

쥐에서 뇌발달 과정중에 식이에 첨가한 DHA와 AA가 뇌조직의 지방산조성과 DNA 함량에 미치는 영향*

박현서 · 박기호 · 최주선**

경희대학교 생활과학대학 식품영양학과

Effect of Dietary Supplementation of DHA and AA on the Incorporation of Long Chain Fatty Acid and DNA Content in the Developing Brain of Rats

Park, Hyun-Suh · Park, Ki-Ho · Choi, Joo-Sun**

Department of Foods and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

ABSTRACT

The aim of this study was to observe whether the dietary supplementation of docosahexaenoic acid(DHA). In growing rats requires extra supplementation of arachidonic acid(AA) for brain development. Sprague-Dawley rats were divided into three groups, each fed a different diet. In the FO group, dams were fed a DHA-rich FO diet during pregnancy and lactation and pups were fed the same diet until 10 weeks old. In the AO group dams and pups were similarly fed a DHA-and TA-rich diet, while in the FO-W group dams were fed a chow diet during pregnancy and lactation but pups were fed a FO diet after weaning. DHA and AA were most effectively deposited in the developing brain during pregnancy and lactation in rats. However, FO-W pups showed significantly lower level of DHA at 0 - 3 weeks compared with the FO and AO groups and then slowly increased DHA levels to about 87% of other groups at 10 weeks with the introduction of the FO diet after weaning. The total amount of DNA in whole brain rapidly reached a maximum level at 3 weeks and then was sustained at a constant level after 5 weeks of age. The DNA content was positively correlated with DHA level but not with AA level in the developing brain. DNA content was significantly lower in the FO-W group compared to the FO and AO groups at 3 weeks of age. However, the DNA content of brain in FO-W pups increased to 80% of the FO group level at 10 weeks after feeding the FO diet after weaning. The relative percentage of AA in brain lipids was significantly reduced in the early stage of brain development when only DHA was supplemented. However, DHA supplementation had no significant effect on the incorporation of AA when the approximately 35% of LA in the FO diet was substituted by preformed AA. These results suggest that large quantities of DHA could interfere with the normal conversion of LA to AA if LA is not supplemented enough together with DHA. Therefore, high DHA supplementation may require preformed AA in the diet even though AA has no significant correlation with the DNA content in brain. DHA supplementation after weaning also improved the incorporation of DHA into brain and content of DNA even though brain development was almost completed, suggesting that a low level of DHA supplementation without AA addition might be necessary to improve brain development during infancy as well as during pregnancy and lactation. (Korean J Nutrition 32(5) : 526~532, 1999)

KEY WORDS: docosahexaenoic acid (DHA)-rich oil, arachidonic acid (AA)-rich oil, brain DNA, brain development.

서 론

Docosahexaenoic acid(DHA, C22 : 6)는 세포막 구성 성분인 인지질에 주로 존재하면서 막유동성을 조절하는 인자로 작용할 뿐만 아니라 뇌의 성장과 발달 및 정상적인 기

채택일 : 1999년 7월 5일

*This work was supported by a grant from the Korea Research Foundation (1997).

**Choi JS was supported by a grant from the post-doctoral fellowship program of the Korea Research Foundation (1997).

능유지에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.^{1,3)} 사람의 뇌세포 분화는 출생전 약 70% 정도 이루어지고, 뇌 조직에 DHA 축적은 출생 전에 50% 정도 이루어지며 생후 18개월까지 계속 축적되는 것으로 알려져 있다. 그러나 사람과는 다르게 쥐의 경우 출생 후부터 약 20일 이내에 뇌의 완전한 발육이 이루어지며, 이 시기에 DHA가 주로 축적된다고 보고되었다.^{4,5)} 그러므로 초기 뇌발육과정에서 DHA가 결핍되면 뇌의 정상적인 발육과 기능에 치명적인 영향을 미쳐서 영구적인 뇌손상을 유발할 수 있다.⁴⁾

태아와 영아에서 DHA 공급은 모체가 섭취하는 식이의

영향을 받을 뿐 아니라 α -linolenic acid(α -LNA)로부터 elongation 되고 desaturation 되어 체내에서 합성이 가능하므로 이때 전환율이 얼마나 효율적으로 이루어지는가에 따라 영향을 받으며,^{6,8)} 이 전환율은 매우 낮기때문에 뇌발달이 이루어지는 동안 직접적인 DHA의 공급은 α -LNA에 비해 약 30배, eicosapentaenoic acid(20 : 5, EPA) 보다는 10배 정도 더 효과적이며, α -LNA가 산모 식이내에 많이 함유되어 있더라도 모유내의 DHA 함량에 큰 영향을 미치지 못하므로 DHA를 직접 식이로 섭취해야 더욱 유용하게 이용될 것이라고 하였다.⁴⁾⁹⁾¹⁰⁾

그러나 n-3계열의 DHA를 다량으로 공급하면 이 지방산과 경쟁관계에 있는 n-6계열의 LA 대사과정에 영향을 미쳐서 뇌조직에 다량으로 존재하는 AA 함량에 영향을 미칠 것으로 사려된다. 그러므로 본 연구에서는 쥐에서 뇌발달이 왕성하게 일어나는 임신기부터 DHA가 다량 함유된 어유를 첨가한 실험식이(FO 식이)와 DHA와 AA가 첨가된 기름(FO 식이중 LA의 일부를 AA로 대체)을 이용한 실험식을 먹여 뇌발달의 지표로 DNA 함량과 뇌조직에 축적된 DHA와 AA 함량을 비교하였으며, 뇌발달이 완료된 이후인 이유기에도 FO 식이를 먹었을때 같은 효과가 있는지를 관찰하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험계획

8주된 Sprague-Dawley 중 암컷 쥐 36마리와 수컷 쥐 18마리를 체중(200~250g)에 따라 난괴법을 이용하여 암컷 2마리에 수컷 1마리 비율로 3군으로 나누어 교배시키며 이와 동시에 Fig. 1과 같이 두군은 임신기부터 FO 또는 AO 실험식을 공급하였으며, 또 한군은 새끼가 이유한 후

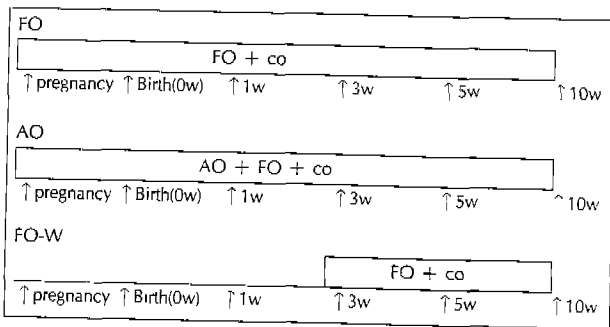


Fig. 1. Experimental design. FO: Dams fed DHA-rich FO diet during pregnancy and lactation, and then its pups fed the same diet until 10 weeks old. AO: Dams fed AA-rich FO diet during pregnancy and lactation, and then its pups fed the same diet until 10 weeks old. FO-W: Dams fed chow diet during pregnancy and lactation, and then its pups fed DHA-rich FO diet after weaning until 10 weeks old. \uparrow : sampling.

부터 새끼에게 FO 식이를 먹였다. 각 cage 마다 새끼수는 어미 1마리당 7마리가 되도록 조정하여 주었으며, 모든 군에서 새끼취의 뇌조직은 출생 직후(0주), 1주, 3주, 5주, 10주째에 채취하여 -70°C 의 냉동고에 보관하였다가 뇌조직의 지방산조성과 DNA 함량을 분석하였다.

2. 실험식이

실험식은 Table 1에서와 같이 식이무게중 탄수화물은 59.5%, 단백질은 20.5%, 지질은 10% 수준이 되도록 구성하였다. 식이지방으로 DHA가 풍부한 fish oil을 뇌발달이 왕성하게 이루어지는 임신기부터 어미에게 섭취시킨 군을 FO군이라 하였으며, 새끼가 뇌발달이 완료되는 생후 3주에 이유한 직후부터 직접 FO 식이를 먹은 군을 FO-W군이라 하였고, fish oil에 AA가 풍부한 AA-rich oil을 첨가시킨 AO 식이를 임신기부터 섭취시킨 군을 AO군이라고 하였다. 실험식의 DHA 함량은 FO 식이에는 1.94g%(총열량의 4.24%)이며, AO 식이는 1.74g%(총열량의 3.82%)이며, AA 함량은 0.67g%(총열량의 1.47%)로 구성되었다(Table 2).

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredients(g)	g / 100g diet	
	FO diet	AO diet
Corn starch	59.5	59.5
Casein	20.5	20.5
DL-methionine	0.3	0.3
Fat		
Corn oil	3.0	0.7
Fish oil	7.0	6.3
Arachidonate-rich oil	-	3.0
Mineral mixture ¹⁾	4.0	4.0
Vitamin mixture ²⁾	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2
α -cellulose	4.5	4.5
Total	100.0	100.0

- 1) AIN-76 mineral mixture
- 2) AIN-76 vitamin mixture

Table 2. Main fatty acid composition of experimental diet

Diet	Fat sources	g / 100g diet			
		LA	LNA	AA	DHA
FO diet	fo 7.0g	1.75	0.18	-	1.94
	co 3.0g				
AO diet	fo 6.3	1.17	0.22	0.67	1.74
	ao 3.0				

fo: DHA-rich fish oil, ao: AA-rich oil, co: corn oil, LA: linoleic acid, LNA: linolenic acid, AA: arachidonic acid, DHA: docosahexaenoic acid

3. 생화학적 분석

뇌조직은 0주, 1주, 3주, 5주, 10주 때에 두개골을 절개하고 뇌 전체를 적출하였으며, 뇌조직 100mg을 취하여 지방산조성을 Lepage와 Roy의 one-step methylation 방법에¹¹⁾ 따라 분석하였다. Internal standard(tridecanoic acid, 50~300 μ g)를 2ml의 methanol: benzene(4:1)에 녹인 후 sample에 첨가한다. 각각의 tube에 200 μ l의 acetyl chloride를 천천히 첨가한 다음 teflon으로 뚜껑을 단단히 막고 100 $^{\circ}$ C에서 1시간 방치하여 methylation 시킨다. Tube를 냉각시킨 후 5ml의 K₂CO₃(6%)용액을 첨가하여 잘 섞은 다음 원심분리하였다. 상층액인 benzene층을 취해 gas chromatography(Hewlett Packard Co. Model 5890II)를 이용하여 지방산조성을 측정하여 표준지방산과 비교하여 정량하였다.

뇌조직의 DNA 함량은 뇌조직을 0.9% NaCl을 이용하여 20% 균질용액을 만든 다음 Burton¹²⁾ 및 Giles와 Meyer의 방법¹³⁾에 의해 DNA를 정량하였다. 20% 균질용액 1ml에 10% Trichloroacetic acid(TCA)용액 1ml 가하여 잘 섞고 원심분리(3000rpm, 10min)한 후 상층액은 제거하고 침전물에 10% TCA 2.5ml 가하여 잘 섞어 원심분리(3000rpm, 15min)한다. 침전물에 absolute ethanol 5ml을 섞은 후 다시 원심분리(3000rpm, 10min)하여 침전물을 5% TCA로 씻어낸다. 5% TCA 2.5ml을 가하여 섞은 후 90 $^{\circ}$ C water bath에서 10분동안 가열하여 냉각한 다음 원심분리하여 상층액을 취하여 DNA 정량에 이용한다. 상층액 1ml를 취하여 5% TCA 1ml, 1% DPA(농황산 2.5ml를 첨가한 glacial acetic acid에 1g diphenylamine를 용해시킴)용액 2ml와 acetaldehyde(1.6mg acetaldehyde/ml H₂O)용액 0.1ml을 첨가한 다음 30 $^{\circ}$ C water bath에서 16~18시간 방치한 후 spectrophotometer를 이용하여 600nm에서 흡광도를 측정하여 표준용액(calfthymus DNA)과 비교하여 DNA 함량을 측정하였다.

4. 통계처리

모든 실험결과의 통계처리는 statistic analysis system(SAS) 프로그램을 이용하였으며, 결과는 평균(mean)과 표준오차(standard error, SE)로 표시하였다. 식이중 DHA 또는 AA의 첨가와 첨가시기에 따라 뇌조직의 AA, DHA 분포와 DNA 함량에 미치는 영향을 알아보기 위해서 $p < 0.05$ 수준에서 general linear model(GLM)과 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였으며, pearson correlation test를 하여 data간의 상관관계를 살펴보았다.

결 과

실험 전기간에 걸쳐서 각군의 체중은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 뇌무게는 출생 직후부터 생후 3주까지 급격히 증가하였고 3주 이후부터는 일정수준으로 유지되었으며, 뇌의 무게는 군간에 차이가 없었다.

1. 뇌조직의 Linoleic acid 분포량

뇌조직의 총지방산 중 LA함량(Table 3)은 각군에서 출생시에 0.9~1.3% 범위내에 있었으며 1, 3, 5주 때에는 약 1.1~1.6% 이었고 10주 때는 1% 이하의 수준을 유지하였다. 뇌조직내의 LA의 수준은 FO군이 출생 직후부터 10주까지 전기간에서 다른 두군과 유의적인 차이없이 비슷한 수준을 유지하였다.

2. 뇌조직의 Arachidonic acid 분포량

뇌조직의 총지방산 중 0주때 AA 함량(Table 3)은 FO군(10.4%)은 FO-W군(11.6%)에 비해 유의하게 낮았으며, FO군에 비해 AO군(10.9%)에서 더 높았으나 유의적인 차이가 없었다. 1주 때에도 FO군의 AA수준(10.6%)은 FO-W군(13.4%)과 AO군(12.9%)에 비해 유의적으로 낮았으며, AO군과 FO-W군은 차이가 없었다. 3주 때는 FO군(11.3%)과 FO-W군(12.0%)군이 AO군(13.3%) 보다 유의적으로 낮았다. 그러나 5주와 10주 때에는 AA 함량은 군간에 유의적인 차이없이 비슷한 수준으로 유지되었다.

3. 뇌조직의 Docosahexaenoic acid 분포량

FO군은 출생 직후 0주때 뇌조직의 DHA 수준은(Table 3) 13.7%로서 다른 두군에 비해 유의적으로 높았으며, FO-W군과 AO군 간에는 차이가 없었다. 1주 때에는 FO군의 DHA 수준이 14.0%로서 FO-W군(11.3%)에 비해 유의적으로 높았으나 AO군(13.9%)과는 차이가 없었으며, AO군은 FO-W군에 비하여 유의성있게 높았다. 3주 때에도 FO군의 DHA 수준이 17.2%로서 FO-W(12.4%)군에 비해 유의적으로 높았으나 AO군(13.9%)과는 차이가 없었으며, AO군과 FO-W군간에도 유의적인 차이가 없었다. 그러나 5주와 10주 때에는 DHA 함량은 군간에 유의적인 차이없이 비슷한 수준으로 계속 유지되었다.

4. 뇌조직의 DNA 함량

뇌조직의 DNA 함량은 0주 때에는 군간에 차이가 없었으나 1주 때에는 FO군이 다른 두군에 비해 유의성있게 높았다(Table 4). 3주 때와 5주 때에는 FO군은 AO군과는 차

Table 3. The relative % of fatty acid composition in brain lipid of rats fed DHA-rich fish oil or AO diet at different age

Fatty acids	0 week			1 week			3 week			5 week			10 week		
	FO	AO	FO-W	FO	AO	FO-W	FO	AO	FO-W	FO	AO	FO-W	FO	AO	FO-W
	C14 : 0	1.89±0.07 ¹	2.26±0.18 ¹	1.96±0.19 ¹	2.16±0.25 ¹	2.15±0.15 ¹	2.07±0.16 ¹	0.54±0.02 ²	0.59±0.07 ²	0.58±0.08 ²	0.29±0.02 ²	0.32±0.04 ²³	0.29±0.01 ²³	0.26±0.01 ²	0.23±0.02 ²
C16 : 0	29.93±0.34 ¹	31.42±0.80 ¹	30.96±0.38 ¹	30.00±0.29 ¹	30.71±0.23 ¹	31.33±0.31 ¹	24.96±0.27 ²²	25.24±0.26 ²²	25.29±1.05 ²²	23.15±0.50 ²	23.34±1.00 ²	24.65±0.72 ²	22.58±0.43 ²	23.09±0.90 ²	21.85±0.58 ¹
C16 : 1	3.30±0.35 ¹	4.08±0.29 ¹	3.47±0.33 ¹	2.69±0.13 ²	2.72±0.20 ²	2.72±0.24 ²	0.71±0.02 ²³	0.71±0.05 ²³	0.64±0.06 ²³	0.54±0.05 ²	0.52±0.03 ²	0.51±0.04 ¹	0.65±0.02 ²	0.65±0.04 ¹	0.52±0.07 ¹
C18 : 0	18.15±0.28 ¹	18.35±0.47 ¹	17.95±0.46 ¹	18.89±0.22 ¹	18.72±0.32 ¹	19.17±0.36 ¹	23.88±0.16 ¹	23.48±0.27 ¹	23.96±0.88 ¹	24.19±0.51 ¹	25.78±1.05 ¹	25.73±0.66 ¹	24.04±0.12 ¹	25.08±0.87 ²	24.27±0.43 ¹
C18 : 1	15.22±0.18 ¹	14.34±1.84 ¹	15.21±0.64 ¹	13.94±0.41 ²	12.49±0.27 ²	12.52±0.26 ²	13.95±0.29 ²²	14.02±0.49 ²³	15.70±0.45 ²³	17.24±0.89 ²	16.63±0.55 ²²	17.12±0.38 ²	17.87±0.42 ¹	18.91±0.63 ¹	19.57±0.61 ¹
C18 : 2	1.27±0.09 ¹	0.77±0.08 ¹	0.99±0.05 ¹	1.64±0.21 ¹	0.63±0.04 ¹	1.31±0.07 ¹	1.34±0.03 ²¹	0.53±0.04 ²³	1.38±0.09 ²¹	1.32±0.28 ¹	0.63±0.15 ¹	1.05±0.04 ²	0.71±0.03 ²²	0.35±0.01 ²²	0.64±0.02 ²³
C20 : 0	0.22±0.01 ²	0.18±0.03 ¹	0.22±0.01 ²	0.22±0.02 ²	0.17±0.01 ¹	0.22±0.01 ²	0.31±0.02 ²	0.29±0.02 ²	0.35±0.02 ²	0.44±0.07 ¹	0.39±0.06 ¹²	0.42±0.02 ²	0.42±0.03 ¹	0.49±0.02 ¹	0.49±0.03 ¹
C20 : 1	0.33±0.03	0.45±0.12 ²²	0.50±0.19 ²²	0.82±0.29 ¹	0.31±0.07 ²²	0.25±0.05 ²²	0.34±0.05	0.56±0.18 ²²	0.67±0.14 ¹	0.58±0.15	0.53±0.06 ²²	0.68±0.08 ¹	0.69±0.07	0.71±0.11 ¹	0.74±0.10 ¹
C18 : 4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.07±0.00 ¹	0.05±0.00 ¹	0.11±0.00 ¹
C22 : 0	0.64±0.03 ¹	0.37±0.02 ¹	0.49±0.03 ¹	0.80±0.06 ²²	0.43±0.01 ¹	0.57±0.02 ²²	1.14±0.02 ¹	0.55±0.02 ²²	0.92±0.03 ¹	1.06±0.10 ¹	0.75±0.04 ¹	0.88±0.04 ¹	0.85±0.05 ²²	0.82±0.04 ¹	0.99±0.06 ¹
C20 : 2	0.19±0.02	ND	0.20±0.01 ²	0.23±0.02 ²	0.15±0.01 ¹	0.27±0.06 ¹	0.26±0.01 ²²	0.14±0.01 ¹	0.30±0.02 ¹	0.38±0.17 ¹	0.14±0.00	0.22±0.00	0.17±0.01 ¹	0.14±0.01	0.20±0.02
C20 : 4	10.37±0.17 ²³	10.86±0.51 ²²	11.58±0.32 ²²	10.61±0.29 ²²	12.93±0.25 ¹	13.37±0.31 ¹	11.33±0.12 ¹	13.29±0.36 ²¹	12.01±0.55 ²¹	9.63±0.37 ¹	11.10±0.66 ²	9.91±0.41 ¹	10.10±0.25 ¹	9.81±0.50 ¹	9.94±0.45 ¹
C20 : 5	0.38±0.04 ¹	0.24±0.04 ¹	0.06±0.01 ¹	0.35±0.15	0.10±0.02	ND	0.12±0.01	ND	ND	0.27±0.05	ND	ND	0.15±0.01	0.09±0.00	0.11±0.03
C22 : 4	2.01±0.09 ¹	2.57±0.14 ¹	2.93±0.11 ¹	1.81±0.05 ¹	2.61±0.11 ¹	2.95±0.09 ²³	2.10±0.04 ²³	3.36±0.11 ²²	3.39±0.19 ²²	2.54±0.16 ²²	3.48±0.19 ²²	3.01±0.12 ²²	3.20±0.15 ²¹	3.88±0.20 ²¹	3.78±0.15 ²¹
C24 : 0	0.09±0.04 ¹	ND	ND	0.28±0.00 ²²	0.15±0.02 ¹	ND	0.48±0.06 ²²	0.41±0.05 ²	0.53±0.07 ²	0.73±0.18 ¹	0.83±0.09 ¹	0.69±0.05 ¹	0.72±0.10 ²¹	1.03±0.04 ²¹	1.10±0.13 ²¹
C24 : 1	1.45±0.19 ¹	1.92±0.26 ¹	2.28±0.08 ¹	1.24±0.12 ¹	1.25±0.03 ²²	1.55±0.05 ²²	1.08±0.13	1.01±0.05 ²	1.11±0.06 ²²	1.41±0.73	0.60±0.03 ²	0.69±0.06 ¹	0.68±0.02 ²	0.54±0.04 ²¹	0.68±0.01 ²¹
C22 : 5	0.81±0.03 ¹	0.63±0.15 ¹	0.41±0.05 ¹	0.62±0.04 ²²	0.55±0.04 ²²	0.33±0.02 ²²	0.53±0.02 ²³	0.39±0.03 ²²	0.29±0.03 ²²	0.51±0.03 ¹	0.37±0.06 ²	0.41±0.05 ²²	0.57±0.02 ²²	0.51±0.08 ²²	0.54±0.04 ¹
C22 : 6	13.67±0.11 ²²	11.52±1.09 ²²	10.46±0.44 ²²	14.04±0.43 ²²	13.88±0.20 ²²	11.26±0.36 ²²	17.20±0.38 ²¹	15.53±0.36 ²¹	12.41±1.09 ²²	16.65±0.59 ¹	14.96±1.58 ²²	14.27±0.98 ²²	16.35±0.29 ¹	13.69±1.51 ²²	14.33±0.87 ¹
SFA	51.06±0.57	52.71±1.22	51.99±0.93	52.30±0.37	52.42±0.34	53.49±0.69	51.25±0.28	50.56±0.22	52.19±1.61	49.75±0.66	51.43±2.06	52.72±1.34	48.89±0.37	50.85±1.76	48.98±0.91
MUFA	20.30±0.39	20.79±1.66	21.45±0.99	18.69±0.58 ¹	16.79±0.36 ¹	17.04±0.29 ¹	16.04±0.35	16.30±0.67	18.13±0.56	19.49±1.06	18.06±0.50	18.90±0.36	19.90±0.62	20.80±0.64	21.50±0.58
PUFA	28.64±0.41	26.50±1.72	26.56±0.83	29.01±0.61	30.79±0.38	29.47±0.56	32.71±0.44 ¹	33.14±0.51 ¹	29.68±1.72 ¹	30.76±0.63	30.51±2.41	28.38±1.54	31.22±0.36	28.35±2.19	29.52±1.28
n-3	14.86±0.17 ¹	12.31±1.24 ¹	10.89±0.43 ¹	14.86±0.41 ¹	14.50±0.22 ¹	11.59±0.37 ¹	17.76±0.40 ¹	15.92±0.34 ¹	12.70±1.12 ¹	17.16±0.62	15.29±1.63	14.39±1.01	17.06±0.27 ²¹	14.23±1.58 ¹	15.03±0.99 ¹
n-6	13.65±0.32 ¹	14.19±0.68 ¹	15.50±0.45 ¹	14.05±0.25 ¹	16.17±0.31 ¹	17.64±0.35 ¹	14.77±0.11 ¹	17.18±0.42 ¹	16.77±0.65 ¹	13.49±0.25	15.20±0.85	13.96±0.53	14.01±0.17	14.05±0.68	14.35±0.46
n-3 / n-6	1.09±0.03 ¹	0.86±0.07 ¹	0.70±0.02 ¹	1.06±0.03 ¹	0.90±0.02 ¹	0.66±0.02 ¹	1.20±0.03 ¹	0.93±0.03 ¹	0.75±0.04 ¹	1.28±0.06 ¹	0.98±0.09 ¹	1.02±0.04 ¹	1.22±0.02 ¹	1.00±0.09 ¹	1.04±0.04 ¹

Value are Mean ± SE, n = 7
 Means with the different alphabets are significantly different between groups at p < 0.05
 Means with the different number are significantly different within each group at p < 0.05

이가 없었으나 FO-W군에 비하여 유의성있게 높았으며, 10주 때에는 군간에 유의적인 차이가 없었다.

뇌조직의 DNA 함량은 세군 모두에서 3주까지는 급격히

Table 4. DNA contents of whole brain in rats fed DHA rich diet with or without AA at different age

Groups	FO	AO	FO-W
	mg / whole brain		
0 week	0.59 ± 0.02 ²	0.57 ± 0.02 ²	0.62 ± 0.02 ³
1 week	1.36 ± 0.13 ^{a,2}	0.93 ± 0.05 ^{b,2}	0.77 ± 0.02 ^{b,3}
3 week	3.35 ± 0.38 ^{a,1}	3.10 ± 0.46 ^{a,1}	2.10 ± 0.24 ^{b,2}
5 week	4.15 ± 0.27 ^{a,1}	4.44 ± 0.16 ^{a,1}	2.40 ± 0.44 ^{b,1,2}
10 week	4.12 ± 0.80 ¹	4.09 ± 0.08 ¹	3.28 ± 0.46 ¹

Values are Mean ± SE, n = 7

Means with the different alphabets are significantly different between groups at p < 0.05

Means with the different number are significantly different within each group at p < 0.05

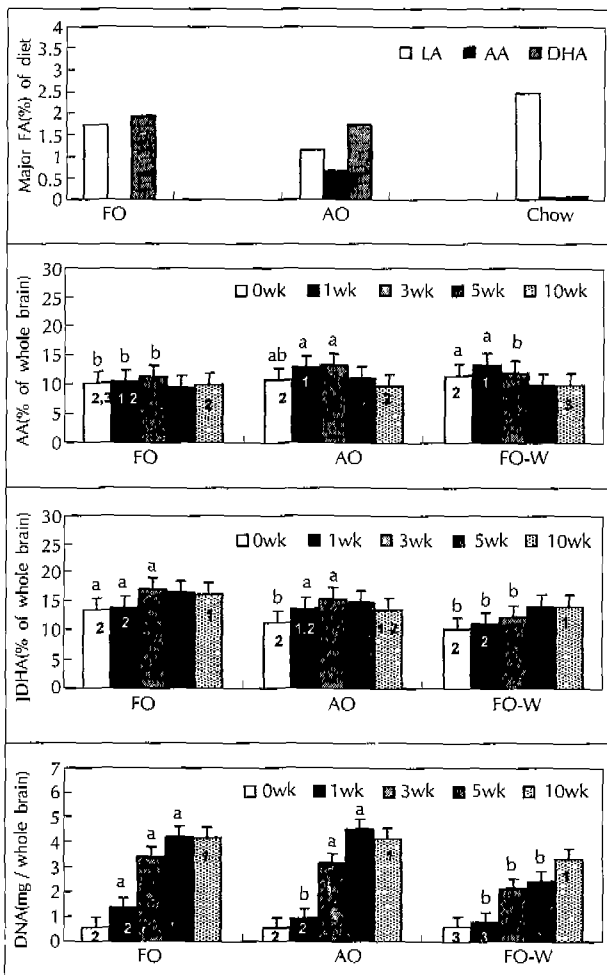


Fig. 2. The relative % of arachidonic acid(AA) and docosahexaenoic acid(DHA) and the level of DNA were compared during the stage of brain development. Bars with different alphabet were significantly different at p < 0.05 between groups at the same age. Bars with different numbers were significantly different within each group at p < 0.05.

증가하였으며, FO와 AO군에서는 3주 이후부터 DNA 증가율이 둔화되어 서서히 증가하다가 5주부터는 일정수준을 유지하였다. 그러나 FO-W군은 3주 이후에도 FO 식이를 먹기시작한 후에 DNA 함량이 계속적으로 증가되어 10주 때에는 다른 두군과 비슷한 수준으로 회복되었다.

고 찰

뇌조직에 존재하는 지방산 중 1/3 이상이 polyunsaturated fatty acid(PUFA)로 구성되어 있으며, DHA와 AA의 함량이 매우 높다.¹⁴⁾ 쥐에서 뇌조직내 DHA와 AA의 축적은 임신기부터 수유기동안 대부분 일어나는데, 이들 지방산은 초기 뇌발달과정 중 조직의 기능과 막구조를 형성하는데 필수적으로 요구되며 이 지방산이 결핍되었을때 시각장애, 중추신경계의 발달지해, 학습능력 감소 등을 유발할 수 있다고 보고되었다.^{15),16)}

본 연구에서는 DHA가 다량 함유된 FO와 AO 식이를 임신기때부터 섭취시켰을때 뇌조직의 DHA 함량은 계속 증가하여 생후 3주에 최고수준에 도달하였다(Fig. 2). 그러나 임신기와 수유기동안 DHA가 거의 없는 고품사료를 먹었던 어미의 새끼는(FO-W군) 뇌조직의 DHA 함량이 다른 군에 비하여 유의적으로 낮았으나 이유 후 FO 식이를 먹은 후에는 뇌조직의 DHA 유입이 천천히 지속적으로 증가되었다. 그러나 DHA 수준이 향상되기는 하였으나 임신기때부터 DHA를 먹은군의 약 83~88% 수준에 머무렀다. 따라서 쥐에서는 뇌발달이 가장 왕성하게 일어나는 출생 후 3주내에 DHA를 투여하는 것이 가장 효과적이라고 사려된다. 그러나 뇌발달이 거의 완료된 이후에도 DHA를 첨가한다면 뇌발달이 왕성한 시기에 DHA를 첨가한 경우 보다는 완전하지는 않으나 뇌조직으로 DHA가 계속 유입되어 축적되므로 뇌조직 내의 DHA 수준을 개선시킬 수 있음을 알 수 있었다. 이같은 결과는 뇌조직내 DHA 유입은 성장기동안에 주로 이루어지며, 뇌발달 완료후에는 blood-brain barrier에 의하여 엄격하게 조절되고 있으나 특정 효소 등에 의하여 DHA 운반이 가능하다는 최근의 보고¹⁷⁾와도 일치하였다. 또한 식이에 다량 첨가된 AA에 의해서 뇌조직에 DHA 유입은 방해받지 않았다고 하였는데,¹⁷⁾ 본 연구에서도 DHA는 식이무게의 1.74%, AA는 0.67% 수준으로 공급하였는데 뇌조직내의 DHA 축적은 높은 수준으로 유지되었으며 식이에 함유된 AA에 의해서 영향을 받지 않았다고 사려된다.

뇌조직에 축적된 AA 함량도 뇌발달이 왕성하게 일어나는 생후 0~3주 사이에 축적이 가장 높았다. 본 연구에서는 두뇌발달이 일어나고 있을때 식이에 다량 첨가한 DHA는

LA가 AA로 대사되는 과정에 영향을 줄지도 모른다는 점에서 뇌조직에 축적된 AA 함량을 비교하여 보면 임신기(0주) 부터 FO 식이를 먹은 군의 뇌조직에 축적된 AA 함량은 임신기, 수유기 동안 LA가 충분히 함유된 고행사료를 먹은 군(FO-W)에 비하면 유의하게 더 낮았으며, AO 식이를 먹은 군에 비해서 출생시에는 유의하게 낮은 것은 아니었으나 출생후 1주 때는 FO군은 다른 두군에 비해 유의하게 더 낮았으며, 3주 때는 AO군이 다른 두 군보다 유의하게 더 높았다. 또한 AO군과 FO-W군은 유의한 차이를 보이지 않았으며, preformed 된 AA를 식이에 첨가한 경우에 뇌조직에 가장 많이 축적되었으나 5주와 10주 때는 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다.

보고된 바¹⁸⁻²⁰⁾에 의하면 식이중 LA가 1.0%kcal 이상이면 AA의 수준을 일정하게 유지할 뿐만 아니라 AA의 결핍을 예방할 수 있다고 하였다. 그러나 본 연구결과에 의하면 DHA만 다량으로 첨가된 FO 식이를 먹었을때 LA가 열량의 4.15% 수준으로 충분히 함유되어 있었는데도 뇌발달이 왕성하게 일어나는 시기인 생후 0~3주 사이에 뇌조직에 축적된 AA 함량이 유의하게 영향을 받았다. 그러나 FO 식이중 LA의 약 35~38% 정도를 preformed AA로 대체해서 첨가하였을 때는 DHA 첨가에 의해서 AA 축적이 영향을 받지 않았다. 이것은 아마 LA 대사가 DHA에 의해서 방해받아 적게 생성되는 AA를 식이로 그만큼 보충해 준 결과라고 사려된다. 그러므로 LA가 충분하지 않은 상태에서 다량의 DHA를 첨가한다면 이때는 LA 대사과정에 영향을 미칠지도 모른다고 사려된다. 본 연구에서는 다량의 LA가 첨가된 상태에서 DHA를 첨가해 보지는 않아 정량적으로 비교하기는 어려웠으나 이런 경우에도 과연 DHA 첨가에 의해서 LA 대사가 방해받을 것인지는 흥미로운 것이라고 사려된다. 그러나 본 연구에서 뇌조직에 축적된 AA 분포량은 다량의 DHA가 첨가되었을 때는 더 적은 양의 AA가 생성되었다고 하나 이 AA 함량과 뇌조직의 DNA 함량과는 상관관계를 보이지 않았으며, 오히려 DNA 함량은 DHA 분포량과 유의한 높은 상관관계를 보였다(Fig. 2). 그러므로 LA가 충분히 존재하는 상태에서는 어느 정도의 DHA를 첨가하는 것은 DHA 축적을 율동 향상시킬 뿐 아니라 AA 생성에도 유의한 영향을 미치지 않을 것이라고 사려된다.

출생후 3주까지는 두뇌발달이 계속되므로 뇌조직으로 DHA와 AA 유입이 활발하게 일어나고 있어 뇌조직의 DHA/AA의 비율은 FO군이 다른 두군에 비하여 유의하게 더 높았다. 이때 AO군에서는 식이에 첨가한 AA가 같이 뇌조직으로 유입되므로 FO군에 비해 이 DHA/AA 비율이 낮았으며, FO-W군에서는 이유전까지는 세포내의 AA

는 높았고 DHA의 함량이 낮았으므로 DHA/AA의 비율이 FO군에 비하여 유의성있게 낮은 수준으로 유지되었으나 이유후 FO 식이 섭취후에는 DHA가 더욱 뇌세포로 유입이 회복됨에 따라 이 지방산의 비율이 꾸준히 증가되어 10주 쯤에는 군간에 차이없이 유사한 수준을 유지하였다. 그러므로 식이내에 preformed된 형태의 DHA와 AA의 함량이 매우 높게 존재한다면 상호간의 저해작용이 이루어진 다 하더라도 필요한 양은 효율적으로 뇌로 유입될 수 있을 것으로 생각된다.

신체의 조직이나 기관의 발달을 세포의 크기 또는 세포의 수로써 표시할 수 있는데 각 조직의 성장은 서로 차이가 있으며 뇌의 경우는 출생 전부터 수유가 끝나는 3주까지 빠른 속도로 DNA가 분화되며 그 이후에는 일정하게 유지된다고 보고되었다.²³⁾²⁴⁾ 본 연구에서 뇌조직의 DNA 함량은 출생후 부터 5주까지 식이내에 AA의 첨가와는 무관하게 임신기부터 DHA가 다량 함유된 식이를 섭취함으로써 DNA 함량이 유의성있게 증가하였으며, 모든 군에서 뇌발달이 왕성하게 이루어지는 3주까지 DNA 함량이 급격히 증가되었다(Fig. 2). 이때 뇌조직의 DNA 함량과 DHA 분포량의 관계를 보았을때에도 높은 정의 상관관계($r = 0.47128, p = 0.0001$)를 보였다(Fig. 3). FO-W군의 경우에는 FO 식이를 섭취하기 전에는 DNA 함량이 다른 군의 약 60% 수준밖에 되지 않았으나 이유후부터 FO 식이를 먹은 후에는 DNA 함량이 서서히 증가하여 10주에는 다른 군의 약 80~92% 수준까지 회복되었으며, FO와 AO군에 비하여 낮기는 하였으나 군간에 유의적인 차이를 보이지는 않았다. 그러나 출생후 3주가 지나서 식이로 첨가한 DHA는 두뇌발달이 늦게 시작하였지만 두뇌의 크기가 커지면서 membrane이 더 넓어지고 이 막구성에 DHA 지방산이 더욱 유입된 것이 아닌

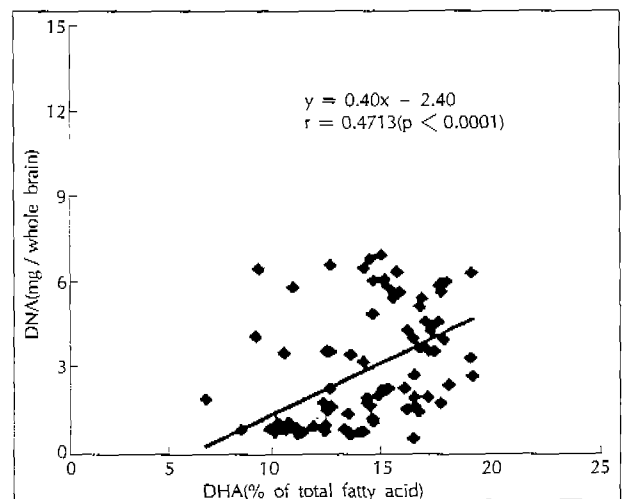


Fig. 3. Correlation between DNA and DHA levels of brain in rats.

가 사려된다. 그러므로 식이중 필수지방산이 충분하게 존재한다면 식이로 첨가하는 DHA는 약 4%kcal 수준으로 첨가하여도 LA대사에 유의한 영향을 주지 않을 것이라고 보며, 두뇌발달이 거의 완성된 이후라도 DHA 첨가는 두뇌발달을 향상시킬 수 있었다고 사려된다. 그러므로 본 연구결과를 만일 사람에게도 적용한다면 뇌발달이 왕성한 시기는 물론 아직 두뇌가 더 성숙되고 있는 상태라면 어느 정도의 DHA섭취는 두뇌발달에 도움이 될 수도 있다고 사려된다.

요약 및 제언

본 연구에서는 쥐에서 임신기부터 DHA가 다량 함유된 FO 식이와 DHA와 AA가 다량 함유된 AO 식이를 섭취시켰을 때 뇌조직으로 유입되는 DHA와 AA 함량과 뇌발달 정도를 비교하였으며, 뇌발달 과정에서 다량으로 첨가된 DHA가 LA대사에 영향을 미쳐서 AA 축적에 어느정도 영향을 주며 식이에 AA를 첨가한 경우 얼마나 도움을 주는지 서로 비교하였다.

1) 임신기부터 식이로 DHA와 AA를 투여하였을 때 뇌조직내 DHA와 AA 축적은 생후 3주에 최고 수준에 도달하였다. 그러나 생후 3주에 이후한 후부터 DHA를 공급받은 경우에는 뇌조직에 축적된 DHA 분포량이 처음에는 유의하게 낮았으나 그 이후 두뇌가 성장하면서 생후 10주까지 꾸준히 유입되어 87% 수준으로 향상되었다.

2) 임신기부터 식이로 DHA를 투여하였을 때 뇌조직의 DNA 함량은 생후 3주때 최고 수준에 도달하였으며, 이후부터 DHA를 공급하였을 때는 뇌조직의 DNA 수준이 약 60%에서 10주때 80% 수준까지 계속 상승하였다.

3) 임신기부터 LA가 적절하게 함유되어도 다량의 DHA를 공급하였을 때는 LA대사에서 생성되는 AA 함량이 더 낮았으나 식이중 LA 함량의 일부를 preformed AA로 대체해서 공급하였을 때는 이 문제가 해소되었다. 그러나 뇌조직의 DNA 함량은 뇌조직내 AA 분포량과는 무관하였으며, DHA 분포량과 유의하게 높은 정의 상관관계를 보였다.

총괄해서, 뇌조직의 지방산조성은 식이의 지방산조성을 그대로 반영하였으며, 뇌발달이 가장 왕성하게 일어나는 시기인 임신기 동안에 DHA가 풍부한 식사를 하는 것이 가장 효과적으로 뇌조직에 DHA가 유입되지만 뇌발달이 거의 완성된 이후라도 DHA 공급에 의하여 DHA 분포량이 증가될 수 있었다. 그러므로 식이중 필수지방산이 충분하게 존재한다면 식이로 첨가하는 DHA는 LA대사에 유의한 영향을 미치지 않으면서도 두뇌발달을 향상시킬 수 있을 것이다. 만일 사람에게도 이 결과를 적용한다면 뇌발달이 왕성

한 시기는 물론 아직 두뇌가 더 성숙되고 있는 상태라면 DHA 섭취는 두뇌발달에 도움이 될 수도 있다고 사려된다.

Literature cited

- 1) 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
- 2) Innis SM. Human milk and formula fatty acid. *J Pediatr* 120: S57-S61, 1992
- 3) Martinez M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J Pediatr* 120: S129-S138, 1992
- 4) Crawford MA. The role of essential fatty acids in neural development. *Am J Clin Nutr* 703S-710S, 1993
- 5) Yeh YY, Gehman MF, Yeh SM. Maternal dietary fish oil enriches docosahexaenoate levels in brain subcellular fractions of offspring. *J of Neuro Res* 218-216, 1993
- 6) Neuringer M, Anderson CJ, 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
- 7) Kim MK, Chee KM, Lee YZ. Effect of maternal dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid on the fatty acid composition of the second generation rat brain. *Korean J Nutr* 26(6): 661-671, 1993
- 8) Simopoulos AP. Omega-3 fatty acid in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* 54: 438-436, 1991
- 9) Neuringer M, Connor WE, van Petten C, Barstad L. Dietary n-3 fatty acid deficiency and visual loss in infant rhesus monkey. *J Clin Invest* 73: 272-276, 1984
- 10) Chung KS, Park HS. Effect of DHA-rich fish oil on brain development and learning ability in rats. *Korean J Nutr* 29(3): 267-277, 1996
- 11) Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipid in a one-step reaction. *J Lipid Res* 27: 114-120, 1986
- 12) Burton K. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *J Biol Chem* 62: 315-322, 1956
- 13) Giles KW, Myers A. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxy-ribonucleic acid. *Nature* 93, 1965
- 14) Iumpfen J, Clandinin MT. Brain development relationship to dietary lipid and lipid metabolism. AOCs PRESS, 1995
- 15) Clandinin MT, Chappell JE, Van Aerde IE. Requirements of newborn infants for long chain polyunsaturated fatty acid. *Acta Pediatr Scand Suppl* 351: 63-71, 1989
- 16) Sinclair AJ, Crawford MA. The accumulation of arachidonate and docosahexaenoate into the developing brain. *J Neurochem* 19: 1753-1758, 1972
- 17) Moore SA, Yoder E, Spector AA. Role of the blood-brain barrier in the formation of long chain ω -3 and ω -6 fatty acids from essential fatty acid precursors. *J Neurochem* 55: 391-402, 1990
- 18) Jay W. Antagonistic Effects of dietary arachidonic acid and n-3 polyunsaturated fatty acids. *Am Inst Nutri* 1086S, 1996
- 19) Holman RT, Johnson SB, Hatch TF. A case of human linoleic acid deficiency involving neurological abnormalities. *Am J Clin Nutr* 35: 617-623, 1982
- 20) Sander TAB, Reddy BS. The influence of a vegetarian diet on the fatty acid composition of human milk and the essential fatty acid status of the infant. *J Pediatr* 120: S71-77, 1992
- 21) Hurley LS. Developmental nutrition. Prentice-Hall, Inc, 1980
- 22) Arbuckle LD, Innis SM. Docosahexaenoic acid is transferred through maternal diet to milk and to tissues of natural milk-fed piglets. *J Nutr* 123: 1668-1675, 1993