

## 알코올의 투여가 흰쥐의 엽산 대사에 미치는 영향

장 남 수 · 김 기 남

이화여자대학교 식품영양학과

### Effect of Alcohol Administration on Folate Metabolism in Rats

Chang, Namsoo · Kim, Kinam

Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

#### ABSTRACT

Chronic abuse of alcohol can lead to the development of folate deficiency due to inadequate folate intake, excessive urinary excretion and from effects of ethanol on folate absorption and metabolism. To investigate the effects of alcohol and folate intake on folate metabolism, the rats were raised for 4 and 10 weeks on experimental diets containing 0, 2, 8mg folate/kg diet, and were administered 50% ethanol(1.8ml/kg body weight) three times a week intragastrically. Plasma and tissue folate concentrations were found to be significantly influenced by dietary folate level. In animals fed on folate-deficient diet, concentrations of folate in the plasma, liver and kidney were decreased by 60-89% compared to those on folate-adequate diet, and the values were further decreased with experimental period. Folate supplementation increased plasma and tissue folate levels significantly by 16-78% compared to those on folate-adequate diet, and the folate levels in the plasma and liver were affected most by the supplementation. Alcohol administration did not seem to influence folate status in the body significantly when animals were raised on folate-deficient diet. However, when rats were fed folate-adequate or folate-supplemented diet, alcohol was shown to decrease plasma and tissue folate concentrations. Among the animals receiving alcohol, folate concentrations in the plasma and tissues were significantly higher when animals fed folate-supplemented diet compared to folate-adequate diet. Alcohol seems to exert differential effects on urinary folate excretion by experimental period - it increased urinary folate in the 4-week period, but lowered folate excretion in the urine when the experimental period was extended to 10 weeks. Alcohol did not seem to influence folate excretion in the feces. These results indicate that folate supplementation might be beneficial in ameliorating the inadequate folate status that might occur with chronic alcoholism. (*Korean J Nutrition* 31(4) : 708~715, 1998)

**KEY WORDS** : alcohol · folate · rats · dietary folate · tissue folate · folate excretion folate supplement · folate deficiency.

#### 서 론

만성적인 알코올의 섭취는 여러 가지 영양소의 결핍  
채택일 : 1998년 4월 13일

을 유발시키는 것으로 알려져 있다. 알코올을 남용하는 사람들 중 75%에 달하는 많은 사람들의 혈청 엽산 수준이 정상보다 낮게 나타나는<sup>1)</sup> 등 엽산의 영양상태는 알코올에 의해서 영향을 가장 크게 받는 영양소에 속한다. 또한 알코올 남용자에게 흔한 거대적아구성 빈혈이

나 암이 과도한 알코올 섭취로 인한 엽산 결핍에 의해 발생하는 것이라는 보고들이 있다<sup>23)</sup>.

알코올과 엽산 영양상태와의 관계를 관찰했던 선행 연구에 따르면 만성적으로 알코올을 섭취할 경우 사람의 식사 섭취량이 감소되고 이로 인해 엽산 섭취량이 감소되었다<sup>4)5)</sup>. 그 밖에도 만성적인 알코올 섭취는 실험 동물에서 엽산의 흡수율 저하<sup>6)7)</sup>, 엽산의 배설량 증가<sup>8) 11)</sup>, 간기능의 저하에 따른 엽산의 대사 저해<sup>12-14)</sup>, 체내 엽산 저장량의 감소<sup>3)15-16)</sup>를 초래하는 등 엽산 영양상태를 악화시키는 것으로 알려져 있다.

그러나 실험 동물을 이용한 선행연구들에서 사용된 알코올투여 방법은 액상식이(liquid diet)나 식수(drinking water)에 섞어 지속적으로 알코올을 공급하는 것으로 이 방법은 일반 사람들의 실제 음주습관과는 거리가 먼 것이었다. 일반 사람들의 음주량과 음주 빈도를 고려한 실제 음주 습관과 근사한 조건하에서 알코올이 엽산 영양상태에 미치는 영향을 분석한 연구는 아직 수행된 적이 없다. 우리나라 사람들이 1회 음주량에 함유된 알코올의 양, 음주의 빈도 등 실제 음주 습관과 유사한 조건에서 알코올이 엽산 대사에 미치는 영향을 연구할 필요가 있다. 또 선행 연구들<sup>4)6)8)9)12)15)</sup>은 엽산 결핍식이나 권장량 수준의 엽산을 함유한 식이를 먹는 동물을 대상으로 하여 알코올 투여가 엽산 대사나 영양상태에 미치는 영향을 연구하였으나 권장량을 넘는 수준의 엽산 보충식이를 포함 시킨 적이 없었다.

이에 본 연구는 실험 동물에게 우리나라 사람들의 음주량과 음주빈도를 고려하여 알코올을 투여하고 알코올이 식이 엽산의 수준에 따라 엽산의 영양상태에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보고자 하였으며, 알코올 섭취시 권장량 이상으로 엽산을 보충시켰을 때 체내 엽산 영양상태가 호전되는지를 관찰하고자 수행되었다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 실험 동물과 식이

Sprague-Dawley 종의 수컷 흰쥐를 3일간 고품 배합 사료(삼양 사료)로 적응시킨 후 체중에 따라 난피법으로 실험군당 8마리씩 지정하였으며 실험식이 개시당시 동물의 평균 체중은 146.0±1.1g이었다. 실험군은 식이엽산함량에 따라 결핍, 적정, 보충 등 세 군, 알코올 투여여부에 따라 두 군, 실험식이투여기간에 따라 4주, 10주 두 군, 모두 3×2×2, 12군으로 나누어 Table 1과 같이 사육하였다.

실험식이는 전보<sup>18)</sup>와 같이 옥수수전분, 설탕, 카제인, 대두유, 셀룰로스를 배합하여 제조하였다. 무기질믹스

Table 1. Experimental design

Groups <sup>1)</sup>	Diet		Feeding period (weeks)	Number of animals
	Folate content (mg/kg diet)	Alcohol administration		
FD	0	No	4 10	8 8
AFD	0	Yes	4 10	8 8
FA	2	No	4 10	8 8
AFA	2	Yes	4 10	8 8
FS	8	No	4 10	8 8
AFS	8	Yes	4 10	8 8

<sup>1)</sup> FD : No-alcohol administered folate deficient diet  
 AFD : Alcohol administered folate deficient diet  
 FA : No-alcohol administered folate adequate diet  
 AFA : Alcohol administered folate adequate diet  
 FS : No-alcohol administered folate supplemented diet  
 AFS : Alcohol administered folate supplemented diet

와 비타민믹스는 American Institute of Nutrition (AIN)의 권장사항에 준하여 직접 제조하여 사용하였다. 단 비타민 믹스중 엽산은 식이 1kg당 0, 2, 8mg을 함유하도록 조정하였는데 2mg/kg diet 수준은 AIN-76에서 제시하는 엽산 권장량이었으며 8mg/kg diet 수준은 권장량의 4배에 달하는 수준이었다.

본 연구에서 사용한 권장량의 4배에 달하는 식이 엽산 수준은 Halsted<sup>19)</sup>등의 연구결과를 바탕으로 하여 설정되었는데 그는 하루 2회 이상 술을 마시는 사람에게 엽산 권장량의 4배를 투여했을 때, 혈장 엽산 수준이 정상으로 회복되었다고 보고한 적이 있다.

### 2. 알코올의 투여

알코올투여군에게 50% 에탄올(ethylalcohol, first grade, Duksan Pharmaceutical Co. LTD.)을 삽관 튜브(intubation tube, KN-349, 흰쥐용 90MM, NA-IUME)를 사용하여 체중 100g당 0.18ml을 일주일에 3회씩 투여하였다. 이러한 알코올 섭취량은 체중 70kg의 성인 남자가 맥주 약 1,400cc 또는 소주 약 250cc를 마실 때 섭취하는 수준이었고, 알코올 투여 빈도는 우리나라 성인 음주자의 25%가 주 2~4회 술을 마신다는 1996년 통계청 자료<sup>20)</sup>에 준한 것이다.

### 3. 엽산 분석

전보<sup>18)</sup>와 같이 채취된 혈장, 간, 신장, 뇨와 변의 엽산 함량은 *Lactobacillus casei*(ATCC 7469)를 이용한 미

생물 분석법에 의해 측정되었다.

시료의 전처리 과정과 엽산의 분석과정은 전보와 동일한 방법으로 행하여 졌으며 간, 신장, 변은 돼지 신장에서 추출 정제한 pteroylglutamate hydrolase로 가수분해시켜 monoglutamate의 형태로 전환시킨 후 분석에 이용하였다. 준비된 혈장, 뇨, 간, 신장, 변에 0.1M sodium ascorbate-phosphate buffer, pH 6.2를 첨가한 첫 시험관에서부터 일정량씩 취하여 buffer를 첨가하면서 단계적으로 시료를 희석하였다. 준비된 시료와 standard tube에 각각 2×Folic Acid Casei Medium (Difco 회사)를 넣고 autoclave하였다. 24시간동안 배양한 *Lactobacillus casei* bacteria를 원심분리한 후 식염수로 세척하고 600nm의 파장에서 OD값 0.03이 되도록 균수를 일정하게 맞춘 후 inoculum을 1방울(=50 $\mu$ l)씩 microdispenser를 사용하여 각 시험관에 접종하였다. 이를 36시간동안 37 $^{\circ}$ C 항온기에서 배양한 후 600nm의 파장에서 흡광도를 읽어서 엽산표준용액곡선에 대입하여 엽산 함량을 정량하였다.

#### 4. 혈장 Aminotransferase활성도 측정

Reitman-Frankel법으로 GOT, GPT kit(영동제약)를 사용하여 혈장 GOT(glutamate oxaloacetate transaminase)와 GPT(glutamate pyruvate transaminase)의 활성을 측정하였다. 혈장 GOT의 활성도는 aspartic acid와  $\alpha$ -ketoglutaric acid를 반응시킨 후 생성된 oxaloacetic acid에 dinitrophenylhydrazine을 넣어 생성된 hydrazone에 0.4N NaOH(sodium hydroxide)를 가하여 등적색으로 발색시켰다. 혈장 GPT는 alanine과  $\alpha$ -ketoglutaric acid를 반응시킨 후 생성된 pyruvic acid에 dinitrophenylhydrazine을 넣어 생성된 hydrazone에 0.4N NaOH(sodium hydroxide)를 가하여 등적색으로 발색시켰다. 이를 505nm의 파장에서 spectro photo meter로 비색 정량하였고 단위는 혈청 1ml당 Karmen unit로 표시하였다.

#### 5. 자료의 처리 및 분석

모든 실험 결과는 평균치와 표준 오차로 나타내었다. 자료는 SAS program을 사용하여 분석하였다. 식이 엽산 함량과 알코올 투여가 실험 동물의 체중 증가량, 식이 섭취량, 식이 효율 및 장기무게에 미치는 영향은 이요인 분산분석법(two-way analysis of variance)로 통계 처리하였다. 혈장과 조직의 엽산 함량 및 엽산 배설량에 대한 결과는 알코올 투여, 식이엽산함량, 실험 식이투여기간의 삼요인 분산분석법으로(three-way analysis of variance)통계처리한 후 통계적으로 유의

성이 있는 것으로 나타난 요인에 대해서는 Duncan의 다중비교법 혹은 T-test를 사용하여 평균값들이 유의적으로 다른지 사후검증하였다.

## 실험결과 및 고찰

### 1. 식이 섭취량, 체중 증가량, 식이 효율, 장기무게

본 실험 결과 식이 섭취량은 Table 2에 나타난 바와 같이 알코올투여 여부와 식이 엽산 수준에 따라 유의적인 차이가 없었다. 체중 증가량은 알코올 투여에 의해 유의적( $p < 0.05$ )으로 감소되었다.

실험 식이 투여 첫 4주동안의 식이 효율은 알코올 투여 여부( $p < 0.01$ )와 식이 엽산 함량( $p < 0.05$ )에 따라 유의적인 차이가 나타났다. 이 기간 동안에 알코올-엽

Table 2. Weight gain, food intake and feed efficiency ratio(FER)

		4 Weeks	10 Weeks
Weight gain (g/day)	FD	$1)6.79 \pm 0.38^{c(2)}$	$4.02 \pm 0.22^{ab}$
	AFD	$4.83 \pm 0.73^a$	$3.86 \pm 0.17^a$
	FA	$6.02 \pm 0.30^{abc}$	$4.04 \pm 0.18^{ab}$
	AFA	$5.23 \pm 0.46^{ab}$	$3.86 \pm 0.23^a$
	FS	$6.83 \pm 0.57^c$	$4.64 \pm 0.19^b$
	AFS	$6.44 \pm 0.38^{bc}$	$3.94 \pm 0.28^a$
Significant factor <sup>3)</sup>		B* <sup>3)</sup>	B* <sup>3)</sup>
Food intake (g/day)	FD	$19.23 \pm 0.92$	$18.67 \pm 0.53$
	AFD	$18.44 \pm 0.76$	$19.26 \pm 0.59$
	FA	$19.93 \pm 0.63$	$19.01 \pm 0.35$
	AFA	$19.67 \pm 0.70$	$18.76 \pm 0.51$
	FS	$18.58 \pm 0.88$	$19.78 \pm 0.51$
	AFS	$19.27 \pm 0.53$	$18.15 \pm 0.64$
Significant factor		NS	NS
Feed efficiency ratio	FD	$0.35 \pm 0.01^c$	$0.21 \pm 0.01$
	AFD	$0.26 \pm 0.04^a$	$0.20 \pm 0.01$
	FA	$0.30 \pm 0.02^{abc}$	$0.21 \pm 0.01$
	AFA	$0.27 \pm 0.03^{ab}$	$0.20 \pm 0.01$
	FS	$0.36 \pm 0.01^c$	$0.23 \pm 0.01$
	AFS	$0.33 \pm 0.01^{bc}$	$0.22 \pm 0.01$
Significant factor		A*, B**	NS

1) Mean  $\pm$  S.E.

2) Values with different alphabets in the same feeding period are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

3) Statistical significance of A and B factor was calculated by 2-way ANOVA.

A : Effect of folate levels in diet was significant.

B : Effect of alcohol administration was significant.

NS : Not significant at  $p < 0.05$ .

\* :  $p < 0.05$  \*\* :  $p < 0.01$

산결핍군(AFD)의 식이 효율이 가장 낮았으며 엽산 보충군(FS)의 식이 효율이 가장 높게 나타났다. 이러한 차이는 실험 식이 투여기간이 경과하면서 사라져 10주 경과 후에는 각 실험군간의 식이 효율에 아무런 차이가 없었다. 본 실험 결과에서 10주간의 알코올 투여가 식이 섭취량을 감소시키지 않는 것으로 나타났는데 이는 알코올-액상식으로 12주간 사육된 실험동물의 식이 섭취량<sup>6)</sup>이 대조군에 비해 차이가 없었다는 보고와 일치하는 것이었다.

실험 동물의 장기무게는 Table 3에 나타내었다. 알코올이 간무게와 신장무게에 미치는 영향은 실험 식이 투여기간이 경과하면서 점차 줄어들었다.

실험 식이 투여기간 4주에서 간무게는 알코올에 의해 영향(p<0.05)을 받았으나, 실험 식이 투여기간 10주에서는 알코올 투여 여부와 식이 엽산 수준의 교호작용에 의해 영향(p<0.05)을 받아 간무게에 대한 알코올 투여의 영향이 식이 엽산 함량에 따라 다르게 나타났다. 엽산 결핍식이와 알코올의 투여를 병행할 경우는 알코올에 의해 간과 신장의 무게가 증가되는 경향을 보인데 반해 엽산 적정 식이나 엽산 보충식을 할 경우에는 알코올 투여로 인해 간과 신장의 무게가 유의적으로 감

**Table 3. Organ weights of the experimental animals**

	4 Weeks	10 Weeks	
Liver (g)	FD	<sup>1)</sup> 9.91 ± 0.60 <sup>2)</sup>	10.83 ± 0.54 <sup>a</sup>
	AFD	9.91 ± 0.65 <sup>a</sup>	11.76 ± 0.51 <sup>ab</sup>
	FA	8.89 ± 0.41 <sup>a</sup>	11.75 ± 0.32 <sup>ab</sup>
	AFA	9.00 ± 0.37 <sup>a</sup>	11.14 ± 0.60 <sup>a</sup>
	FS	10.01 ± 0.75 <sup>a</sup>	12.63 ± 0.62 <sup>b</sup>
	AFS	9.75 ± 0.35 <sup>a</sup>	10.42 ± 0.62 <sup>a</sup>
	Significant factor <sup>3)</sup>	B* <sup>3)</sup>	AB* <sup>3)</sup>
Kidney (g)	FD	1.99 ± 0.09 <sup>2)</sup>	2.41 ± 0.07
	AFD	2.44 ± 0.17 <sup>b</sup>	2.44 ± 0.06
	FA	2.19 ± 0.13 <sup>ab</sup>	2.32 ± 0.06
	AFA	2.13 ± 0.09 <sup>ab</sup>	2.38 ± 0.08
	FS	2.35 ± 0.15 <sup>ab</sup>	2.47 ± 0.08
	AFS	2.23 ± 0.07 <sup>ab</sup>	2.27 ± 0.07
	Significant factor <sup>3)</sup>	AB* <sup>3)</sup>	NS <sup>3)</sup>

1) Mean ± S.E.  
 2) Values with different alphabets in the same feeding period are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.  
 3) Statistical significance of A and B factor was calculated by 2-way ANOVA.  
 A : Effect of folate levels in diet was significant.  
 B : Effect of alcohol administration was significant.  
 AB : Interaction of factor A & B was significant.  
 NS : Not significant at p<0.05.  
 \* : p<0.05.

소되었다. 실험 식이 투여기간 4주때의 신장무게는 알코올과 식이 엽산수준의 교호 작용에 의해서도 영향(p<0.05)을 받았다. 엽산 결핍 식이를 투여한 경우에는 알코올에 의해 신장 무게가 유의적으로 증가되었으나, 적정량 이상의 엽산을 섭취할 경우 신장무게가 감소되는 경향을 보였다. 그러나 실험 식이를 투여한 지 10주 경과한 후에는 식이 엽산 수준이나 알코올 투여여부에 관계없이 신장의 무게에 차이가 없었다.

**2. 혈장 엽산 농도**

혈장 엽산 농도는 Table 4에 제시된 바와 같이 식이

**Table 4. Plasma, Liver and kidney folate levels of rats on experimental diet by alcohol administration**

	4 Weeks	10 Weeks	
Plasma (ng/ml)	FD	<sup>1)</sup> 9.03 ± 0.72 <sup>2)2)3)</sup>	5.19 ± 0.40 <sup>a</sup>
	AFD	8.99 ± 0.41 <sup>2)</sup>	4.91 ± 0.47 <sup>a</sup>
	FA	78.56 ± 2.01 <sup>b</sup>	79.01 ± 2.60 <sup>b</sup>
	AFA	76.89 ± 2.62 <sup>b</sup>	73.17 ± 3.42 <sup>b</sup>
	FS	139.69 ± 5.48 <sup>d</sup>	132.86 ± 6.32 <sup>c</sup>
	AFS	120.92 ± 8.60 <sup>c</sup>	122.63 ± 8.20 <sup>c</sup>
Significant factor <sup>4)</sup>	A***, B***, C* <sup>4)</sup>		
Liver (µg/g)	FD	<sup>1)</sup> 3.71 ± 0.22 <sup>2)2)3)</sup>	2.45 ± 0.25 <sup>a</sup>
	AFD	3.70 ± 0.47 <sup>2)</sup>	2.58 ± 0.28 <sup>a</sup>
	FA	9.58 ± 0.37 <sup>2)</sup>	15.94 ± 1.88 <sup>bc</sup>
	AFA	9.25 ± 0.63 <sup>2)</sup>	12.65 ± 0.94 <sup>b</sup>
	FS	13.60 ± 0.51 <sup>c</sup>	18.23 ± 1.34 <sup>c</sup>
	AFS	12.75 ± 0.74 <sup>c</sup>	16.18 ± 1.89 <sup>c</sup>
Significant factor <sup>4)</sup>	A***, B*, C***, AC***, BC* <sup>4)</sup>		
Kidney (µg/g)	FD	1.56 ± 0.14 <sup>2)2)3)</sup>	1.05 ± 0.08 <sup>a</sup>
	AFD	1.45 ± 0.12 <sup>2)</sup>	0.94 ± 0.08 <sup>a</sup>
	FA	3.95 ± 0.28 <sup>b</sup>	4.16 ± 0.14 <sup>c</sup>
	AFA	3.83 ± 0.42 <sup>b</sup>	3.38 ± 0.19 <sup>b</sup>
	FS	4.72 ± 0.15 <sup>c</sup>	4.60 ± 0.22 <sup>c</sup>
	AFS	4.49 ± 0.18 <sup>bc</sup>	4.28 ± 0.29 <sup>c</sup>
Significant factor <sup>4)</sup>	A***, B**, C*** <sup>4)</sup>		

1) Mean ± S.E.  
 2) Values with different alphabets within the same feeding period are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.  
 3) Values with symbols(#) within the same treatment group(dietary folate level and alcohol administration) are significantly different at p<0.05 by t-test.  
 4) Statistical significance of factors was analyzed by 3-way ANOVA.  
 A : Effect of folate levels in diet was significant.  
 B : Effect of alcohol administration was significant.  
 C : Effect of feeding period was significant.  
 AC : Interaction of factor A and C was significant.  
 BC : Interaction of factor B and C was significant.  
 \* : p<0.05    \*\* : p<0.01    \*\*\* : p<0.001.

엽산 함량( $p < 0.001$ ), 알코올 투여( $p < 0.001$ ), 실험 식이 투여기간( $p < 0.05$ )에 의해 영향을 받는 것으로 나타났다. 혈장 엽산 농도는 전 실험기간에 걸쳐 식이 엽산 함량이 높을수록 유의적으로 증가하였다. 알코올 투여군의 혈장 엽산 농도는 비투여군에 비해 낮았으나 4주째 엽산 보충식을 먹은 군을 제외하고는 그 차이가 유의적으로 나타나지는 않았다.

본 연구에서 혈장 엽산농도는 알코올 투여 여부보다 식이 엽산 섭취량에 의해 더 큰 영향을 받았는데 이는 알코올-액상식이(liquid diet)를 12주간 공급하였을 때 알코올이 혈장 엽산 농도를 감소시키기는 하였으나 알코올보다는 식이 엽산 함량이 혈장 엽산수준에 보다 큰 영향을 미친다고 보고한 McMartin<sup>8)</sup>의 연구 결과와 유사한 것이었다.

본 실험 결과 실험 식이 투여기간에 따른 혈장 엽산 농도의 변화는 식이 엽산 수준에 따라 서로 다르게 나타났다. 즉, 엽산적정식이군과 엽산보충식이군의 혈장 엽산 농도는 실험기간 경과에 따라 큰 변화를 보이지 않았으나 엽산 결핍식이군의 혈장 엽산 농도는 결핍식이 투여기간이 지속되면서 계속 감소되었다.

실험 식이 투여기간 4주에서는 권장량의 4배만큼 엽산을 보충시켰을 때 알코올 비투여군(FS)에 비해 알코올 투여군(AFS)의 혈장 엽산 농도가 유의적으로 낮게 나타났는데 엽산 보충식을 10주간 투여했을 때는 알코올의 혈장 엽산 감소효과가 없어졌다. 따라서 식이 엽산의 보충이 알코올에 의한 혈장 엽산 수준 감소 효과를 완화시키는 것으로 보인다.

### 3. 간 엽산 농도

간의 엽산 함량은 식이 엽산 함량( $p < 0.001$ ), 실험 식이 투여기간( $p < 0.001$ ), 알코올 투여여부( $p < 0.05$ ), 식이 엽산 함량과 실험 식이 투여기간의 교호작용( $p < 0.001$ ), 알코올 투여와 실험 식이 투여기간의 교호작용( $p < 0.05$ )에 의해 영향을 받았다.

본 실험 결과 간의 엽산 함량은 식이 엽산의 함량이 높을수록 높게 나타났다. 엽산 적정식이와 보충식이군의 간의 엽산 함량은 실험 식이 투여기간이 길어질수록 증가하였다.

실험 식이 투여 기간이 간 엽산 함량에 미치는 영향은 식이 엽산 수준과 알코올의 투여여부에 따라 다르게 나타났다. 엽산 결핍식이군(FD, AFD)의 간 엽산 함량은 알코올 투여 여부에 관계 없이 실험 식이 투여 기간이 경과함에 따라 감소되었으며, 적당량의 엽산을 투여 받을 경우, 알코올 투여군(AFA)과 알코올 비투여군(FA) 모두 간 엽산 함량이 증가하는 것으로 나타났다.

엽산 보충군의 경우 알코올 비투여군(FS)의 간 엽산 함량이 엽산 보충 기간이 길어짐에 따라 유의적으로 증가하였으나 알코올을 투여하였을 때에는 실험 식이 투여 기간이 길어져도 간 엽산 수준이 더 이상 증가하지 않았다.

실험 식이 투여기간 10주에서 알코올 투여군의 간 엽산 함량은 알코올 비투여군에 비해 엽산 적정군의 경우(AFA) 20.6%, 엽산 보충군의 경우 11.2%가 감소되었다. 따라서 알코올은 간의 엽산 저장능력을 감소시킨다고 할 수 있으며 이러한 알코올의 효과는 실험 식이 투여기간이 길어짐에 따라 더 크게 나타났다. 선행 연구들<sup>31)32)</sup>도 만성적인 알코올의 섭취가 간의 엽산 함량을 낮춘다고 보고하였다.

엽산 보충의 효과로 실험 식이 투여기간 10주에서 알코올을 투여하지 않은 엽산 보충군(FS)은 엽산 적정군(FA)과 비교해 간 엽산 함량에 유의적 차이가 없었으나 알코올-엽산보충군(AFS)의 간 엽산 함량은 16.8 $\mu$ g/g으로 알코올-엽산적정군(AFA)의 간 엽산 함량 12.65 $\mu$ g에 비해 유의적으로 더 높게 나타나 만성적인 알코올의 섭취시 식이 엽산의 보충은 간의 엽산 저장고를 높일 수 있다고 하겠다.

실험 동물에 대한 간기능 검사 결과, 알코올 투여에 의한 혈장 GOT와 GPT수준등 간기능은 저하되지 않았다(자료 미 제시). 따라서 본 실험에서 알코올의 투여에 의해 나타난 엽산 수준의 변화는 알코올로 인한 간기능의 저하로 인한 2차적인 영향이 아니었으며 본 실험에서 사용된 알코올의 투여량은 간기능에는 이상을 초래하지 않으면서도 간조직의 엽산 함량을 낮추는 것으로 나타났다.

### 4. 신장 엽산 농도

신장의 엽산 함량은 식이 엽산 함량( $p < 0.001$ ), 실험 식이 투여기간( $p < 0.01$ ), 알코올 투여여부( $p < 0.01$ )에 의해 영향을 받는 것으로 나타났다.

본 실험 결과 신장 엽산 함량은 식이 엽산 함량이 높을수록 증가되었다. 그러나 실험 식이 투여기간이나 알코올 투여여부에 의한 영향은 식이 엽산 함량에 따라 다르게 나타났다. 엽산 결핍군의 신장 엽산 함량은 실험 식이 투여기간이 경과함에 따라 유의적으로 감소되었으며 식이 엽산 결핍시 알코올의 투여는 신장엽산 함량에는 영향을 미치지 못하였다.

이에비해 엽산 적정식이와 엽산 보충식이군에서는 알코올 투여군(AFA, AFS)과 알코올 비투여군(FA, FS) 모두 실험 식이 투여기간에 의해 영향을 받지 않았다. 그러나 실험 식이 투여기간 10주에서 알코올 투

여군의 신장 엽산 함량은 적정량의 엽산 투여시(AFA) 알코올 비투여군(FA)에 비해 유의적으로 낮았다. 이는 알코올의 투여가 신장 엽산 보유 능력을 감소시킨 것이라는 McMartin<sup>9)</sup>의 실험 결과와 일치하는 것이었다. 그러나 본 실험에서 엽산을 보충시킨 결과 실험 식이 투여기간 10주에서는 알코올 투여에 의한 신장 엽산 함량이 감소가 극복되어 알코올 비투여군의 신장 엽산 함량에 비교해 볼 때 차이가 없었다.

간과 신장은 엽산의 저장고로서 엽산의 섭취가 부적절할 경우 혈중으로 엽산을 방출하여 다른 기관에서 이용할 수 있도록 한다. 그러나 알코올은 체내 엽산 저장고를 감소시켜 엽산 결핍상태를 가속화시키는 것으로 보고되었다.<sup>17)</sup> 본 실험 결과 간보다 신장의 엽산 함량이 알코올 투여여부에 의해 더 크게 영향을 받는 것으로 나타났다. 이에 대해 McMartin<sup>9)</sup>은 신장이 엽산의 배설과 재흡수를 담당하는 기관이기 때문에 알코올의 투여가 간보다 신장 엽산 함량에 더 큰 영향을 미친다고 했다.

### 3. 엽산 배설량

뇨와 변으로의 엽산 배설량은 Table 5에 제시하였다.

본 실험 결과 24시간 뇨의 엽산 배설량은 엽산 섭취량이 증가할수록 유의적( $p < 0.001$ )으로 증가하였다. 알코올 투여에 의한 영향( $p < 0.01$ )은 식이 엽산 함량과 실험 식이 투여기간에 따라 다르게 나타났다. 알코올이 뇨 엽산 배설량에 미치는 영향을 관찰한 선행 연구에서는 알코올이 5-methyl THF(tetrahydrofolate)에서부터 10-formyl-THF나 THF로의 전환을 방해하여 뇨의 엽산 배설량을 증가시킨다고 하였으며<sup>9)</sup>, 알코올은 신장의 엽산 결합단백질과의 친화력을 감소시켜 뇨의 엽산 배설을 증가시킨다고 하였다. 또 다른 이론으로는 알코올이 세뇨관 막을 직접적으로 손상시켜 엽산의 배설량을 증가시켜서 엽산 영양불량을 초래한다는 것이 있다.<sup>10)11)</sup> 본 실험 결과 알코올은 뇨의 엽산 배설량에 유의적인 영향을 나타내었으며, 실험식이 투여기간 4주에서는 알코올에 의해 뇨의 엽산 배설량이 증가되었고, 알코올 투여기간이 10주가 되었을 때 뇨의 엽산 배설량이 감소하는 경향을 보였다. 본 실험 결과 24시간동안 배설된 뇨 부피는 알코올 투여 여부에 영향을 받지 않았으며(자료 미제시), 이는 24시간 뇨의 엽산 배설량은 알코올에 의한 이뇨작용에 영향을 받지 않았다는 보고<sup>21)22)</sup>와도 일치하는 것이었다.

엽산 결핍군의 엽산 뇨 배설량이 다른 식이 군에 비해 유의적으로 낮았으며 알코올 투여시 엽산 배설량이 더 이상 증가하지 않는 것으로 보아 엽산 영양상태가

**Table 5.** Urinary and fecal folate levels of rats on experimental diet by alcohol administration

		4 weeks	10 weeks
Urine ( $\mu\text{g/day}$ )	FD	<sup>1)</sup> 0.12 $\pm$ 0.22 <sup>2)3)</sup>	0.48 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
	AFD	0.17 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.40 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
	FA	2.86 $\pm$ 0.23 <sup>b*</sup>	4.03 $\pm$ 0.28 <sup>ab</sup>
	AFA	3.78 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>	5.87 $\pm$ 1.10 <sup>b</sup>
	FS	13.90 $\pm$ 0.79 <sup>c*</sup>	27.54 $\pm$ 2.77 <sup>c</sup>
	AFS	14.71 $\pm$ 0.39 <sup>c*</sup>	24.07 $\pm$ 2.24 <sup>c</sup>
Significant factor <sup>4)</sup>		A***, B**, C***, AC***, BC*** <sup>4)</sup>	
Feces ( $\mu\text{g/day}$ )	FD	1.53 $\pm$ 0.40 <sup>2)</sup>	1.97 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>
	AFD	1.13 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	1.84 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>
	FA	1.76 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	2.42 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>
	AFA	1.54 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	2.48 $\pm$ 0.61 <sup>a</sup>
	FS	1.65 $\pm$ 0.40 <sup>2)3)</sup>	5.27 $\pm$ 1.18 <sup>b</sup>
	AFS	2.21 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	5.55 $\pm$ 1.41 <sup>b</sup>
Significant factor <sup>4)</sup>		A**, C***, AC*** <sup>4)</sup>	

1) Mean  $\pm$  S.E.

2) Values with different alphabets in the same feeding period are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

3) Values with symbols(#) within the same treatment group(dietary folate levels and alcohol administration) are significantly different at  $p < 0.05$  by t-test.

4) Statistical significance of factors was analyzed by 3-way ANOVA.

A : Effect of folate levels in diet was significant.

B : Effect of alcohol administration was significant.

C : Effect of feeding period was significant.

AC : Interaction of factor A and C was significant.

BC : Interaction of factor B and C was significant.

\* :  $p < 0.05$     \*\* :  $p < 0.01$     \*\*\* :  $p < 0.001$

불량할 때는 엽산을 체내에 보유하려는 기전이 작용하는 것으로 보인다.

본 실험결과 엽산 섭취량이 증가할수록 변의 엽산 배설량은 증가되는 경향을 보였으나 알코올 투여에 의한 영향은 받지 않았다. 실험 식이 투여기간 첫 4주에는 식이 엽산 함량에 따라 변으로 배설되는 엽산 배설량에 유의적인 차이를 볼 수 없었으나 10주가 경과한 후에는 엽산 보충 식이군의 변 엽산 배설량이 엽산 적정식이군이나 결핍식이군에 비해 유의적으로 높았다.

Tamura<sup>13)</sup>와 Edward<sup>23)</sup>는 대조군과 에탄올 투여군 간에 변의 엽산 배설량에 차이가 없었다고 했고, 그 이유를 알코올에 의한 엽산의 장간 순환의 감소와 흡수율의 저하가 서로 상쇄된 것이라고 하였다. Naughton<sup>24)</sup>는 miniature pig에게 4g/kg BW의 알코올을 한 달간 먹였을 때 회장에서 엽산의 흡수가 증가되는 등 엽산 결핍에 대한 적응기전이 나타난다고 하였다.

## 요약 및 결론

본 연구는 알코올, 엽산 섭취량, 사육기간이 체내 엽산 수준에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수행되었다. 식이 1kg당 0mg, 2mg, 8mg의 엽산을 함유한 식이를 먹인 흰쥐에게 삼관 튜브로 체중 100g당 0.18ml의 알코올을 주 3회 투여하고 4주, 10주간 사육한 후 혈장, 간, 신장의 엽산 함량과 뇨와 변으로의 엽산 배설량을 분석하였다.

혈장, 간, 신장의 엽산 함량은 식이 엽산 함량이 높을수록 유의적으로 증가하였다. 엽산 결핍식은 간, 신장, 혈장의 엽산 함량을 유의적으로 낮추었고, 결핍식이 투여기간이 경과함에 따라 혈장과 조직의 엽산 함량은 계속 감소되었다. 엽산의 영양상태는 알코올 투여여부보다 식이 엽산 수준에 의해 더 영향을 받는 것으로 나타났다. 알코올의 투여는 엽산 결핍식을 할 때 보다 엽산 섭취량이 적절하거나 높을 때 혈장과 조직의 엽산 수준을 더욱 두드러지게 감소시키는 것으로 관찰되었다.

식이 엽산이 결핍될 경우 뇨와 변을 통한 엽산의 배설이 감소되어 식이 엽산이 결핍될 때 적응기전이 작용하는 것으로 나타났다. 알코올은 뇨의 엽산 배설량에 유의적인 영향을 나타내었으며, 실험식이 투여기간 4주에서는 알코올에 의해 뇨의 엽산 배설량이 증가되었고, 알코올 투여기간이 10주가 되었을 때 뇨의 엽산 배설량이 감소되었다. 변의 엽산 배설량은 알코올에 의해 영향을 받지 않았다.

본 연구 결과 알코올의 섭취는 엽산의 영양상태를 저하시키며 만성적인 알코올 투여시 엽산의 보충은 엽산의 영양상태를 호전시키는데 효과적이었다. 따라서 본 실험 결과 엽산의 보충은 만성적인 알코올의 섭취로 인한 엽산 영양상태의 저하를 방지하고 나아가 엽산 결핍과 관련된 여러 가지 질병들을 예방하는데 바람직한 효과가 있을 것으로 사료된다.

## Literature cited

- Ridker PR, Halsted CH, Selhub J, Miletech JP, Malinow R, Stampfer MJ. Interrelation of hyperhomocysteinemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. *Circulation* 95 : 1777-1782, 1997
- Savage D, Linderbaum J. Anemia in alcoholics. *Medicine* 65(5) : 322-338, 1986
- Halsted CH. Folate deficiency in alcoholism. *Am J Clin Nutr* 33 : 2736-2740, 1980
- McGuffin R, Goff P, Hillman RS. The effect of diet and alcohol on the development of folate deficiency in the rat. *Brit J Haemat* 31 : 185-192, 1975
- Gloria L, Cravo M, Carmilo ME, Manuela R, Cardoso JN, Gouveia A, Oliveria, C. Nobre Leitao, F. Costa Mira. Nutritional deficiencies in chronic alcoholics : relation to dietary intake and alcohol consumption. *Am J Gastroenterol* 92(3):485-489, 1997
- Blocker DE, Thenen SW. Intestinal Absorption, liver uptake, and excretion of <sup>3</sup>H-folic acid in folic acid-deficient, alcohol-consuming nonhuman primates. *Am J Clin Nutr* 46 : 503-510, 1987
- Halsted CH, Robles EA, Mezey E. Decreased jejunal uptake of labelled folic acid(<sup>3</sup>H-PGA) in alcoholic patients : Roles of alcohol and nutrition. *N Engl J Med* 285(13) : 701-706, 1971
- McMartin KE, Collins TD. Effects of chronic ethanol and diet treatment on urinary folate excretion and development of folate deficiency in the rat. *J Nutr* 119 : 1490-1497, 1989
- McMartin KE, Collins TD. Role of ethanol metabolism in the alcohol-induced increase in urinary folate excretion in rats. *Biochem Pharm* 33(17) : 2549-2555, 1983
- Muldoon RE, McMartin KE. Ethanol acutely impairs the renal conservation of 5-methyltetrahydrofolate in the isolated perfused rat kidney. *Alcohol Clin & Exp Res* 18(2) : 333-339, 1994
- Ross DM, McMartin KE. Effect of ethanol on folate binding by isolated rat renal brush border membranes. *Alcohol* 13(5) : 449-454, 1996
- Wilkinson JA, Shane B. Folate metabolism in the ethanol-fed rat. *J Nutr* 112 : 604-609, 1982
- Tamura T, Romero JJ, Watson JE, Gong EJ, Halsted CH. Hepatic folate metabolism in the chronic alcoholic monkey. *J Lab Clin Med* 97 : 654, 1981
- Mezey E. Alcoholic liver disease : Roles of alcohol and metabolism. *Am J Clin Nutr* 33 : 2709-2718, 1980
- Hidroglou N, Camilo ME, Beckengauer HC, Tuma DJ, Nixon PF, Selhub J. Effect of chronic alcohol ingestion on hepatic folate distribution in the rat. *Biochem Pharm* 47(9) : 1561-1566, 1994
- Eichner ER, Loewenstein JE, Cox E. Effect of ethanol on activity of folate conjugase and on serum binding and cellular uptake of radiolabelled folates. *Biochem Society Transactions* 4 : 908-910, 1976
- Friedrich W. Folic acid and unconjugated pteridines. In : Vitamins, pp.619-752, deGruyter, New York, 1988
- Chang NS, Kim YS. Effects of dietary folate intake on plasma and tissue folate concentrations in rats. *Kor J Nutr* 31(3) : 271-278, 1998

- 19) Halsted CH. Folate requirements and metabolism in alcoholic liver disease. *Nut Res* 41(9) : 1439-1456, 1994
- 20) Health and Social Welfare Review. Korean Institute for Health and Social Affairs, 1996
- 21) Russell RM, Rosenberg IH, Wilson PD, Iber FL, Oaks EB, Giovetti A, Otradovec CL. Increased urinary excretion and prolonged turnover time of folic acid during ethanol ingestion. *Am J Clin Nutr* 38 : 64-70, 1983
- 22) McMartin KE, Collins TD, Bairnsfather L. Cumulative excess urinary excretion of folate in rats after repeated ethanol treatment. *J Nutr* 116 : 1316-1325, 1986
- 23) Eichner ER, Hillman RS. The evolution of anemia in alcoholic patient. *Am J Med* 50 : 218, 1971
- 24) Naughton CA, Chandler CJ, Duplantier RB, Halsted CH. Folate absorption in alcoholic pigs : *in vitro* hydrolysis and transport at the intestinal brush border membrane. *Am J Clin Nutr* 50 : 1436-1441, 1989