

식이 엽산수준이 흰쥐의 혈장과 조직의 엽산함량에 미치는 영향

장 남 수 · 김 연 수

이화여자대학교 식품영양학과

Effects of Dietary Folate Intake on Plasma and Tissue Folate Concentrations in Rats

Chang, Namsoo · Kim, Yeonsoo

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

ABSTRACT

Folate coenzymes are involved in one-carbon transfer reactions needed for the synthesis of nucleic acids, amino acids, and proteins which are very important for cell proliferation and differentiation. To investigate the effects of dietary folate content on plasma and tissue folate concentrations and on folate excretions in urine and feces, male Sprague-Dawley rats were raised for 4 - 10 weeks on semi-purified experimental diets containing 0mg, 2mg, 8mg folate/kg diet. Folate concentrations were determined microbiologically using *Lactobacillus casei* (ATCC 7469). When compared to the folate adequate diet, the folate deficient diet decreased folate levels in plasma, liver and kidney, and the values were further decreased with experimental period. In rats receiving folate supplemented diets, plasma, liver and kidney folate concentrations were increased compared to animals on the folate adequate diet. In the folate adequate or supplemented diets, folate concentrations in the plasma and kidney were maintained at essentially the same level for 10 weeks. Folate concentrations in the liver, however, continued to increase with experimental period. Dietary folate intake seems to influence plasma and liver folate concentrations more than kidney folate concentrations. Folate excretions in urine and feces were significantly increased with dietary folate intakes and experimental period. Folate excreted via urine was considerably greater than that via feces. These results indicated that the folate supplemented diet improved plasma and tissue folate status. Whether folate supplementation improves folate-dependent reactions remains to be researched. (*Korean J Nutrition* 31(3) : 271 ~ 278, 1998)

KEY WORDS : dietary folate · plasma folate · tissue folate · folate excretion.

서 론

엽산은 체내에서 THF로 환원된 다음 methyl, methenyl, methylene, formaldehyde, formimino기 등 단일탄소기와 결합하여 질소염기와 핵산, 아미노산과 채택일 : 1998년 3월 10일

단백질 합성 등 세포증식과 분화, 성장과정에서 매우 중요한 단일탄소전이반응의 조효소로 작용한다. 세포성장에서의 엽산의 중요성 때문에 엽산이 결핍되면 교체율이 빠른 혈구세포의 생성에 지장이 생겨서 거대적아구성 빈혈이 나타나는 것으로 잘 알려져 있다¹⁻⁴⁾. 그러나 최근 들어 엽산의 결핍이 혈액학적 이상을 초래할 뿐만 아니라 신경관 결합⁵⁻⁹⁾, 심혈관계질환¹⁰⁻²¹⁾, 암^{17,22)} 등 다

양한 질환과 관련이 있는 것으로 역학조사, 동물실험연구 등이 그 결과를 보고하고 있어서 이에 대한 연구가치가 더욱 증대되고 있다.

식이 엽산수준이 조직의 엽산함량에 미치는 영향을 분석하였던 국내연구는 매우 미흡한 실정이다. 엽산섭취량이 부족하면 혈장과 몇몇 조직의 엽산함량이 감소되는 것으로 실험동물을 이용한 외국의 연구결과^{23,26)}가 보고되어 있으나 일정한 섭취수준에서 엽산의 조직내 함량과 배설량을 동시에 측정하는 연구는 없었다. 특히 실험에 사용된 식이 엽산수준을 볼 때 엽산결핍수준과 권장량수준뿐만 아니라 엽산보충수준까지를 포함시킨 식이를 먹었을 때 체내 엽산대사에 나타난 변화를 조사한 연구는 없었다. 엽산과 관련된 신경관 결함, 심혈관계 질환, 암 등 질병을 예방하기 위해서는 권장수준보다 더 높은 섭취량이 유용할 수 있으므로 권장량을 초과하여 보충시켰을 때 체내 엽산영양상태가 향상되는지, 또한 실험식이 투여기간이 길어지면서 보충효과가 지속되는지를 연구할 필요가 있다.

이에, 본 연구에서는 엽산 섭취량이 체내 엽산영양상태에 미치는 영향을 파악하고자 식이 엽산량을 결핍, 적정, 보충의 3가지로 구분하여 흰쥐에게 공급한 후, 혈장 엽산과 조직의 엽산함량을 측정하였다. 엽산섭취량에 따라서 혈장, 간, 신장 등 조직의 엽산수준과 뇨와 변으로 배설되는 엽산양이 어떻게 변화하는지를 관찰하고 권장량 이상으로 엽산을 보충시켰을 때 엽산 영양상태가 향상되는지를 실험동물을 이용하여 관찰하였다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 동물과 식이

Sprague-Dawley 종의 수컷 흰쥐를 3일간 고품 배합 사료(삼양 사료)로 적응시킨 후 체중에 따라 난괴법으로 실험군당 8마리씩 지정하였으며 실험식이 개시당시 동물의 평균 체중은 146.4 ± 0.1 g이었다. 실험군은 Table 1의 실험계획에 나타난 바와 같이 식이 엽산함량에 따라 결핍, 적정, 보충 등 3군, 실험식이 투여기간에 따라 4주, 7주, 10주 3군으로 3×3 모두 9군으로 나뉘었다.

실험식은 Table 2에 나타난 바와 같이 옥수수전분, 설탕, 카제인, 대두유, 셀룰로스를 배합하여 제조하였다. 무기질믹스와 비타민믹스는 AIN-76²⁷⁾에 근거하여 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 해당

하는 수준이었다.

2. 시료채취

실험동물을 희생하기 3일전에 대사장(metabolic cage)에서 24시간동안 뇨와 변을 채취하였다. 뇨 채취병은 0.1N HCl로 세척한 후 사용하였고, 엽산이 공기중에 산화되는 것을 방지하기 위하여 sodium ascorba-

Table 1. Experimental design

Group ¹⁾	Folate content (mg/kg diet)	Feeding period (weeks)	Number of animals
FD	0	4	8
		7	8
		10	8
FA	2	4	8
		7	8
		10	8
FS	8	4	8
		7	8
		10	8

1) FD : folate deficient diet FA : folate adequate diet
FS : folate supplemented diet

Table 2. Composition of experimental diet

	Diet (g/kg diet)
Corn starch	560
Powdered sugar	100
Casein	150
Soybean oil	100
Salt mixture ¹⁾	35
Vitamin mixture ²⁾	10
Choline chloride	2
DL-methionine	3
Fiber, α -cellulose	40

1) AIN Salt mixture(g/kg salt mixture) : Calcium phosphate, dibasic(CaHPO₄ · 2H₂O) 500, Sodium chloride (NaCl) 74, Potassium citrate, monohydrate(K₂C₆H₆O₇ · H₂O) 220, Potassium sulfate(K₂SO₄) 52, Magnesium oxide(MgO) 24, Manganous carbonate(43-48% Mn) 3.5, Ferric citrate(16-17% Fe) 6, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6, Cupric carbonate(53-55% Cu) 0.3, Potassium iodate(KIO₃) 0.01, Sodium selenite(Na₂SeO₃ · 5H₂O) 0.01, Chromium potassium sulfate(CrK(SO₄)₂ · 12H₂O) 0.55, Sucrose finely powdered to make 1,000g.

2) Vitamin mixture의 조성(mg/kg Vit. mixture) : Thiamin · HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine · HCl 700, Nicotinic acid(Nicotinamide is equivalent) 3,000, D-Calcium pantothenate 1,600, Folic acid(FD 0, FA 200, FS 800), D-Biotin 20, Cyanocobalamin(vitamin B₁₂) 1, Retinyl palmitate or acetate(vitamin A) as stabilized powder to provide 400,000IU vitamin activity or 120,000 retinol equivalents, DL- α -Tocopheryl acetate(vitamin E) as stabilized powder to provide 5,000IU vitamin E activity, Cholecalciferol 2.5(100,000IU, may be in powder form), Menaquinone(vitamin K, Menadione) 5.0, Sucrose finely powdered to make 1,000g.

te를 1g씩 채취병마다 넣어주었다. 채취한 뇨는 즉시 -20℃에서 냉동 보관하였다가 40ml가 되도록 증류수로 희석하여 3,000rpm, 30분간 원심 분리시킨 후에 상청액만을 취하여 -20℃에서 냉동 보관하였다.

사육기간이 끝난 후 희생시키기 전에 12시간을 굶긴 후에 에틸 에테르로 마취시켜 개복한 후 3.8% sodium citrate로 미리 처리한 10ml주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 EDTA가 들어있는 원심분리관에 담아 2,800rpm, 4℃에서 30분간 원심 분리하여 분리된 혈장을 냉동 보관하였다. 혈액 채취후 간과 신장조직을 떼어 찬 생리적 식염수로 세척한 다음 무게를 측정하여 냉동 보관하였다.

3. 시료준비와 염산분석

혈장, 조직, 뇨와 변의 염산함량은 *Lactobacillus casei* (ATCC 7469)를 이용한 미생물 분석법²⁹⁾에 의해 측정되었다. 혈장과 뇨는 pteroylglutamate hydrolase 효소의 가수분해과정인 전처리없이 염산함량을 분석하였고 간, 신장, 변은 pteroylglutamate hydrolase로 가수분해시킨 후 monoglutamate의 형태로 전환시킨 다음 염산의 함량을 분석하였다.

1) 혈장, 뇨 시료와 표준 용액 준비

혈장을 0.05M sodium ascorbate-phosphate buffer, pH 5.7로 7~23배 희석하여 121℃에서 1분간 멸균한 후 1,500×G에서 5분간 원심 분리시켜 얻어진 맑은 상청액을 분석에 사용하였다. 뇨는 0.1M sodium ascorbate-phosphate buffer, pH 6.7로 7~23배 희석하여 분석에 사용하였다. 염산 표준곡선을 만들기 위해 사용된 표준용액의 염산농도는 0~8ng/ml이었으며 표준용액은 pteroylglutamic acid (Sigma, USA)를 20% ETOH in 0.01N NaOH에 용해시켜 제조하였다.

2) 간, 신장, 변 시료 준비

간, 신장과 변 시료를 0.1M sodium ascorbate-phosphate buffer, pH 6.1로 10배 희석하여 균질화시켰다. 10분간 멸균하고 원심 분리하여 얻은 상청액에 pteroylglutamate hydrolase를 첨가하여 37℃, 6시간동안 배양하였다. Pteroylglutamate hydrolase처리한 시료를 0.1M sodium ascorbate-phosphate buffer, pH 6.7로 간은 4~8배, 신장은 2~6배, 변은 1~4배 희석시킨 후 염산분석에 사용하였다.

Pteroylglutamate hydrolase제조법은 Baugh와 Krumdieck 등²⁹⁾의 방법을 일부 수정하여 사용하였다. 지방을 제거한 신선한 돼지 신장 200g을 0.32% cysteine HCl용액으로 균질화한 후 37℃에서 2시간동안

자기분해(autolyze)시켰다. 균질액을 2℃, 1,000×G에서 20분간 원심분리후 상청액을 다시 원심분리하여 얻은 상청액을 1N HCl로 pH 4.5로 맞춘 다음 Dowex 1x8 chloride 30g을 첨가하면서 유리막대로 계속 저어주었다. 이 용액을 유리섬유에 3번 여과후 ammonium sulfate를 천천히 첨가하고(31.3g/100ml filtrate) 2℃, 12,000×G에서 30분간 원심 분리하였다. 상청액에 ammonium sulfate를 첨가하여(25.8g/100ml filtrate) 85% 포화용액으로 만든 후 2℃, 12,000×G에서 30분간 원심 분리하여 얻은 침전액에 소량의 증류수를 첨가하여 dialysis bag(Spectrum, M.W. cut-off: 12,000~14,000)에 담아서 24시간동안 투석한 후 -70℃에 냉동 보관하였다.

3) 염산분석

앞서 서술된 과정을 통해 준비된 혈장, 뇨, 간, 신장, 변 등 시료 0.6ml에 0.1M sodium ascorbate-phosphate buffer, pH 6.2, 2.4ml를 첨가한 첫 시험관에서부터 일정량씩 취하여 buffer를 첨가하면서 단계적으로 시료를 희석하였다. 준비된 시료와 standard tube에 각각 2×Folic Acid Casei Medium(Difco 회사) 1.5ml를 넣고 2분간 autoclave하였다. 37℃에서 24시간동안 배양한 *Lactobacillus casei* bacteria를 원심 분리한 후 멸균된 식염수로 세척하고 600nm에서 OD값 0.03이 되도록 균수를 일정하게 맞춘 후 inoculum을 1방울(=50μl)씩 microdispenser를 사용하여 각 시험관에 접종하였다. 이를 36시간동안 37℃ 항온기에서 배양한 후 pasteur pipet으로 잘 부유시켜서 600nm에서 흡광도를 읽어서 염산표준용액곡선에 대입하여 염산 함량을 정량하였다.

4. 자료의 처리 및 분석

모든 실험 결과는 평균치와 표준 오차로 나타내었다. 자료는 SAS program을 사용하여 식이 염산함량과 실험식이 투여기간의 이요인 분산분석법으로(two-way ANOVA) 통계처리한 후 통계적으로 유의성이 있는 것으로 나타난 요인에 대해서는 Duncan의 다중비교법을 사용하여 평균값들이 유의적으로 다른지 사후 검증하였다.

실험 결과 및 고찰

1. 식이 섭취량, 체중 변화와 장기무게

실험동물의 일일 평균 식이 섭취량에는 각 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 또 동일한 사육기간내에서 체중증가량과 식이 효율은 식이염산함량이 높을수록

증가하는 경향을 보였으나 유의적이지는 않았다. 이는 0~4mg/kg diet 엽산식이를 쥐에게 25일간 공급하였을 때, 식이엽산함량이 증가할수록 체중증가량이 유의적이지는 않았지만 증가되는 경향을 보였다는 보고²³⁾와 쥐에게 엽산적정식이와 결핍식이를 16주동안 주었을 때 엽산결핍식이보다 엽산적정식을 섭취한 군의 체중이 유의적이지는 않았으나 더 많이 나가는 경향을 보였다는 Eisenga 등²⁴⁾의 연구결과와 일치하는 것이었다. 간과 신장의 무게는 식이엽산함량에 따라 달라지지 않았다.

본 실험에서 사용한 엽산결핍식이나 보충식이 적어도 10주간의 투여기간동안에는 식이섭취나 체중에 큰 영향을 주지 않았기 때문에 식이엽산수준으로 인해 혈장이나 조직에 나타난 엽산함량의 변화는 제조된 실험식이 식이섭취량과 성장에 지장을 초래해서 나타난 것이 아님을 알 수 있다.

2. 혈장, 간, 신장의 엽산 농도

혈장 엽산 농도는 식이 엽산 함량이 증가할수록 유의적으로 증가되었다(p<0.001)(Table 3). 엽산결핍식이군(FD)의 혈장 엽산수준은 적정식이군(FA)의 혈장 엽산수준의 10%수준으로 매우 낮았고 보충식이군(FS)의 혈장 엽산함량은 적정식이군(FA)에 의한 수준의 1.5배이상으로 높았다. 본 결과는 엽산결핍식이와 보충식이의 0mg, 8mg을 비교한 Eisenga 등²⁴⁾의 연구, Kim 등²⁵⁾의 결과와 유사한 것이었다. 4주의 엽산 적정식이군의 혈장 엽산함량을 기준으로 하여 각 실험식이군들

의 혈장 엽산함량의 변화를 Fig. 1에 나타낸 결과 혈장 엽산함량은 식이엽산함량에 매우 예민하게 반응하는 것으로 보인다.

실험식이 투여기간에 따른 변화를 살펴보면 혈장의 엽산수준은 엽산결핍식이기간(FD)이 경과함에 따라 감소되었으나 7주 이후에는 감소율이 줄어드는 것으로 나타났다. 식이 1kg당 8mg의 엽산보충식이군(FS)의 혈장 엽산수준은 엽산적정식이군(FA)의 혈장 엽산수준보다 63.0~77.8% 증가되었으나 실험식이 투여기간이 경과하여도 같은 혈장 엽산수준이 계속 유지되는 것으로 보아 혈장 엽산수준이 포화되었다고 볼 수 있다. 엽산적정식이군(FA)의 혈장 엽산수준은 10주간의 식이 투여기간 내내 일정하게 유지되었다. 엽산결핍식이군의 혈장 엽산수준은 실험식이 투여기간이 경과함에 따라 감소되었고 엽산적정식이군의 혈장 엽산함량은 20주 실험식이 투여기간동안 변화가 없었다는 Lin³⁰⁾의 보고와 유사하였다.

간과 신장의 엽산함량은 동일한 실험식이 투여기간 내에서 식이엽산함량이 증가할수록 유의적으로 증가되었다(p<0.001). 엽산결핍식이군(FD)의 간과 신장의 엽산함량은 적정식이군(FA)보다 유의적으로 감소되었고 보충군(FS)의 조직내 엽산함량은 적정식이군(FA)보다 유의적으로 높았다. 식이 엽산함량이 높을 때 간과 신장의 엽산수준이 증가한다는 본 연구결과는 Clifford 등²³⁾, Kim 등²⁵⁾, Varela-Moreiras와 Selhub 등²⁶⁾의 결과와 일치하는 것이었다.

본 연구결과 실험식이 투여기간에 따른 간과 신장의

Table 3. Plasma, liver, and kidney folate levels of rats on experimental diets

Feeding period (weeks)	Group	Plasma	Liver	Kidney
		ng/ml	µg/g tissue	µg/g tissue
4	FD ¹⁾	²⁾ 9.03±0.72 ^{c3)abd)}	¹⁾ 3.71±0.22 ^{ab3)}	1.56±0.14 ^{ac}
	FA	78.56±2.01 ^{bc}	9.58±0.37 ^{bc}	3.95±0.28 ^{bc}
	FS	139.69±5.48 ^{ac}	13.60±0.51 ^{ca}	4.72±0.15 ^{ca}
7	FD	5.90±0.74 ^{cb}	2.99±0.26 ^{ab}	1.31±0.12 ^{ab}
	FA	79.35±3.39 ^{bc}	12.97±1.28 ^{bc}	4.13±0.29 ^{bc}
	FS	132.38±7.63 ^{ac}	17.31±0.84 ^{cb}	5.17±0.34 ^{ca}
10	FD	5.19±0.40 ^{cb}	2.45±0.25 ^{ac}	1.05±0.08 ^{ac}
	FA	79.01±2.60 ^{bc}	15.94±1.88 ^{bb}	4.16±0.14 ^{bc}
	FS	128.78±7.17 ^{ac}	18.23±1.34 ^{bb}	4.60±0.22 ^{bc}
Significant factor ⁵⁾		A	A, B, AB	A

1) FD : folate deficient diet FA : folate adequate diet FS : folate supplemented diet
 2) Mean±S.E.
 3) Values with different alphabet in the same feeding period are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.
 4) Values with different greek letters in the same diet group are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.
 5) Statistical significance of A and B factor was calculated by two-way ANOVA.
 A : Effect of folate content was significant at p<0.001.
 B : Effect of feeding period was significant at p<0.001.
 AB : Interaction of factor A & B was significant at p<0.01.

엽산수준은 서로 다른 경향을 나타내었다. 엽산결핍식이군(FD)의 간 엽산수준은 실험식이 투여기간이 경과할수록 유의적으로 낮아졌다. 엽산적정식이(FA)와 보충식이군(FS)의 간 엽산함량은 실험식이 투여기간이 경과할수록 유의적으로 증가되었지만($p < 0.001$) 신장 엽산함량은 실험식이 투여기간에 의한 영향을 받지 않았다. 엽산적정식이(FA)와 보충식이(FS)로 10주간 사육한 동물의 간과 신장 엽산함량의 변화를 비교해 보면 간의 엽산수준은 계속 증가하는 추세였고 신장의 엽산수준은 7주이후에 오히려 감소된 것을 보아 신장 조직은 간조직보다 먼저 포화되는 것으로 보인다(Fig. 1).

체내 엽산의 항상성 유지에 중요한 기능을 하는 기관이 간과 신장이다²⁴. 간과 신장은 엽산 섭취량이 충분할 때 엽산을 저장하고 엽산영양상태가 불량할 때는 엽산을 방출하는데 특히 간에는 엽산이 세포에 저장될 때 필요한 효소인 pteroylpolylglutamate synthetase의 활성과 양이 가장 많아서²⁵ 체내 총 엽산량의 1/2~2/3 정도^{11,17}가 간에 저장될 수 있다. 신장에는 folate-binding protein이 존재하는데 이 단백질들은 가수분해효소가 polyglutamate유도체에 작용하지 못하게 하여 엽산이 조직에 저장되도록 하는 기능을 가진다²¹. 그러나 이 단백질들은 양이 한정되어 있기 때문에 간보다는 적은 양의 엽산이 신장에 저장되며 이 때문에 엽산섭취량이 충분하거나 높을 때 간보다 신장조직에 빨리 포화가 일어나는 것으로 보인다.

3. 뇨액 변의 엽산배설량

뇨로 배설된 엽산배설량은 실험식이 투여기간과 식이 엽산함량이 증가할수록 유의적으로 증가하였다($p < 0.001$)(Table 4). 10주간의 실험식이기간에서 엽산결핍식이군(FD)의 뇨 엽산배설량은 4주에 비해 10주에는 300.0% 증가되었다. 실험식이 투여기간이 경과할수록 엽산적정식이군의 뇨 엽산배설량이 증가되었다는 결과는 McMartin 등³²의 연구에서도 보고되었다. 엽산적

001)(Table 4). 10주간의 실험식이기간에서 엽산결핍식이군(FD)의 뇨 엽산배설량은 4주에 비해 10주에는 300.0% 증가되었다. 실험식이 투여기간이 경과할수록 엽산적정식이군의 뇨 엽산배설량이 증가되었다는 결과는 McMartin 등³²의 연구에서도 보고되었다. 엽산적

Table 4. Urinary and fecal folate levels of rats on experimental diets

Feeding period (weeks)	Group	Urine	Feces
		µg/d	µg/d
4	FD ¹⁾	2 ^{0.12 ± 0.02^{a3/b4)}}	1.53 ± 0.40 ^{ac}
	FA	2.86 ± 0.23 ^{bc}	1.76 ± 0.42 ^{ac}
	FS	13.90 ± 0.79 ^{ca}	1.65 ± 0.40 ^{ac}
7	FD	0.31 ± 0.04 ^{ab}	2.89 ± 0.67 ^{ac}
	FA	3.41 ± 0.32 ^{bb}	3.96 ± 0.80 ^{ab}
	FS	15.40 ± 0.90 ^{ca}	6.82 ± 0.53 ^{bb}
10	FD	0.48 ± 0.15 ^{ab}	1.97 ± 0.45 ^{ac}
	FA	4.03 ± 0.28 ^{ab}	2.42 ± 0.35 ^{ab}
	FS	27.54 ± 2.77 ^{bb}	5.27 ± 1.18 ^{bb}
Significant factor ⁵⁾		A, B, AB	A, B

- 1) FD : folate deficient diet
FA : folate adequate diet
FS : folate supplemented diet
- 2) Mean ± S.E.
- 3) Values with different alphabet in the same feeding period are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.
- 4) Values with different greek letters in the same diet group are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.
- 5) Statistical significance of A and B factor was calculated by two-way ANOVA.
A : Effect of folate content was significant at $p < 0.001$.
B : Effect of feeding period was significant at $p < 0.001$.
AB : Interaction of factor A & B was significant at $p < 0.001$.

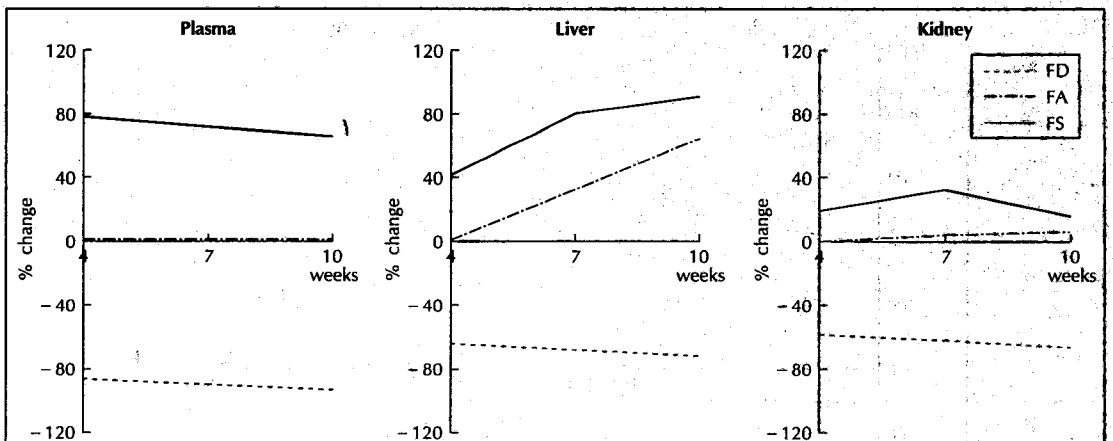


Fig. 1. Changes of plasma and tissue folate levels of animals on folate-deficient or-supplemented diet compared to those fed folate adequate diet*.
*Folate values on folate adequate diet at 4 week period were considered as baseline values.
FD : folate deficient diet FA : folate adequate diet FS : folate supplemented diet

정식이(FA)에 비해 엽산보충식이(FS)의 뇨 엽산함량은 4~6배 높았다.

변으로 배설된 엽산함량은 식이 엽산 함량에 의한 영향이 유의적으로($p < 0.001$) 나타나서 엽산보충식이군(FS)에서 더 많은 양의 엽산이 변으로 배설되었다. 또 실험식이 투여기간에 의한 영향도 있어서 엽산적정식이군(FA), 엽산보충식이군(FS)의 변 엽산함량은 실험식이 투여기간이 경과할수록 유의적으로($p < 0.001$) 증가되었다.

식이 엽산함량 변화에 따른 뇨와 변의 엽산배설량을 비교했을 때 서로 다른 경향이 나타났다. 엽산결핍식이군(FD)에서는 뇨에 비해 변으로 배설된 엽산량이 더 많았고 엽산식이 섭취량이 4배로 증가된 엽산보충식이군(FS)에서는 뇨로 배설된 양은 4~6배 증가되었으나 변으로 배설된 엽산량은 0~1.8배만 증가되었다. 4주 엽산적정식이군의 뇨와 변의 엽산배설량을 기준으로 하여 각 실험식이군에서 뇨, 변으로 배설되는 엽산함량을 Fig. 2에 제시하였다.

식이 엽산함량이 적을 때 뇨로 배설되는 엽산량이 감소하고 식이 엽산함량이 많을 때 뇨 엽산배설량이 크게 증가하는 것으로 보아 체내 엽산 항상성을 유지하기 위하여 뇨로 배설되는 엽산량이 조절된다고 생각된다. 엽산결핍식이군(FD)의 변 배설량은 엽산적정식이군(FA)의 변 배설량의 73~86.9%에 해당하는 양으로 식이에 엽산이 포함되지 않은 엽산결핍식이군(FD)에서도 상당량의 엽산이 변으로 배설되었는데 장에서 미생물균총에 의하여 엽산이 합성되기 때문에¹⁾ 엽산결핍상태에서도 소량이 변으로 배설되었다고 생각된다. 체내에서 이용될 수 있는 양보다 더 많은 양의 엽산을 공급

하였을 때 체내에서 이용되고 남은 양은 배설되는데 엽산은 수용성 비타민이기 때문에 주로 뇨를 통해 배설되므로 엽산보충식이군에서 변보다는 뇨를 통해 배설된 양이 더 많았다고 생각된다.

본 연구결과 2mg folate/kg diet를 공급한 엽산적정식이군보다는 8mg의 엽산을 공급한 엽산보충식이를 먹었을 때 실험동물의 혈장 엽산, 간과 신장의 엽산함량이 더 높게 나타나는 것으로 보아 엽산을 적정수준 이상으로 보충시켰을 때 체내 엽산영양상태가 향상되는 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 엽산보충효과가 단지 혈장과 조직의 엽산수준만을 향상시키는 것인지 아니면 엽산이 필요한 체내 기능도 향상시키는 것인지에 대해서는 앞으로 많은 연구가 이루어져야겠다.

요약 및 결론

엽산함량을 0mg, 2mg, 8mg/kg diet으로 달리하여 만든 식이를 평균체중이 146.4±0.1g인 흰쥐에게 공급하여 10주간 사육한 후 식이 엽산함량과 실험식이 투여기간이 혈장과 조직의 엽산함량, 엽산 배설량에 미치는 영향을 알아본 결과는 다음과 같았다.

실험동물의 식이섭취량과 체중증가량은 식이 엽산함량에 따라 유의적인 차이가 없었으며 간과 신장의 무게 모두 식이 엽산함량에 따른 차이가 없었다.

식이 엽산함량이 많을수록 혈장 엽산수준은 유의적으로 증가되었다($p < 0.001$). 엽산결핍식이군의 혈장 엽산수준은 실험식이 투여기간이 경과할수록 유의적으로 감소되는 경향을 보였으며 엽산적정식이와 보충식이군의 혈장 엽산수준은 실험식이 투여기간에 따라 달

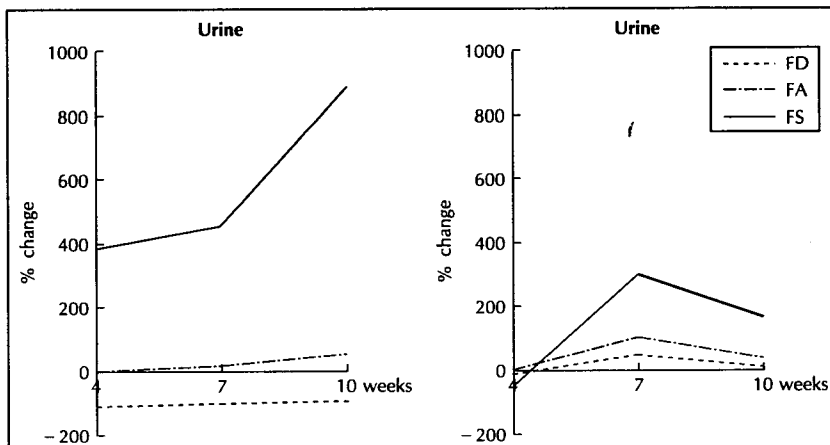


Fig. 2. Changes of folate excretion in the urine and feces of animals on folate-deficient or-supplemented diet compared to those fed folate adequate diet*.

*Folate values on folate adequate diet at 4 week period were considered as baseline values.

FD : folate deficient diet FA : folate adequate diet FS : folate supplemented diet

라지지 않았다.

간과 신장의 엽산수준은 식이 엽산함량이 많을수록 유의적인 증가하였다($p < 0.001$). 엽산적정식이군과 보충식이군의 신장 엽산수준은 실험식이 투여기간에 따라 크게 영향을 받지 않았으나 간의 엽산수준은 실험식이 투여기간이 길어질수록 조직의 엽산함량이 증가하였다. 혈장과 간의 엽산수준은 신장엽산수준보다 식이 엽산함량에 의해 영향을 더 많이 받았다.

노와 변의 엽산배설량은 식이 엽산함량과 실험식이 투여기간에 따라 유의적인 차이가 있었다($p < 0.001$). 식이엽산함량과 실험식이 투여기간이 경과할수록 노와 변의 엽산배설량이 증가되었다. 식이엽산수준에 따라 변보다는 뇨로 배설되는 엽산이 더욱 민감하게 반응하였다. 본 연구결과 엽산을 적정수준이상으로 보충시켰을 때 체내 엽산영양상태가 향상되었는데 이로 인해 엽산이 필요한 체내 기능도 향상되는지에 대한 연구가 이루어져야겠다.

Literature cited

- 1) Brody T, Shane B, Stokstad ELR. Folic acid. In : Machlin LJ, ed. Handbook of Vitamins : Nutritional, Biochemical, and Clinical Aspects, pp459-496, Dekker, 1984
- 2) Cossins EA. Foliates in biological materials. In : Blakley RL, Benkovic SJ, ed. Foliates and Pterins : Chemistry and Biochemistry of Foliates, pp1-60, John Wiley & Sons, New York, 1984
- 3) Herbert V, Das KC. Folic acid and Vitamin B₁₂. In : Shils ME, Olson JA, Shike M, ed. Modern Nutrition in Health and Disease, pp402-425, Lea & Febiger, Malvern, 1994
- 4) Selhub J, Rosenberg. Folic acid. In : Ziegler EE, Filer LJ, ed. Present Knowledge of Nutrition, pp206-219, ILSI press, 1996
- 5) Herbert V. Recommended dietary intakes(RDI) of folate in humans. *Am J Clin Nutr* 45 : 661-670, 1987
- 6) Zimmermann MB, Shane B. Supplemental folic acid. *Am J Clin Nutr* 58 : 127-128, 1993
- 7) Marsack CR, Alsop CL, Kurinczuk JJ, Bower C. Pre-pregnancy counselling for the primary prevention of birth defects : Rubella vaccination and folate intake. *Med J Australia* 162 : 403-406, 1995
- 8) Phull E, Hirst SL. Folic acid in pregnancy. *Br J General Pract* 45 : 688, 1995
- 9) Pietrzik K, Prinz R, Reusch K, Bung P, Mallmann P, Chronides A. Folate status and pregnancy outcome. *Ann NY Acad Sci* 669 : 371-373, 1992
- 10) Berwanger CS, Jeremy JY, Stansby G. Homocysteine and vascular disease. *Br J Surg* 82 : 726-731, 1995

- 11) Ubbink JB. Vitamin nutrition status and homocysteine : an atherogenic risk factor. *Nutr Rev* 52(11) : 383-393, 1994
- 12) Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, Hsieh CM, Haber E, Schlegel R, Lee MU. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine : A link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci* 91 : 6369-6373, 1994
- 13) Boers GHJ, Smals AGH, Trijbels FJM, Fowler B, Bakkeren JAJM, Schoonderwaldt HC, Kleijer WJ, Kloppenborg PWC. Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *N Engl J Med* 313(12) : 709-715, 1985
- 14) Aronson DC, Onkenhout W, Raben AMTJ, Oudenhoven LFIJ, Brommer EJP, van Bockel JH. Impaired homocysteine metabolism : A risk factor in young adults with atherosclerotic arterial occlusive disease of the leg. *Br J Surg* 81 : 1114-1118, 1994
- 15) Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, Miller JW, Sutherland P, Nadeau M, Seyoum E, Hartman W, Prior R, Wilson PWF, Selhub J. Hyperhomocysteinemia and traditional cardiovascular disease risk factors in end-stage renal disease patients on dialysis : A case-control study. *Atherosclerosis* 114 : 93-103, 1995
- 16) Brattstrom L, Israelsson B, Norrving B, Bergqvist D, Thorne J, Hultberg B, Hamfelt A. Impaired homocysteine metabolism in early-onset cerebral and peripheral occlusive arterial disease : Effects of pyridoxine and folic acid treatment. *Atherosclerosis* 81 : 51-60, 1990
- 17) Swain RA, Clair LS. The role of folic acid in deficiency states and prevention of disease. *J Fam Pract* 44(2) : 138-144, 1997
- 18) Lewis CA, Pancharuniti N, Sauberlich HE. Plasma folate adequacy as determined by homocysteine level. *Ann NY Acad Sci* 669 : 360-362, 1992
- 19) Pancharuniti N, Lewis CA, Sauberlich HE, Perkins LL, Go RCP, Alvarez JO, Macaluso M, Acton RT, Copeland RB, Cousins AL, Gore TB, Cornwell PE, Roseman JM. Plasma homocyst(e)ine, folate, vitamin B-12 concentrations and risk for early-onset coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 59 : 940-948, 1994
- 20) Ubbink JB, Vermaak WJH, Merwe A, Becker PJ. Vitamin B-12, Vitamin B-6, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr* 57 : 47-53, 1993
- 21) Malinow MR. Plasma homocyst(e)ine and arterial occlusive diseases : A mini-review. *Clin Chem* 41(1) : 173-176, 1994
- 22) McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nature Medicine* 2(4) : 386-389, 1996
- 23) Clifford AJ, Heid MK, Muller HG, Bills ND. Tissue distribution and prediction of total body folate of rats. *J Nutr* 120 : 1633-1639, 1990
- 24) Eisenga BH, Collins TD, McMartin KE. Incorporation of

- ³H-label from folic acid is tissue-dependent in folate-deficient rats. *J Nutr* 122 : 977-985, 1992
- 25) Varella-Moreiras G, Selhub J. Long-term folate deficiency alters folate content and distribution differentially in rat tissues. *J Nutr* 122 : 986-991, 1992
- 26) Kim YI, Miller JW, Costa K, Nadeau M, Smith D, Selhub J, Zeisel SH, Mason JB. Severe folate deficiency causes secondary depletion of choline and phosphocholine in rat liver. *J Nutr* 124 : 2197-2203, 1994
- 27) Report of the American Institute of Nutrition. Ad Hoc committee on standard for nutritional studies. *J Nutr* 107 : 1340-1348, 1977
- 28) Buehring KU, Tamura T, Stockstad ELR. Folate coenzymes of *Lactobacillus casei* and *Streptococcus faecalis*. *J Biol Chem* 249 : 1081-1089, 1974
- 29) Baugh CM, Krumdieck CL. Effects of phenytoin on folic acid conjugase in man. *Lancet* 11 : 519-521, 1969
- 30) Lin JY, Kang SS, Zhou J, Wong PW. Homocysteinemia in rats induced by folic acid deficiency. *Life Sciences* 44(5) : 319-325, 1989
- 31) Friedrich W. Folic acid and unconjugated pteridines. In : Friedrich W, ed. *Vitamins*, pp619-752, Walter de Gruyter, Berlin · New York, 1988
- 32) McMartin KE, Collins TD, Eisenga BH, Fortney T, Bates WR, Bairnsfather L. 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