal DB, Farmer HS. A fluorometric method for total serum cholesterol. *J Lab and Clin Med* 50 : 485-488, 1987
22) Bartlett GR. Phosphorous assay in column chromatography. *J Biol Chem* 234 : 466-468, 1959
23) Burton. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem J* 62 : 315-322, 1956
24) Bonnie S, Worthington G. Nutrition in preganacy and lactation. Times Mirror/Mosby college publishing, 1985
25) 장현갑 · 윤병두. 유두체가 제거된 흰쥐의 일반활동, 정서활동, 미로학습. 한국심리학회 연차대회, 1987
26) Yeh YY, Winters BL, Yeh SM. Enrichment of (n-3) fatty acids of suckling rats by maternal dietary menhaden oil. *J Nutr* 120 : 436-443, 1990
27) Innis SM. Human milk and formula fatty acids. J Pediatr 120 : S57-S61, 1992

28) Maritinez M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J Pediatr* 120 : S129-138, 1992

29) Johnson DW, Beckman K, Fellenberg AJ, Robinson BS, Poulos A. Monoenoic fatty acids in human brain lipids : isomer identification and distribution. *Lipids* 27 : 177-180, 1992

30) Wang N, Wiegand RD, Anderson RE. Uptake of 22-carbon fatty acids into rat retina and brain. *Exp Eye Res* 54 : 933-939, 1992

31) Samulski MA, Walker BL. Maternal dietary fat and polyunsaturated fatty acids in the developing fetal rat brain. *J Neurochem* 39 : 1163-1168, 1982

33) Youyou A, Durand G, Pascal G, Piciotti M, Dumont O, Bourre JM. Recovery of altered fatty acid composition induced by a diet devoid of n-3 fatty acids in myelin, synaptosomes, mitochondria, and microsomes of developing rat brain. *J Neurochem* 46 : 224-228, 1986