

## 수유기동안 납 투여가 성숙 쥐의 불안감 관련 행동양상에 미치는 영향

임 선 영\*

한국해양대학교 해양환경생명과학부

Received September 26, 2005 / Accepted December 12, 2005

**Effect of Lead Exposure During Lactational Period on Anxiety in Rat Using Elevated Plus Maze Test.** Sun-Young Lim. *Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan, 609-761, Korea* – Lead (Pb) exposure during development can produce neurological deficits. In this study, the effect of Pb exposure during neonatal development via lactation on anxiety of brain function was investigated. Long-Evans strain rats were raised through two generations. At the birth of the second generation, the dams were subdivided into two groups and supplied drinking water containing either 0.2% Pb (Pb-treated group) or sodium (Na, Control group) acetate until weaning. Rats were sacrificed at 3 (weaning) and 11 weeks (maturity) for brain Pb and fatty acid analysis. Motor activity and elevated plus maze tests were initiated at 9 weeks. The brains in the Pb-treated group at weaning and maturity contained  $1486 \pm 98$  and  $270 \pm 46$  ng Pb/g, respectively. The control group showed the background level of Pb ( $3.7 \pm 1.0$  ng Pb/g) in both ages. The alterations in brain fatty acid composition induced by Pb exposure were more evident in 3 wks old than 11 wks old. For example, in 3 wks old, the percentages of 18:2n-6, 20:2n-6 and 20:3n-6 were decreased in the Pb-treated group with an increase in 20:4n-6. In motor activity test, there was a tendency of hyperactivity in the Pb-treated group compared with the control group but the difference was not significant. In elevated plus maze test, the Pb-treated group showed fewer numbers of visits to the open arms ( $P < 0.05$ ), indicating that Pb exposure may lead to anxiogenic effect.

**Key words** – lead toxicity, neonatal development, elevated plus maze, anxiety

납은 체내에 축적되어 영양소 대사 이상뿐만 아니라 신경 조직의 기능장애 및 급, 만성질환을 유발하기도 한다[17]. 특히 뇌 성장 발달과정 동안 환경성이나 식이성으로 섭취된 납은 신경계 발달에 큰 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다[2,11]. 예를 들면 임신기와 수유기동안 납 노출은 성숙기가 되었을 때 납의 농도가 정상 수준과 유사하게 떨어졌음에도 불구하고 공간 기억력 장애 현상이 보고되었고 이는 뇌 조직 중 amygdala와 nucleus accumbens에서 손상에 의한 것으로 추정하였다[13]. Huang와 Schneider[23]는 쥐에서 뇌의 neural stem cell에 낮은 농도의 납을 투여했을 때 proliferation과 differentiation에 영향을 끼쳤음을 보고하였다. Hong의 보고[21]에서도 납 투여량의 증가와 더불어 뇌 조직의 납 수준이 비례적으로 증가함을 볼 때 체내로 들어 온 납이 뇌 조직으로 전달됨을 알 수 있다. 현재까지 납과 신경계 장애와의 연관성에 관한 몇몇 연구들이 보고되었으며 이들 대부분의 결과들은 Morris water maze 실험을 이용한 공간 기억 학습 능력[7,24,27], 후각에 기초한 향기 구별 관련 연상기능 저하[13,20], 지속적인 주의력 장애[31] 및 장기간 기억 저장 장애[33]에 관한 것으로 동물의 불안감에 미치는 납 노출의 영향에 대해서는 잘 알려져 있지 않다.

신경계에 미치는 영향이외에도 납 중독은 동물실험에서 혈액의 납 함량이 증가하고 간, 신장, 뇌 등의 장기조직의 납 함량이 증가하였다[22]. 또한 조혈계에도 이상을 일으켜 납은 r-RNA를 변화시켜 적혈구의 성숙을 저해하여 이상적혈구인 엽기성 반점형 적혈구를 생성하여 적혈구 내 엽기성 반점의 출현이나 유핵 적혈구의 출현이 보고되었다[28]. Park 등[37]은 흰 쥐에 납 농도 20, 50, 200 mg/d를 투여했을 때 농도에 의존적으로 비정상적인 적혈구가 출현하였으며 간 조직에서 납 투여에 따라 세포 증대 및 세포 침윤과 같은 병리학적 증상과 뇌 조직의 경우 충혈, 혈관 증대가 나타났으며 납 농도에 비례하여 증상이 심하게 나타났음을 관찰하였다. 또한 신장 조직에서는 동맥 혈관의 증식과 근위곡 세뇨관 세포 핵내 봉입체가 관찰되었는데 신장의 근위곡 세뇨관 세포 핵내 봉입체는 납에 의한 신장독성의 표식자로 알려져 있으며 납과 결합하는 단백질이 복합물로 납을 무독화하는데 관여하며 주로 병변 진행과정 중 초기에 뚜렷이 보이는 것으로 알려져 있다[41].

본 연구에서는 납 노출에 의한 동물의 불안감과 뇌 내의 지방산 조성 변화, 특히 docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) 함량의 변화에 미치는 영향을 검토하고 이러한 동물 행동 양상과 지방산 조성 변화의 상관성에 대하여 살펴보고자 한다. DHA 결핍[5,35]과 납 노출[2]은 뇌의 신경전달 체계와 신호 전달에 영향을 끼치는 것으로 알려져 있고 두 요소 모두 뇌

\*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-404-3988

E-mail : sylim@bada.hhu.ac.kr

의 hippocampus (해마) 부분을 손상시키는 것으로 알려져 있다[1,3]. 한편 DHA는 여성의 경우 임신과 분만 이후 종종 나타나는 우울증 예방에 효과가 있는 것으로 보고되었다. Hibbeln 등[19]은 미 대륙의 경우 동양인에 비하여 어류 섭취 빈도가 낮아 결국 혈중 DHA 함량도 적은 것을 관찰 하였으며 이러한 DHA 함량의 감소는 임신 후 우울증 증가와 매우 밀접한 관련이 있다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 임신기와 수유기 동안 엄마 쥐에게 충분한 DHA 공급을 위하여 DHA가 적절하게 함유된 식이를 이용하였으며 납 노출에 의한 뇌 내의 지방산 조성 변화를 검토하였다. 아울러 두뇌 기능에 영향을 미치는 납 중독은 쥐의 경우 뇌 성장 발달이 계속 진행 중인 생후 3주 동안에 납에 노출되었을 때가 가장 위험한 시기로 알려져 있으므로 본 연구에서는 납 투여가 동물의 불안감에 미치는 영향에 대하여 검토하고자 동물을 2세대로 사육하고 수유기동안 엄마 쥐를 통하여 간접적으로 신생 쥐에 납을 노출시켜 이들 동물들이 성숙되었을 때 불안감과 운동 활성성을 측정하였다.

**재료 및 방법**

**실험동물의 사육 및 실험식이**

본 실험에서는 생후 3주령 암컷 Long-Evans 쥐 60마리를 Charles River 실험실 (Portage, MI)로부터 구입하여 지방산의 양이 변형된 AIN-93G 표준식이[39]를 급여하여 적정 환경(온도 23±1℃, 상대습도, 명암 12시간 주기)에서 8주간 사육하였다 식이의 지방산 조성은 14.8% linoleic acid (LA), 3.0% linolenic acid (LNA) 및 1.6% DHA를 함유하였다 (Table 1). 암컷 쥐가 11주령이 되었을 때 12주령 수컷과 교배시킨 후 임신 쥐들을 구별하여 교배 17일부터 개개 cage에서 사육하였다. 0.2% Pb 농도는 여러 문헌을 참조하여 수유기 동안 납 노출이 성인이 되었을 때 동물의 행동양상에 영향을 미치는 범위로 결정되었다[14,15,29,34,42,43]. 연령의 차이를 줄이기 위하여 출산 후 24시간 내에 태어난 수컷 신생 쥐를 중심으로 엄마 쥐를 통한 간접적인 방법으로 납을 투여하는 방식으로 각각 0.2% Pb acetate가 함유된 음용수 (Pb-treatment 군)와 대조군으로 0.2% Na acetate가 함유된 음용수(Na-treatment 군)의 두 그룹으로 나누었다. 이때 한 세트는 실험군 당 5마리씩 취하여 뇌의 납 농도와 지방산 조성을 분석하기 위하여 3주령이 되었을 때 희생시켰고 나머지는 불안감 관련 동물 행동 양상 실험을 위하여 군 당 10마리씩 취하여 11주령까지 사육하였다. Pb 투여는 이유기인 출생 후 21일까지 계속 진행되었다가 그 이후는 보통의 음용수로 전환하였고 실험식이와 음용수는 실험기간동안 자유섭취방법으로 급여하였다(Fig. 1).

**일반적인 동물 행동 양상 검사 실험(Motor activity test)**

실험쥐들이 9주령이 되었을 때 일련의 동물 행동 학습 실험

Table 1. Diet composition and fatty acid composition of diet

Ingredient	Amount (g/100 g)
Casein, vitamin free	20
Carbohydrate	60
Corn starch	15
Sucrose	10
Dextros	19.9
Maltose-dextrin	15
Cellulose	5
Salt mix	3.5
Vitamin mix	1
L-Cystine	0.3
Choline bitartrate	0.25
tert-Butylhydroquinone	0.002
Fat:	10
Hydrogenated coconut oil	7.45
Safflower oil	1.77
Flaxseed oil	0.48
DHASCO	0.3
<b>Fatty acid composition</b>	
Saturates	67.5
Monounsaturates	5.6
18:2n-6	14.8
18:3n-3	3.0
22:6n-3	1.6
18:2n-6/18:3n-3	4.9

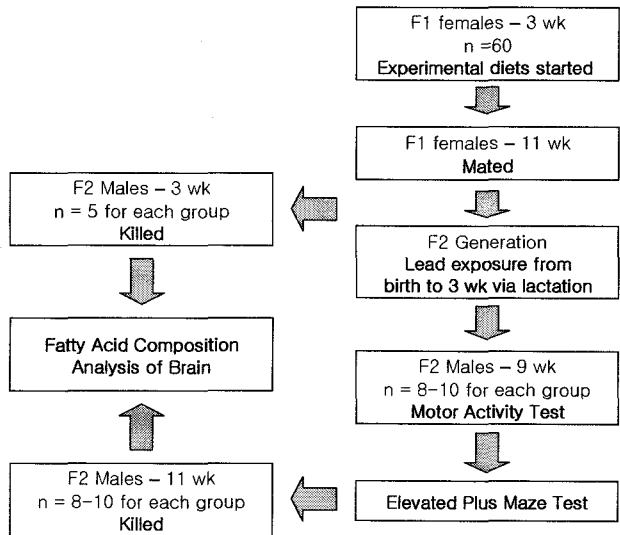


Fig. 1. Flow diagram of the experimental design.

험들이 행해졌다. 먼저 motor activity 실험을 행하여 쥐들의 자발적인 운동성을 측정하였다. 각각 실험쥐들을 bedding이 깔려져 있는 쥐용 case (25 cm×45 cm×20 cm) 에 넣고 비디오 카메라를 이용하여 이들의 moving distance (이동거리)와 moving time (이동시간)을 30분간 측정하였고 이러한 실험은 4일 연속 같은 시간에 측정하였다.

**Elevated plus maze 실험**

Elevated Plus Maze 실험을 행하여 실험쥐들의 불안감을 측정하였다[4,9,10,38]. Elevated plus maze는 높이가 바닥에서 70 cm 정도이며 2개의 open arm과 2개의 close arm으로 구성되어 있다. 쥐들은 선천적으로 어둡고 close arm에 머무르기를 좋아한다. 그래서 open arm을 통과 할 때는 상당한 불안감을 나타낸다. 처음 2분 동안은 maze의 중심에 실험 쥐를 두고 새로운 환경에 대한 탐색시간을 주었고 나머지 5분 동안은 실험쥐가 두 개의 open arm을 통과해서 머무르는 시간과 횟수를 비디오 카메라를 이용하여 측정하였다. 이 실험은 2일 연속 같은 시간에 측정하였다.

**뇌 조직의 납 농도 및 gas chromatography를 이용한 뇌 조직의 지방산 측정**

뇌 조직의 납 농도는 시중 회사 Antech Diagnostics에 의뢰하여 atomic absorption spectrometry 방법에 따라 측정하였다. 실험쥐를 희생시킨 후 뇌를 취하였으며 뇌의 무게를 재고 -80℃에 보관하고 실험에 사용하였다. 지방산 분석은 Folch 등[12]을 변형하여 실시하였으며 간단히 요약하면 다음과 같다. 생체조직을 butylated hydroxy toluene (BHT)를 함유한 chloroform:methanol (2:1)로 교반하여 균질화 하였고 균질물을 일정 양 취한 후 클로로포름 2 ml와 0.2 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.4 ml를 넣고 교반하여 3000 rpm에서 5분간 원심분리 후 지질층을 얻었다. 최종적으로 질소가스를 이용하여 서서히 지질층의 유기용매를 완전히 날린 다음 지질을 얻었다. Morrison과 Smith의 방법[32]에 따라 추출된 지질에 methylation용 시약인 boron trifluoride methanol 1 ml와 hexane 0.4 ml를 가한 후 1시간동안 100℃에서 가열 하였다. 실온까지 충분히 냉각 시킨 다음 hexane 2 ml와 증류수 2 ml를 가한 후 다시 3000 rpm에서 5분간 원심분리 후 상등액을 얻었다. 상등액을 질소가스 하에서 조금 날린 후, 상등액 1-2 μl를 취하여 지방산 분석용 HP-5890B gas chromatography (Agilent, Palo Alto, CA)에 주입하여 지방산을 분석하였다[40]. 지방산 분석에 사용한 표준용액은 미국 Nu-Chek 사의 462 standard를 이용하였다. 이용된 칼럼은 silica capillary column (DB-FFAP, 30 m×0.25 mm inner diameter×0.25 μm film thickness, J and W Scientific, Folsome, CA) 이었으며 기기의 분석 조건은 detector (FID) 250℃, oven (initial 130℃, 분당 증가율 175℃까지 4℃/min, 250℃까지 1℃/min, 210℃까지 30℃/min, final 245℃), injector 250℃ 그리고 carrier gas는 수소를 사용하였다[25]. 지방산 분석은 표준용액의 retention 시간과 비교하여 정성하였고 내부 표준물질 (22:3n-3 methyl ester)을 이용하여 총 지방산을 정량하였으며 개개의 지방산들은 전체 peak area의 퍼센트로 산출하였다.

**통계처리**

실험결과는 mean±SEM (Standard Error of Mean)으로

나타내었고 분석된 실험 데이터는 Statistica program (Statsoft, Tulsa, OK)을 이용하여 one-way ANOVA를 실시하여 Pb 노출의 효과를 살펴 보았다. 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Tukey's HSD (Honest Significant Difference) test를 실시하여 95% 수준에서 유의성을 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**체중 및 뇌의 무게 비교**

수유기 동안 납의 투여는 급격한 체중의 변화를 유발하였다. 3주령 쥐의 경우 납을 투여한 군이 대조군에 비해 약 50% 체중 감소를 보였으나 뇌의 무게에는 유의적 변화를 관찰 할 수 없었다(Table 2). 이러한 이유기(3주령)의 체중 감소 정도는 성숙기까지 계속 이어져 이유기 이후 납 투여를 중지하고 일반 음용수로 전환하여 8주 사육한 후 11주령 되었을 때 대조군에 비하여 납 투여군에서 26% 체중의 감소가 나타났다. 그러나 성숙기(11주령)의 뇌의 무게에는 두 군 간에 유의적 차이가 없었다. Park 등[37]도 납 투여군은 납을 투여하지 않은 대조군에 비해 체중의 감소가 있었음을 보고하였고 식이 효율에는 유의적 차이가 없는 것으로 보아 납 투여에 의해 식이 섭취가 감소함에 따라 체중도 감소한 것으로 예측하였다. 한편, 본 실험에 사용되었던 납 농도와 비슷한 농도에서 실험을 한 연구들에서는 몸무게 감소 현상이 나타나지 않았다고 보고하였다[14,15,29,34,42,43]. 본 실험에서는 엄마 쥐가 섭취한 식이를 측정하지 않았으나 실험기간동안 납을 투여한 군의 경우 음용수의 섭취가 급격히 낮았으며 이에 따라 식이 섭취량도 감소한 것으로 여겨진다. 납은 위장에 장애를 주고 복통을 유발하는 것으로 알려졌다[16] Hammond와 Succop[18] 연구에서도 납 노출 시 성장과 식이 섭취량이 감소하였음을 보고하였다.

**뇌의 납 농도 및 지방산 조성 변화**

3주령 쥐의 뇌 조직의 납 농도의 경우 납 투여군은 1486.1 ±98.4 ng로 매우 높은 함량을 보였고 이유기 이후 납 투여를 중지하고 일반 음용수로 교체한 후 동물들을 사육하여 11주

Table 2. Effect of lead treatment on body and brain weights of 3 and 11 weeks old rats (g)

	Control (Na-treatment)	Pb-treatment
3 wk		
Body	55.1±2.1 <sup>1</sup>	26.7±2.3 <sup>*</sup>
Brain	1.46±0.05	1.30±0.04
11 wk		
Body	555.5±13.6	409.0±16.9 <sup>*</sup>
Brain	1.98±0.04	1.90±0.05

<sup>1</sup>Each parameter is presented as the mean±SEM for 5-10 rats. \*p<0.05, significant effect of lead treatment.

령이 되었을 때 쥐의 뇌 조직에는 269.5±46.0 ng로 남아있었으며 이유기와 비교해 볼 때 18% 정도 감소하였으나 여전히 조직 중에 잔존하였다(Table 3). 본 연구에서는 식이 지방산 함량을 조절하여 충분한 DHA 함량을 공급한 상태에서 납 노출에 의해 변화된 지방산 조성과 우울증 발생과의 관련성에 대하여 검토하고자 각 연령별 뇌 지방산의 조성을 검토하였다. Table 4는 이유기 쥐의 뇌 지방산 조성을 나타내었다. 총 포화지방산, 총 monounsaturated 지방산, 총 n-6 지방산, 총 n-3 지방산 및 총 지방산의 함량에는 두 군 간에 유의적 차이가 없었다. 그러나 Na 투여 대조군과 비교했을 때 납 투여군의 경우 18:2n-6, 20:2n-6 및 20:3n-6의 함량은 낮았고 16:1n-7, arachidonic acid (AA, 20:4n-6) 및 docospentaenoic acid (DPA n-6, 22:5n-6)의 함량은 높았음(p<0.05)을 관찰할 수가 있었다. 11주령의 쥐의 뇌 지방산 조성의 변화는 Table 5에 나타내었다. 여기서도 마찬가지로 총 포화지방산, 총 n-6 지방산, 총 n-3 지방산 및 총 지방산의 양에는 두 군 간에 유의적 차이가 없었으나 총 monounsaturated 지방산의 경우 납 투여에 의해 감소하였다. Na 투여 대조군과 비교했을 때 납 투여군에서 16:1n-7, 18:1n-9 및 22:2n-6의 함량은 낮았음을 관찰 할 수가 있었다. 성숙 쥐(11주령)보다 이유기 쥐(3주령)의 경우 납 투여에 의한 뇌 지방산 조성 변화가 큰 것으로 나타났고 납 투여는 연령에 상관없이 뇌의 DHA 함량에는 영향을 끼치지 않은 것으로 나타났다. 납 투여에 의한 장기 조직의 지방산 조성 변화와 관련된 연구 논문들에 의하면 납 투여 후 간의 지방산 조성을 살펴 본 결과 특히 고도로 불포화된 지방산인 AA, DPA n-6 및 DHA의 함량이 증가하였으며 이러한 현상은 쥐[44]뿐만 아니라 닭[6,25,26,30], 칠면조[26] 및 인간[36]을 대상으로 한 연구 결과들과 일치하였다. 그러나 뇌를 포함한 신경조직의 경우 간과 혈액의 지방산 조성 비교해 볼 때 그 변화가 적은 것으로 보고되었다. 납 투여가 지질 대사에 미치는 기작에 대하여 명확하게 알려져 있지 않지만 그 중에서 납 투여가 지질의 과산화를 유발한다는 것에 대한 몇몇 연구 보고들이 있다. 즉, 납 농도 7.24 mmol Pb/l를 투여한 병아리의 경우 간의 malondialdehyde가 증가하였으며[31] 또한 *in vitro* microsomal membranes의 malondialdehyde 함량도 증가하였다고 보고하였다[25]. 그러나 일반적으로 과산화가 진행되어지면 특히 고도로 불포화된 지방산들인 AA와 DHA가 분해되어 함량이 감소하는

Table 3. Lead contents of 3 and 11 weeks old rats (ng Pb/g wet weight of brain)

	Control (Na-treatment)	Pb-treatment
3 wk	3.83±1.54 <sup>1</sup>	1486.1±98.4 <sup>*</sup>
11 wk	3.75±1.03	269.5±46.0 <sup>*</sup>

<sup>1</sup>Each parameter is presented as the mean±SEM for 5 rats. <sup>\*</sup>p<0.05, significant effect of lead treatment.

Table 4. Effect of lead treatment on brain fatty acid composition in 3 weeks old (g/100 g)

	Control (Na-treatment)	Pb-treatment
Fatty acids		
14:0	0.57±0.01 <sup>1</sup>	0.58±0.02
16:0	21.1±0.33	21.0±0.21
18:0	16.8±0.12	16.6±0.34
20:0	0.38±0.02	0.30±0.02
22:0	0.44±0.03	0.37±0.03
24:0	0.75±0.05	0.60±0.06
Total Sat.	45.3±0.30	44.8±0.45
16:1n-7	0.42±0.01	0.50±0.02 <sup>*</sup>
18:1n-9	13.3±0.18	13.0±0.27
18:1n-7	2.87±0.04	2.79±0.04
20:1n-9	0.71±0.04	0.58±0.04
22:1n-9	0.10±0.01	0.07±0.01
24:1n-9	0.91±0.06	0.81±0.07
Total Mono.	19.2±0.31	18.5±0.37
18:2n-6	1.02±0.04	0.82±0.03 <sup>*</sup>
20:2n-6	0.24±0.01	0.15±0.004 <sup>**</sup>
20:3n-6	0.74±0.04	0.57±0.03 <sup>*</sup>
20:4n-6	10.3±0.08	11.7±0.25 <sup>**</sup>
22:2n-6	0.04±0.001	0.03±0.001
22:4n-6	2.91±0.07	3.14±0.07 <sup>*</sup>
22:5n-6	0.47±0.01	0.61±0.02 <sup>*</sup>
Total n-6	16.4±0.63	17.0±0.33
22:5n-3	0.32±0.01	0.27±0.01
22:6n-3	14.9±0.09	15.0±0.35
Total n-3	15.4±0.09	15.4±0.35
Total fatty acids (µg/mg wet tissue)	30.5±2.40	28.3±0.69

Each parameter is presented as the mean±SEM for 5 rats. <sup>\*</sup>p<0.05, <sup>\*\*</sup>p<0.001, significant effect of lead treatment.

현상이 일어난다. 따라서 납에 의한 과산화 유발 효과는 본 연구 결과와 선행된 연구 결과들과 일치하지 않는다. 그 대안에 대한 기작에 대해서는 아직 알려져 있지 않은 상태이며 여기에 대해서는 더 깊은 연구가 필요하다고 사료되어진다.

**Elevated plus maze를 이용한 동물의 불안감 측정**

Motor activity 실험을 행하여 실험쥐들의 자발적인 운동성을 측정된 결과, 납 투여군의 경우 대조군에 비하여 주어진 시간 내에서 움직이는 시간과 움직인 거리(Fig. 2)가 길어 운동 활동성이 큰 경향을 나타내었으나 통계적 유의성은 없었다. Elevated plus maze 실험은 동물이 두 개의 open arm과 두 개의 close arm을 탐험하면서 나타나는 실험쥐의 불안감을 측정하는데 널리 이용되고 있다[4,9,10,38]. 쥐의 경우 close arm에서 보다 open arm을 탐험 할 때 상당히 높은 불안감을 가진다. 따라서 불안감을 완화시켜 주는 작용이 있는

Table 5. Effect of lead treatment on brain fatty acid composition in 11 weeks old (g/100 g)

	Control (Na-treatment)	Pb-treatment
Fatty acids		
14:0	0.27±0.02 <sup>1</sup>	0.22±0.02
16:0	17.6±0.25	17.7±0.21
18:0	17.6±0.13	17.5±0.19
20:0	0.59±0.01	0.54±0.02
22:0	0.58±0.01	0.53±0.02
24:0	1.20±0.04	0.96±0.14
Total Sat.	38.9±0.17	39.5±0.17
16:1n-7	0.42±0.02	0.34±0.01*
18:1n-9	18.0±0.23	17.5±0.19*
18:1n-7	3.78±0.04	3.69±0.06
20:1n-9	2.16±0.07	1.94±0.08
22:1n-9	0.22±0.01	0.18±0.01
24:1n-9	1.95±0.12	1.89±0.09
Total Mono.	26.8±0.23	25.8±0.37*
18:2n-6	0.71±0.02	0.71±0.01
20:2n-6	0.18±0.01	0.17±0.003
20:3n-6	0.56±0.02	0.53±0.02
20:4n-6	8.51±0.04	8.59±0.09
22:2n-6	0.05±0.002	0.04±0.001*
22:4n-6	2.73±0.04	2.70±0.04
22:5n-6	0.21±0.01	0.23±0.01
Total n-6	13.0±0.07	13.0±0.11
22:5n-3	0.25±0.01	0.25±0.01
22:6n-3	15.0±0.15	15.6±0.14
Total n-3	15.4±0.15	15.9±0.14
Total fatty acids (µg/mg wet tissue)	35.7±2.53	33.2±0.37

<sup>1</sup>Each parameter is presented as the mean±SEM for 8-10 rats. \*p<0.05, \*\*p<0.001, significant effect of lead treatment.

약제를 투여하면 쥐가 두 개의 open arm에 머무는 시간이 대조군에 비해 길고 반면 불안감을 일으키는 약제를 섭취한 쥐의 경우 반대로 open arm에 머무는 시간이 짧다. 본 elevated plus maze 실험의 결과에서 실험 1일째의 경우 open arm에 머무는 시간에는 납을 투여한 군과 대조군 간에 유의적 차이가 없었다. 그러나 탐험 경험이 있는 실험 2일째에는 두 군 모두에서 현저하게 open arm에 머무는 시간이 감소하였으며 납 투여군의 경우 대조군에 비하여 머무는 시간이 감소하는 경향이었으나 통계적 유의성에는 도달하지 못 하였다(Fig. 3). Open arm에 들어가는 횟수를 관찰한 결과는 Fig. 4와 같다. 실험 1일째의 경우 open arm에 들어가는 횟수가 납 투여군에서 대조군에 비해 유의적으로 적었고 2일째에도 두 군에서 모두 open arm에 들어가는 횟수가 감소하였으며 대조군에 비해 납을 투여한 쥐의 경우 유의적으로 낮은 횟수

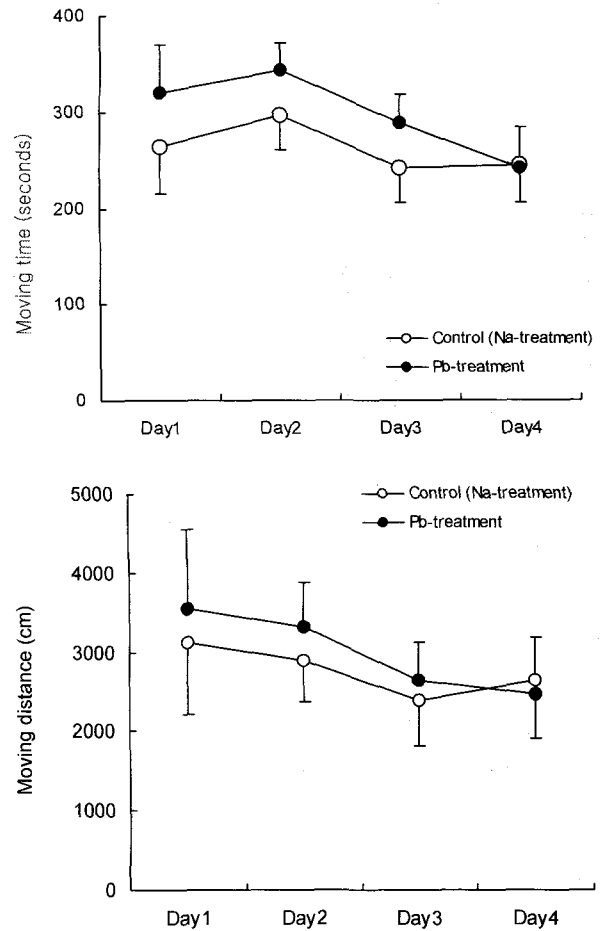


Fig. 2. Effect of lead treatment on moving time and moving distance in the motor activity test. The values are presented as the mean±SEM, by using rats ranging between 8 and 10.

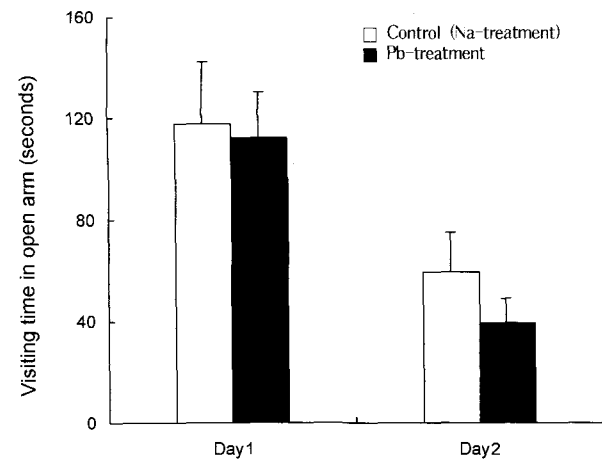


Fig. 3. Effect of lead treatment on visiting time in the open arm in the elevated plus maze test. The values are presented as the mean±SEM, by using rats between 8 and 10. \*p<0.05, significant effect of lead treatment.

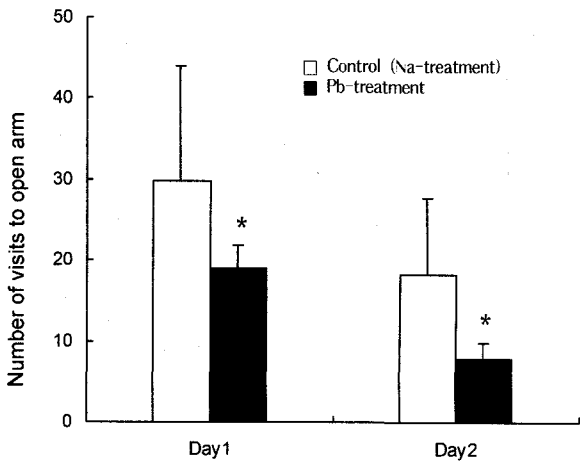


Fig. 4. Effect of lead treatment on number of visits to the open arm in the elevated plus maze test. The values are presented as the mean±SEM, by using rats between 8 and 10. \*p<0.05, significant effect of lead treatment.

로 open arm에 들어갔음을 관찰 할 수가 있었다. 따라서 납의 투여는 open arm에 머무는 시간을 단축시킴으로 실험동물의 불안감을 유발하는 결과를 나타내었다. 임신기와 수유기 동안 500 ppm의 납을 투여한 쥐의 경우, 이유기(23 days) 시기에 동물 행동 실험을 한 결과 과도한 활동성(hyperactivity), 공간 탐험 (exploratory behavior) 저하, 기억 학습 능력 장애를 나타내었으나 elevated plus maze 실험에 의한 불안감에는 영향을 미치지 않았다. 그러나 같은 동물이 성숙되었을 때(70 days) 납에 의한 불안감 증가 현상이 나타났다고 보고 하였다[8]. 이상의 결과로부터 이유기 이후 납의 투여를 중지 하였음에도 불구하고 상당량의 납이 뇌 조직에 잔존하였으며 납에 의한 뇌 조직의 지방산 조성 변화는 미미하였지만 11주령의 쥐보다 3주령의 쥐에 더 큰 영향을 끼쳤으며 수유기 동안 납 노출은 성숙 동물의 불안감을 증가시키는 anxiogenic 효과를 나타내었으나 뇌 내의 DHA 함량에는 변화가 없었다.

**요 약**

수유기 동안 납의 투여는 급격한 체중의 변화를 유발하여 3주령 및 11주령 쥐의 경우 납을 투여한 군이 대조군에 비해 각각 50% 및 26% 체중 감소를 보였으나 뇌의 무게에는 유의적 변화를 관찰 할 수 없었다. 납 투여는 뇌 지방산 조성 변화에 큰 영향을 주지 않았지만 특히 AA와 DPA<sub>n-6</sub>와 같은 고도의 불포화 지방산 함량의 증가를 유발하였다. Motor activity 실험에서 납 투여군의 경우 대조군에 비하여 주어진 시간 내에서 움직이는 시간과 움직인 거리가 긴 것으로 보아 운동 활동성이 큰 것으로 여겨지나 두 군 간에 유의적 차이

는 없었다. Elevated plus maze 실험에서 실험 1일째의 경우 open arm에 머무는 시간에는 유의적 차이가 없었으나 2일째에는 두 군에서 현저히 open arm에 머무는 시간이 감소하였으며 납 투여군의 경우 대조군에 비하여 머무는 시간이 감소하는 경향이었으나 통계적 유의성은 없었다. Open arm에 들어가는 횟수를 관찰한 결과, 실험 1일째의 경우 open arm에 들어가는 횟수가 납 투여군에서 유의적으로 적었고 2일째에는 두 군에서 모두 open arm에 들어가는 횟수가 감소하였으며 대조군에 비해 납을 투여한 쥐의 경우가 유의적으로 낮은 횟수로 open arm에 들어갔음을 관찰 할 수 있었다. 이상의 결과로부터 수유기 동안의 납 투여는 성숙 동물의 불안감을 증가시키는 효과를 나타내었다.

**감사의 글**

본 연구는 한국해양대학교 간접연구경비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

**참 고 문 헌**

- Ahmad, A., T. Moriguchi and N. Salem. 2002. Decrease in neuro size in docosahexaenoic acid-deficient brain. *Pediatr. Neurol.* **26**, 210-218.
- Banks, E. C., L. E. Ferretti and D. W. Shucard. 1997. Effects of low level lead exposure on cognitive function in children: a review of behavioral, neuropsychological and biological evidence. *Neurotoxicol.* **18**, 237-281.
- Calderon, F. and H. Y. Kim. 2004. Docosahexaenoic acid promotes neurite growth in hippocampal neurons. *J. Neurochem.* **90**, 979-988.
- Carobrez, A. P. and L. J. Bertoglio. 2005. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **29**, 1-13.
- Charon, S., S. Vancassel, L. Zimmer, D. Guilloteau and G. Durand. 2001. Polyunsaturated fatty acids and cerebral function: focus on monoaminergic neurotransmission. *Lipids* **36**, 937-944.
- Donaldson, W. E. and T. K. Leeming. 1984. Dietary lead: effects on hepatic fatty acid composition in chicks. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **73**, 119-123.
- Dubas, T. C. and P. D. Hrdina. 1978. Behavioural and neurochemical consequences of neonatal exposure to lead in rats. *J. Environ. Pathol. Toxicol.* **2**, 471-484.
- Estefania, G. M., L. Vassilief and V. S. Vassilief. 2001. Developmental lead exposure: behavioral alterations in the short and long term. *Neurotoxicol. Teratol.* **23**, 489-495.
- File, S. E., H. Zangrossi, M. Viana and F. G. Graeff. 1993. Trial 2 in the elevated plus-maze: a different form of fear? *Psychopharmacology (Berl)* **111**, 491-494.
- File, S. E. and L. E. Gonzalez. 1996. Anxiolytic effects in the plus-maze of 5-HT<sub>1A</sub>-receptor ligands in dorsal raphe and

- ventral hippocampus. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **54**, 123-128.
11. Finkelstein, Y., M. E. Markowitz and J. F. Rosen. 1998. Low-level lead-induced neurotoxicity in children: an update on central nervous system effects. *Brain Res. Rev.* **27**, 168-176.
  12. Folch, J., M. Lees and G. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from boron fluoride-methanol. *J. Biol. Chem.* **226**, 495-509.
  13. Garavan, H., R. E. Morgan, D. A. Levisky, L. Hermer-Vazquez and B. J. Strupp. 2000. Enduring effects of early lead exposure: evidence for a specific deficit in associative ability. *Neurotoxicol. Teratol.* **22**, 151-164.
  14. Gilbert, M. E. and C. M. Mack. 1998. Chronic lead exposure accelerates decay of long-term potentiation in rat dentate gyrus in vivo. *Brain Res.* **789**, 139-149.
  15. Gilbert, M. E., C. M. Mack and S. M. Lasley. 1999. The influence of developmental period of lead exposure on long-term potentiation in the adult rat dentate gyrus in vivo. *Neurotoxicology* **20**, 57-69.
  16. Gordon, J. M., A. Taylor and P. N. Bennett. 2001. Lead poisoning: case studies. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **53**, 451-458.
  17. Graeme, K. A. and C. V. Pollack. 1998. Heavy metal toxicity, Part 2: Lead and metal fume fever. *J. Emergency Med.* **16**, 171-177.
  18. Hammond, P. B. and P. A. Succop. 1995. Effect of supplemental nutrition on lead-induced depression of growth and food consumption in weanling rats. *Toxicol. Applied Pharmacol.* **131**, 80-84.
  19. Hibbeln, J. R. and N. Salem. 2001. *Omega-3 fatty acids and psychiatric disorders*. pp 3-22, In Mostofsky et al. (eds.), *Fatty acids*. Humana Press Inc., Totowa.
  20. Hilson, J. A. and B. J. Strupp. 1997. Analyses of response patterns clarify lead effects in olfactory reversal and extradimensional shift tasks: assessment of inhibitory control, associative ability, and memory. *Behavioral Neurosci.* **111**, 532-542.
  21. Hong, C. M. 2001. Effect of repeated exposure to Pb acetate on hematopoietic function, testis and kidney in male rats. *J. Toxicol. Pub. Health* **17**, 309-316.
  22. Hong, C. M., C. Y. Yoon, Y. Y. Cho, J. J. Hong, J. Y. Song, J. H. Yang, D. H. Cho, C. H. Chae, M. H. Cho, K. H. Yang and C. K. Kim. 2000. Age effects of repeated exposure to lead acetate on pathological changes in male rats. *Ann. Report KFDA.* **4**, 456-466.
  23. Huang, F. and J. S. Schneider. 2004. Effects of lead exposure on proliferation and differential of neural stem cell derived from different regions of embryonic rat brain. *Neuro Toxicol.* **25**, 1001-1012.
  24. Jett, D. A., A. C. Kuhlmann, S. J. Farmer and T. R. Guilarte. 1997. Age-dependent effects of developmental lead exposure on performance in the Morris water maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **57**, 271-279.
  25. Knowles, S. O. and W. E. Donaldson. 1996. Dietary lead alters fatty acid composition and membrane peroxidation in chick liver microsomes. *Poult. Sci.* **75**, 1498-1500.
  26. Knowles, S. O., W. E. Donaldson and J. E. Andrews. 1998. Changes in fatty acid composition of lipids from birds, rodents, and preschool children exposed to lead. *Biol. Trace Elem. Res.* **61**, 113-125.
  27. Kuhlmann, A. C., J. L. McGlothlan and T. R. Guilarte. 1997. Developmental lead exposure causes spatial learning deficits in adult rats. *Neurosci. Lett.* **233**, 101-104.
  28. Kwon, O. D. 2000. Histopathologic studies on the experimental lead poisoning in rats. *Kor. J. Vet. Clin. Med.* **17**, 70-75.
  29. Lasley, S. M., M. C. Green and T. R. Gilberte. 1999. Influence of exposure period on in vivo hippocampal glutamate and GABA release in rats chronically exposed to lead. *Neurotoxicology* **20**, 619-629.
  30. Lawton, L. J. and W. E. Donaldson. 1991. Lead-induced tissue fatty acid alterations and lipid peroxidation. *Biol. Trace Elem. Res.* **28**, 83-97.
  31. Morgan, R. E., H. Garavan, E. G. Smith, L. L. Driscoll, D. A. Levitsky and B. J. Strupp. 2001. Early lead exposure produces lasting changes in sustained attention, response initiation, and reactivity to errors. *Neurotoxicol. Teratol.* **23**, 519-531.
  32. Morrison, W. R. and L. M. Smith. 1959. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron-fluoride-methanol. *J. Lipid Res.* **5**, 600-608.
  33. Murphy, K. J. and C. M. Regan. 1999. Low-level lead exposure in the early postnatal period results in persisting neuroplastic deficits associated with memory consolidation. *J. Neurochem.* **72**, 2099-2104.
  34. Nihei, M. K., N. L. Desmond, J. L. McGlothlan, A. C. Kuhlmann and T. R. Guilarte. 2000. N-methyl-D-aspartate receptor subunit changes are associated with lead-induced deficits of long-term potentiation and spatial learning. *Neuroscience* **99**, 233-242.
  35. Niu, S. L., D. C. Mitchell, S-Y. Lim, Z. M. Wen, H. Y. Kim, N. Salem and B. J. Litman. 2004. Reduced G protein-coupled signaling efficiency in retinal rod outer segments in response to n-3 fatty acid deficiency. *J. Biol. Chem.* **279**, 31098-31104.
  36. Osterode, W. and F. Ulberth. 2000. Increased concentration of arachidonic acid in erythrocyte membranes in chronically lead-exposed men. *J. Toxicol. Environ. Health A* **59**, 87-95.
  37. Park, J. R., M. Kim and Y. S. Lee. 2005. Effects of chitosan on the lead level and histological changes in rats exposed to various levels of lead. *Kor. J. Nutr.* **38**, 48-55.
  38. Pellow, S. and S. E. File. 1986. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **24**, 525-529.
  39. Reeves, P. G., F. H. Neilsen and G. C. Fahey. 1993. Committee report on the AIN-93 purified rodent diet. *J. Nutr.* **123**, 1939-1951.
  40. Salem, N., M., Reyzer and J. Karanian. 1996. Losses of arachidonic acid in rat liver after alcohol inhalation. *Lipids* **31**, S153-156.
  41. Sanchez-Fructoso, A. I., J. Blanco, M. Cano, L. Ortega, M.

- Arroyo, C. Fernandez, D. Prats and A. Barrientos. 2002. Experimental lead nephropathy: treatment with calcium disodium ethylenediaminetetraacetate. *Am. J. Kidney Dis.* **40**, 59-67.
42. Sui, L., S. Y. Ge, D. Y. Ruan, J. T. Chen, Y. Z. Xu and M. Wang. 2000. Age-related impairment of long-term depression in area CA1 and dentate gyrus of rat hippocampus following developmental lead exposure in vivo. *Neurotoxicol. Teratol.* **22**, 381-387.
43. Willson, M. A., M. V. Johnston, G. W. Goldstein and M. E. Blue. 2000. Neonatal lead exposure impairs development of rodent barrel field cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **97**, 5540-5545.
44. Zimmermann, L., N. Pages, H. Antebi, A. Hafi, C. Boudene and L. G. Alcindor. 1993. Lead effect on the oxidation resistance of erythrocyte membrane in rat triton-induced hyperlipidemia. *Biol. Trace Elem. Res.* **38**, 311-318.