

식이지방과 스트레스가 신경전달물질의 수준에 미치는 영향

한효나 · 김문정 · 김선희

국민대학교 가정교육과

Effect of Dietary Lipids and Stress on Neurotransmitters in Rats

Han, Hyo-Na · Kim, Moon-Jung · Kim, Sun-Hee

Department of Home Economics, Kookmin University, Seoul, Korea

ABSTRACT

To investigate the effect of dietary lipids and stress on brain catecholamine and serotonin concentration, sixty three weanling male Sprague-Dawley rats (mean body weight \pm SD : $171 \pm 3g$) were fed a diet containing fish oil, soybean oil or beef tallow and then, each was exposed to three different types of stress, isolated, grouped or cold, respectively. Cold stress seemed to be most severe and living together in a large cage with some playing equipments is more stressful than living alone in a classical small cage evidenced by plasma corticosterone level. Average food intake and body weight gain were not significantly different among experimental groups. In adrenal catecholamines, norepinephrine was significantly affected by diet and stress and dopamine was by stress. Norepinephrine concentration of the isolated stress group was lower than the grouped and cold stress groups and that of the fish oil group was lowest among diet groups. Adrenal epinephrine, however, was not. It was also shown that the cold stress significantly increased the brain norepinephrine concentration. The cold stress significantly induced higher content of brain serotonin than the grouped stress. However, the concentration of 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA), the metabolite of serotonin, was not significantly different among groups. Therefore, this results suggest that stress affects sympathetic neuronal activity, and fish oil might lighten the burden of stress. (*Korean J Nutrition* 29(5) : 472~479, 1996)

KEY WORDS : fish oil · stress · catecholamines · serotonin.

서 론

뇌는 비교적 외부요인에 영향을 적게 받는 조직이고, 신경세포는 다른 세포와는 달리 대부분 태아기 그리고 출생초기에 형성되고 재생이 불가능한 특징이 있다. 따라서 뇌의 발달시기에 영양필요량이 충족되지 않으면 발달은 저해된다.

한편 그 구성성분은 변화가 가능하여 성장기나 그 이후에도 식이지방의 종류에 따라 뇌조직의 지방산조성은 달라진다고 알려져 있다¹⁾. 그러나 정상발달된 부분은 뇌발

달후에 필수지방산 부족식을 공급하여도 크게 영향을 받지 않는다는 보고²⁾가 있으나 신경세포의 수가 확정된 성장기 이후 n-3계 지방산의 공급이 뇌조직에서 docosahexaenoic acid(C22 : 6, DHA) 함량을 증가시킨다는 보고³⁾도 있다. 신체조직중 뇌조직은 지방조직을 제외한 다른 어느 조직보다 지방함량이 많고 특히 지방산중 n-3계의 DHA가 많다⁴⁾. DHA는 함유식품을 먹거나, α -linolenic acid(C18 : 3, LNA)나 eicosapentaenoic acid(C20 : 5, EPA)와 같은 전구물질을 함유한 식품의 섭취에 의하여 체내에서 합성되어지므로 이의 섭취가 최근 에 대중적으로 권장되고 있는 실정이다.

한편 스트레스는 유기체와 환경사이의 항상성을 방해

채택일 : 1996년 4월 22일

하는 상황으로 정의되어진다⁶⁾. 또는 일반적으로 스트레스는 특정한 반응을 일으키게 하는 환경에서의 신체적 또는 심리적 자극을 의미한다고도 한다⁷⁾. 스트레스를 받으면 그 반응은 크게 시상하부-뇌하수체-부신(hypothalamic-pituitary-adrenal; HPA)구조와 교감-부신-수질(sympathetic-adrenal-medullary; SAM)구조를 자극하여 나타나며, SAM의 자극에 대한 역치는 HPA 자극에 대한 역치보다 낮아서 더 예민하다⁸⁾. 동물실험에서 보면, 유기체에 위협적으로 인식되고 유기체가 적응할 수 없는 환경 조건은 일시적이거나 장기적인 심리적 생리적 변화를 수반하기도 한다⁹⁾. 스트레스에 대한 반응은 호르몬의 분비를 자극하기도 하는데 호르몬의 반응은 스트레스의 정도와 스트레스를 받는 기간에 따라 다르다. 예를 들어 공포나 격정과 같은 급성적 스트레스는 혈청 catecholamines 수준을 1000배까지 늘리며 반면 천천히 지속적으로 주어지는 스트레스는 glucocorticoids 분비를 늘린다고 한다¹⁰⁻¹²⁾.

스트레스가 중추신경계에서 신경전달물질에 미치는 영향에 관한 연구는 최근까지 별로 이루어지지 않고 있는 실정이며 그 결과도 확실하지가 않다. 신경전달물질 중 catecholamines의 경우 스트레스가 norepinephrine 농도를 증가 또는 감소시킨다는 보고가 있으며 dopamine과 epinephrine 농도에 미치는 영향은 확실하지 않다는 보고들¹³⁻¹⁶⁾이 있다. 그리고 serotonin은 신경전달물질이면서 다양한 면역 반응을 조정하는 면역조정자인데 뇌중 serotonin 농도의 경우에는 뚜렷한 변화가 나타나지 않았으나 일반적으로 그 대사산물인 5-hydroxyindoleacetic acid(5-HIAA) 농도는 증가하는 경우가 많아서 스트레스에 의하여 serotonin의 대사회전율은 증가한다고 알려지고 있다¹⁷⁻¹⁹⁾.

사회심리적 스트레스는 또한 지방산 대사에도 영향을 미치는데, 스트레스에 의한 catecholamine 수준의 증가에 의하여 필수지방산 대사과정에서 $\Delta 5$ 와 $\Delta 6$ desaturation이 방해를 받는 것을 볼 수 있다^{20,21)} 그리고 γ -LNA(18 : 3, n-6)와 EPA가 흰쥐를 대상으로한 동물실험에서 사회적 격리에서 오는 스트레스 반응을 완화시키는 효과가 있으며^{22,23)} 인간의 경우에도²⁴⁾ 심리적 스트레스에 의한 고혈압을 γ -LNA가 내리는 작용을 하였다고 한다.

그러므로 본 연구에서는 인간은 사회적인 동물이기 때문에 사람과 사람간의 접촉에서 많은 스트레스를 받기도 하며 발달된 사회적 생활 환경에서 심리적 자극을 받기도 하므로 집단스트레스와 동물실험에서나 가능한 소외된 환경의 스트레스를 비교하고 찬물에 잠깐 담그는 심한 스트레스를 가하여 장단기적 그리고 종류별 스트레스

가 신경전달물질에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다. 또한 지방산조성이 다른 식이지방의 섭취가 중추신경계에서 스트레스에 반응한 신경전달물질인 catecholamines와 serotonin 수준에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물

본 연구에서 사용한 실험동물은 이우한 Sprague-Dawley종 수컷 흰 쥐로, 일주일간 고형배합사료(삼양 유지사료)를 주면서 한장에 2마리씩 넣어 환경에 적응시킨후 체중이 평균 171±3g에 달했을때 난과법으로 7마리씩 9군으로 나누어 7주간 사육하였다. 식이를 지방급원을 3가지로 달리하였고 각 식이군마다 3종류의 스트레스를 각기 가하여 9군으로 하였다. 사육실의 온도는 20±2℃, 상대습도는 65±5%를 유지하고 매일 광주기와 암주기를 12시간이 되도록 빛을 조절하였다. 그리고 식이와 물은 무제한 공급하였다.

2. 실험식이

실험식은 AIN-93G의 식이 조성²⁵⁾을 기본으로 하여 식이무게의 7%(열량의 약14%)에 해당하는 지방을 어유와 대두유, 쇠기름의 3가지로 각기 달리하였다. 이를 위해 사용된 지방은 EPA 15.5%, DHA 28.4%인 정제 어유(고합바이오주식회사, P/S 1.79, n-6/n-3 0.08), 대두유(해표, P/S 3.82, n-6/n-3 10.09), 쇠기름(롯데삼강, P/S 0.15, n-6/n-3 10.40)이었다. 본 실험에 사용한식이의 조성은 Table 1와 같다.

3. 스트레스 방법

실험동물에게 주는 스트레스는 3가지로 나누어 실시하였다. 첫째, 보통의 stainless steel cage(220×195

Table 1. Composition of diets (g/kg diet)

Ingredient	(g/kg diet)
Cornstarch	529.5
Casein(≥85% protein)	200.0
Sucrose	100.0
Lipid ¹⁾	70.0
Fiber	50.0
Mineral mix(AIN-93G-MX) ²⁾	35.0
Vitamin mix(AIN-93G-VX)	10.0
L-cystine	3.0
Choline bitartrate	2.5

- 1) Fish oil, soybean oil or beef tallow depending on experimental groups
- 2) Mineral and vitamin mixes were the same as reported by Reeves et al.²⁵⁾

×300mm)에 각각 한마리씩 분리 사육하는 고립스트레스(isolated stress), 들췌는 쳇바퀴, 미끄럼, 시이소, 그네, 사다리등 각종 놀이 기구가 설치되어 있는 장(600×900×580mm)에 7마리씩 함께 넣어 집단으로 사육함으로써 사회적 상호접촉을 갖게 한 집단스트레스(grouped stress)로서 이 방법은 만성적이고 가벼운 스트레스(chronic & mild stress)로 실시하였으며, 세째는 첫번째와 같은 방법으로 고립시켜 사육하였는데 실험이 끝나기 3일전에 5분간 7℃의 찬물에 목까지 잠기게 담궜다가 꺼내었으며 실험 마지막 날 다시 7℃의 찬물에 5분간 담궜다가 꺼내는 한냉스트레스(cold stress)로서 급성적이고 심한 스트레스(acute & severe stress)방법으로 사용하였으며 스트레스를 주고 15분뒤에 희생시켰다.

4. 식이섭취량 및 체중 측정

식이섭취량은 매일 일정한 시간에 측정하였으며, 체중은 1주일 에 한번 일정한 시간에 식이섭취에서 오는 갑작스런 체중의 변화를 막기 위해 밥그릇을 빼준 두시간 후에 측정하였다. 또한 1주일간의 체중 증가량을 같은 기간에 섭취한 식이량으로 나누어 식이효율(Food Efficiency Ratio, FER)을 산출하였다.

5. 각종 장기 및 혈액 채취

실험 동물은 희생전날 밥그릇을 꺼내어 12시간 굶긴 후에 당일 단두기로 희생시켰다. 경맥혈에서 혈액을 채취하고 뇌는 즉시 꺼내어 dry ice에 넣고 냉동보관 하였다. 채취한 혈액은 헤파린이 처리된 튜브(VACUTA-INNER, Becton Dickinson Co.)에 넣어 실온에서 30분간 방치한후 1,100p.m.에서 20분간 원심분리하여 혈장을 얻었으며 corticosterone 분석시까지 냉동보관하였다. 뇌, 부신, 간, 비장, epididymal fat pad(EFP)는 떼어서 무게를 측정하였다.

6. Catecholamines와 serotonin 측정

Catecholamine과 serotonin의 측정은 Reinhard등의 방법²⁶⁾을 변형하여 측정하였다. 부신과 뇌를 측정시료로 삼아 5ml의 0.1N HClO₄에 0.4ml의 ascorbic acid 용액이 들어있는 시험관에 넣어 균질화 시켰다. 이 균질용액에 epinine 20μ를 internal standard로 넣고 4,500r.p.m.에서 20분간 원심분리시킨후 상층부를 syringe에 넣어 0.45μm filter(MILLEX-HV)로 여과시켜 15μ를 high performance liquid chromatography(Waters Millipore), Bondapak C₁₈ Column : 3.9×300mm)에 inject하였다. 검출은 Electro Chemical Detector를 사용하였다. Mobile phase는 10%

methanol과 90% 0.1mM Na₂ EDTA와 0.25mM sodium octyl sulfate를 포함하는 0.07M sodium phosphate buffer, pH 4.5를 사용하였고 flow rate는 1ml/min로 조정하였다.

7. Corticosterone 측정

Double Antibody Corticosterone I²⁵ RIA kit (ICN Biomedicals, Inc.)를 사용하여 γ-counter(Co-bra 5000, Packard Co.)로 분석하였다.

8. 자료의 처리

본 연구의 모든 실험 결과는 각 실험군의 평균치와 표준오차로 계산하였다. 다만 집단스트레스군의 식이 섭취량은 실험동물 각각의 섭취량을 측정할 수 없어서 전체의 섭취량을 측정하여 마리수로 나눈 평균값으로 계산하였고 식이 효율도 평균값만 제시하였다. 각 실험군의 평균치간의 유의성은 Duncan's multiple range test에 의하여 그리고 식이와 스트레스의 효과는 2-way ANOVA에 의해 α=0.05 수준에서 분석하였다.

실험 결과

1. 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율

본실험 7주간의 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율은 Table 2에 제시하였다. 집단스트레스군의 식이섭취량과 식이효율은 개별적 섭취량을 측정할 수 없어서 유의성 검증을 할 수 없었다. 그러므로 실험동물 각각의 식이섭

Table 2. Effect of dietary lipids and stress on food intake, body weight gain and food efficiency ratio(FER) in rats¹⁾

Group ²⁾	Food intake (g/week)	Weight gain (g/week)	FER
FI	128.1±14.5	30.0±1.8	0.20±0.03
FC	127.0± 8.2	31.3±2.7	0.22±0.02
FG	141.2	35.7±2.1	0.26
SI	158.0±19.8	37.4±3.9	0.24±0.02
SC	142.3± 4.1	36.5±2.0	0.25±0.01
SG	137.7	35.8±4.0	0.25
BI	138.6±15.9	33.8±5.4	0.17±0.05
BC	159.8± 8.7	37.7±1.5	0.24±0.01
BG	149.0	35.2±4.2	0.24

1) Values of FI, FC, SI, SC, BI, BC groups are means±SEM and are not significantly different at the α=0.05 level by Duncan's multiple range test among the groups. Values of FG, SG and BG groups are means.

2) Group abbreviations : F fish oil, S soybean oil, B beef tallow, I isolated stress, C cold stress, G grouped stress.

Table 3. Effect of dietary lipids and stress on organ weights in rats¹⁾

Group ²⁾	Brain(g)	Adrenal(mg)	Liver(g)	Spleen(g)	Epididymal fat pad(g)
FI	1.82±0.06 ^b	91±5 ^a	9.89±0.78	0.75±0.06 ^a	4.60±0.59 ^b
FC	1.85±0.02 ^{ab}	66±4 ^{bc}	9.95±0.61	0.60±0.06 ^{abc}	5.74±0.66 ^{ab}
FG	1.95±0.05 ^a	62±4 ^{bc}	11.11±0.44	0.65±0.04 ^{ab}	5.58±0.43 ^{ab}
SI	1.93±0.04 ^{ab}	72±3 ^b	10.59±1.10	0.65±0.11 ^{ab}	7.92±1.59 ^{ab}
SC	1.92±0.03 ^{ab}	64±3 ^{bc}	10.63±0.69	0.45±0.06 ^c	7.25±0.83 ^{ab}
SG	1.95±0.03 ^a	55±3 ^c	11.47±1.32	0.61±0.04 ^{abc}	8.19±1.35 ^{ab}
BI	1.85±0.02 ^{ab}	59±5 ^c	10.16±1.04	0.69±0.03 ^{ab}	7.85±1.88 ^{ab}
BC	1.88±0.03 ^{ab}	57±4 ^c	10.14±0.53	0.52±0.03 ^{bc}	8.82±0.82 ^a
BG	1.94±0.04 ^{ab}	57±5 ^c	10.69±0.94	0.54±0.07 ^{bc}	8.16±1.15 ^{ab}
Significant factor ³⁾	S	F,S,FS		S	F

1) Values are means±SEM. Values with different superscripts are significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test among groups.

2) Group abbreviations : F fish oil, S soybean oil, B beef tallow, I isolated stress, C cold stress, G grouped stress.

3) Statistical significance was calculated at the $\alpha=0.05$ level by 2-way ANOVA.

F : effect of food S : effect of stress

FS : effect of interaction between food and stress

취량을 측정할 수 있었던 실험군간의 유의성을 살펴보았는데 유의적 차이가 나타나지 않았으며 체중증가량도 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 그리고 식이효율도 유의한 차이가 없었다.

2. 장기무게

실험동물의 장기별 무게는 Table 3에 제시하였다.

뇌무게는 스트레스의 영향이 나타나서 집단스트레스군이 같은 식이를 제공받은 고립스트레스군과 한냉스트레스군에 비하여 무거운 경향이였으며 FG와 SG군은 FI군에 비하여 유의적으로 무거웠다.

부신의 무게는 식이와 스트레스 두가지 모두의 영향을 받는 것으로 나타나서 고립스트레스를 받은 군이 가장 무거웠고 특히 어유를 공급받고 고립된 환경에서 자란 FI군은 다른 모든 실험군에 비하여 부신이 유의적으로 무거웠다. 스트레스 종류별로 볼때 고립스트레스군이 가장 부신무게가 컸고, 그 다음 한냉스트레스, 집단스트레스의 순서였으며 식이 종류별로 보면 어유군이 가장 무겁고 그 다음 대두유군, 우지군의 순서였다. 간은 식이와 스트레스 모두 영향이 나타나지 않았다. 비장의 무게는 부신과 비슷한 경향을 보였으며 스트레스의 영향을 유의적으로 받는 것으로 나타났다. FI군이 유의적으로 다른 실험군에 비해 무거웠으며 고립 스트레스를 받은 군이 가장 무거웠고 한냉스트레스를 받은 군이 가장 가벼운 경향을 나타내었다. 부고환지방 무게는 식이의 영향이 나타나서 어유군이 가장 가벼웠고 특히 FI군은 BC군과 비교하여 유의적으로 가벼웠다.

3. 혈장에서의 corticosterone 농도

혈장에서의 corticosterone의 농도는 Table 4에 제시하였으며 스트레스의 영향이 뚜렷이 나타났다. 고립스트

Table 4. Effect of dietary lipids and stress on plasma corticosterone concentration in rats¹⁾(ng/ml)

Group ²⁾	Corticosterone
FI	60.8±19.6 ^d
FC	580.4±14.7 ^a
FG	246.0±21.4 ^c
SI	123.8±67.6 ^d
SC	476.1±47.4 ^b
SG	315.3±25.7 ^c
BI	81.0±16.9 ^d
BC	516.3±20.5 ^{ab}
BG	336.0±33.1 ^c
Significant factor ³⁾	S,FS

1) Values are means±SEM. Values with different superscripts are significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test among groups.

2) Group abbreviations : F fish oil, S soybean oil, B beef tallow, I isolated stress, C cold stress, G grouped stress.

3) Statistical significance was calculated at the $\alpha=0.05$ level by 2-way ANOVA.

S : effect of stress

레스를 받은 실험군들이 corticosterone 농도가 가장 낮게 나타나고 한냉스트레스를 받은 실험군들이 가장 높게 나타났다. 사회적 접촉과 심리적 자극을 준 집단스트레스를 만성적이고 가벼운 스트레스로, 그리고 한냉스트레스를 급성적이고 심한 스트레스로 가정하였던 것과 일치하는 결과를 보였다.

4. 부신과 뇌중 catecholamines 농도

부신에서 합성되는 catecholamines는 신경세포에서 대부분 재흡입되지 않고 방출되므로 부신과 뇌중 농도를 측정하였는데 부신의 catecholamines 농도는 Table 5, 그리고 뇌중 농도는 Table 6에서와 같다. 특히 NE농도

가 식이와 스트레스의 영향이 뚜렷하여 실험군간의 비교를 위하여 Fig. 1에 제시하였다.

부신의 epinephrine 농도는 식이와 스트레스의 영향이 나타나지 않았다. 반면, NE는 스트레스와 식이의 영향이 모두 나타났다. 고립스트레스군이 한냉스트레스나 집단스트레스군에 비해 낮은 경향이었고 어유군에서는 FI군이 FC와 FG군에 비하여 유의적으로 낮았다. 그리

Table 5. Effect of dietary lipids and stress on adrenal catecholamine concentration in rats¹⁾ (µg/mg)

Group ²⁾	Epinephrine	Norepinephrine	Dopamine
FI	117.7±17.3 ^b	393.0±44.0 ^c	39.54±12.12 ^{ab}
FC	190.8±25.2 ^{ab}	671.8±62.3 ^{ab}	70.27±11.63 ^{ab}
FG	165.9±25.8 ^{ab}	550.2±42.5 ^b	70.08±12.77 ^{ab}
SI	157.5±20.2 ^{ab}	536.1±40.6 ^{bc}	50.91± 8.55 ^{ab}
SC	166.6±27.9 ^{ab}	558.9±53.0 ^b	71.34±13.94 ^{ab}
SG	187.8±11.6 ^{ab}	689.5±37.0 ^{ab}	36.34± 8.02 ^b
BI	197.9±22.7 ^a	619.4±55.9 ^{ab}	52.38± 7.82 ^{ab}
BC	185.6±27.3 ^{ab}	726.5±59.8 ^a	77.87±18.39 ^a
BG	202.5±29.2 ^a	639.5±64.1 ^{ab}	49.11±10.25 ^{ab}

Significant factor³⁾ F,S,FS S

- 1) Values are means±SEM. Values with different superscripts are significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test among groups.
- 2) Group abbreviations : F fish oil, S soybean oil, B beef tallow, I isolated stress, C cold stress, G grouped stress.
- 3) Statistical significance was calculated at the $\alpha=0.05$ level by 2-way ANOVA.
F : effect of food S : effect of stress
FS : effect of interaction between food and stress

Table 6. Effect of dietary lipids and stress on brain catecholamine concentration in rats¹⁾ (µg/mg)

Group ²⁾	Epinephrine	Norepinephrine	Dopamine
FI	378.0±66.0 ¹⁾	1772±273 ^{ab}	797.1±99.8
FC	297.6±34.2	2009±345 ^{ab}	785.3±20.4
FG	286.5±11.8	1535±56 ^b	694.1±36.5
SI	345.9±63.0	1694±227 ^{ab}	802.1±76.4
SC	274.0±20.2	2424±288 ^a	776.3±98.1
SG	322.2±48.9	1758±184 ^{ab}	703.0±58.8
BI	332.2±33.1	1763±186 ^{ab}	723.2±51.0
BC	356.2±77.4	2278±258 ^a	794.5±63.8
BG	349.0±47.1	2211±227 ^{ab}	796.4±67.6

Significant factor³⁾ S

- 1) Values are means±SEM. Values with different superscripts are significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test among groups.
- 2) Group abbreviations : F fish oil, S soybean oil, B beef tallow, I isolated stress, C cold stress, G grouped stress.
- 3) Statistical significance was calculated at the $\alpha=0.05$ level by 2-way ANOVA.
S : effect of stress.

고 FC군이 FG군에 비하여 높은 경향이고 BC군도 BG군에 비하여 높은 경향이어서 어유와 쇠기름의 섭취 시에 집단스트레스에 비하여 한냉스트레스가 NE 농도를 더 높이는 것으로 나타났다. 또한 식이의 영향도 있어 쇠기름군이 어유군과 대두유군에 비해 대체로 그 농도가 높았고 어유군보다는 대두유군이 다소 높은 경향이였다. Dopamine은 FC군이 SG군에 비하여 유의적으로 높았으며 스트레스의 유의적 영향이 나타났다. 세 식이군 모두에서 한냉스트레스를 받은 실험군이 가장 부신의 dopamine농도가 높았다.

뇌중 catecholamines 농도는 epinephrine과 dopamine은 통계적 유의성이 나타나지 않았으며 NE는 스트레스의 영향이 나타났다. Epinephrine 농도는 SC군이 가장 낮았고 FI군이 가장 높았으나 유의적 차이는 아니었으며, dopamine 농도도 식이와 스트레스의 유의적 영향이 나타나지 않았다. NE은 세 종류의 식이군 모두에서 한냉스트레스를 받은 군이 다른 스트레스군에 비하여 농도가 높았다. 특히 SC군과 BC군은 FG군에 비하여 유의적으로 NE의 농도가 높아서 한냉스트레스가 집단 스트레스에 비하여 더 심한 스트레스임을 보였다.

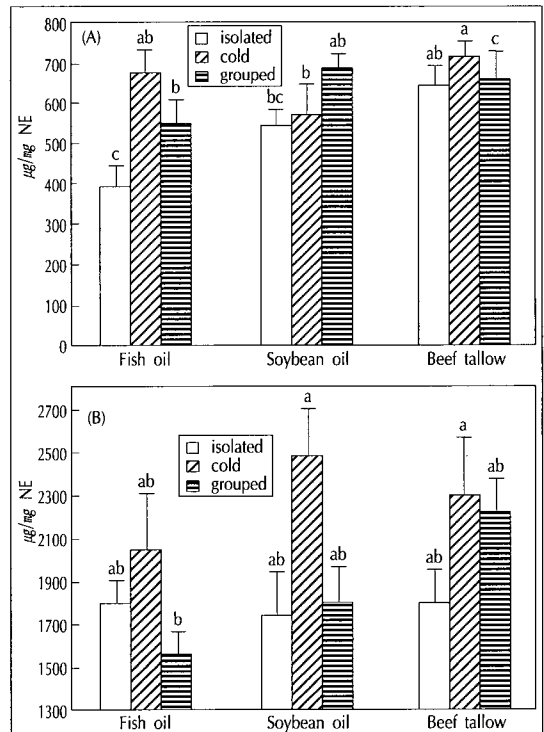


Fig. 1. Effect of dietary lipids and stress on NE level in adrenal(A) and brain(B). Bars are means±SEM. Values with different superscripts are significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test among groups.

Table 7. Effect of dietary lipids and stress on brain serotonin concentration in rats¹⁾ ($\mu\text{g}/\text{mg}$)

Group ²⁾	5HT	5HIAA	5HT+5HIAA
FI	0.731 \pm 0.099 ^a	0.808 \pm 0.141	1.54 \pm 0.23 ^a
FC	0.605 \pm 0.028 ^{ab}	0.731 \pm 0.044	1.34 \pm 0.07 ^{ab}
FG	0.550 \pm 0.017 ^b	0.732 \pm 0.031	1.28 \pm 0.03 ^{ab}
SI	0.569 \pm 0.034 ^{ab}	0.661 \pm 0.059	1.23 \pm 0.09 ^{ab}
SC	0.679 \pm 0.074 ^{ab}	0.694 \pm 0.053	1.37 \pm 0.12 ^{ab}
SG	0.504 \pm 0.031 ^b	0.618 \pm 0.049	1.12 \pm 0.08 ^b
BI	0.571 \pm 0.053 ^{ab}	0.559 \pm 0.060	1.13 \pm 0.11 ^{ab}
BC	0.672 \pm 0.062 ^{ab}	0.671 \pm 0.030	1.34 \pm 0.08 ^b
BG	0.587 \pm 0.053 ^{ab}	0.707 \pm 0.072	1.29 \pm 0.11 ^{ab}

1) Values are means \pm SEM. Values with different superscripts are significantly different at the $\alpha=0.05$ level by Duncan's multiple range test among groups.

2) Group abbreviations : F fish oil, S soybean oil, B beef tallow, I isolated stress, C cold stress, G grouped stress.

5. 뇌중 serotonin 농도

뇌중 serotonin과 그 대사물인 5-HIAA의 농도는 Table 7에 제시하였다. 뇌중 serotonin의 농도는 모든 실험군중 FI군이 가장 높았으며 그 다음이 SC, BC, FC의 순서였다. 또한 세가지 식이지방군중 집단스트레스를 받은 FG, SG, BG군이 같은 식이군에서 가장 serotonin 농도가 낮았으며 FI군은 FG와 SG군에 비하여 유의적으로 serotonin 농도가 높았다. 즉, 한냉스트레스를 받은 군이 집단스트레스군에 비하여 뇌중 serotonin 농도가 높은 것으로 나타났다. 5-HIAA의 농도는 실험군간에 유의적 차이가 없었다. 그리고 serotonin과 그 대사물질인 5-HIAA의 농도를 합해보았을 때 FI군은 다른 실험군에 비하여 그 농도가 매우 높았다.

고찰 및 결론

교감신경계를 자극하고 부신수질의 분비를 늘리게 하는 주요 자극인자는 신체적 운동, 순환부전, 외상, 찬온도에 노출, 통증, 정서적 불안, 저혈당증 등을 들 수 있다²⁷⁾. 본 실험에서 한냉스트레스를 받은 실험군이 각 장에 한마리씩 들어 있었던 실험군에 비하여 6배 정도, 집단스트레스군에 비하여 3~4배 정도 혈장내 corticosterone 농도가 높았다. 즉, 5분간 7°C의 찬물에 담그는 경우가 매우 강한 스트레스가 되며 지속적인 집단사육의 경우에도 비록 놀이기구를 넣어주고 환경을 보충해준다고는 하지만 상당한 긴장감을 유발함을 알 수 있었다. Paris등²⁸⁾은 급성적 스트레스를 준 후 스트레스가 corticosterone 수준에 가장 영향을 미치는 시기가 언제인지를 알고자하여 찬물에 담그거나, 구금을 하거나, 또는 발에 전기충격을 주고 corticosterone 수준을 측정하였

더니 20분후에 최대치에 도달하였다가 30~60분내에 원래 수준으로 되돌아 갔다고 한다. 따라서 본 실험에서 흰쥐를 찬물에 5분간 담겼다 15분뒤에 희생시켰으므로 corticosterone의 최대수준에서 다른 분석물질들을 해석 가능하다고 본다.

Catecholamines는 신경충격에 의해 신경말단에서 유리되며 수용체에서 작용하고 대부분은 신속하게 신경말단에서 재흡입된다. 재흡입은 신경계뿐 아니라 부신수질에서도 일어난다. 스트레스의 종류에 따라 뇌중 catecholamines의 농도에 관한 연구결과는 차이가 있다. 일반적으로 스트레스는 NE농도를 감소시키고 NE회전은 증가시킨다고 하지만 스트레스가 dopamine(DA)과 epinephrine의 합성과 회전에 어떠한 영향을 미치는지는 아직 확실하지 않다. 뇌중 DA농도가 변화하지 않았다는 보고¹³⁾도 있고 회전율이 증가¹⁴⁾ 또는 감소하였다는 보고¹⁵⁾¹⁶⁾도 있다. De Souza와 Vanloon²⁹⁾은 구금 스트레스가 뇌수체의 부위별 catecholamine 농도에 어떠한 영향을 주는지를 연구하였는데, 2분간 구금스트레스를 주고 5분뒤에 측정하였더니 시상하부에서 NE농도는 감소하였고 DA농도는 증가하였다고 보고하였다. 이는 결국 스트레스가 noradrenergic neuron으로부터 NE 방출을 증가시켰음을 의미한다. 그리고 15분후에 NE 수준은 스트레스를 주기전의 수준으로 증가하였음은 늘어난 NE 방출을 보상하기 위해 NE합성도 증가하였음을 뜻한다. 마찬가지로 본 실험에서도 한냉스트레스에 의하여 NE와 DA농도가 증가하였으므로 스트레스가 catecholamine 합성을 늘리는 것으로 볼 수 있다.

한편 부신의 catecholamines 농도를 보면 Kretznusky와 Mikulaj³⁰⁾는 의하면 부신의 epinephrine 농도가 구금 90분후와 240분후에 감소하였다. 급성적 스트레스후 부신내 epinephrine 수준의 감소는 부신선에서 epinephrine의 방출이 증가하였기 때문인데, 이와 같이 NE의 회전율이 빨라져서 스트레스에 의하여 NE합성이 증가함에도 불구하고 합성량보다 방출량이 많으면 그 수준이 낮은 현상이 나타난다.

뇌중 NE 방출의 증가는 ACTH분비를 조절하는 과정에서 중추신경계의 noradrenergic 신경세포에서 어떠한 저해구조가 있어서, ACTH 분비를 증가시키기 위한 NE 방출량의 증가라는 보상반응으로도 생각할 수 있다. NE 농도가 증가하였으므로 catecholamine 합성과 방출은 늘어났으리라고 생각된다. 본 실험에서 개인장에서 혼자 지낸 실험군들이 다른 실험군들에 비하여 부신에서 NE와 epinephrine 농도가 낮았으며, 뇌에서는 NE 농도가 한냉 스트레스를 받은 실험군들보다 높았고 스트레스의 유의적 영향이 나타났으나 epinephrine과 dop-

amine의 농도차이는 없었다. 그러므로 부신에서는 많은 양의 catecholamine이 방출되었으며, 뇌에서는 급성적이며 심한 스트레스에서 NE의 합성량이 많았고 회전속도가 상대적으로 느렸지 않았나 생각된다. 그리고 식이는 스트레스와 관련되는 신경전달물질의 수준에 영향을 미치고 스트레스는 필수지방산 대사에 관여하는 것으로 알려져 있다. 교감신경계는 식이섭취량의 변화에 따라 반응하여 단기간의 급식이나 저열량식은 NE 회전을 감소시킨다는 보고³¹⁾가 있고 반면에 설량의 섭취나 장기간의 식이제한은 오히려 교감신경계를 자극하여 NE 회전을 증가시킨다는 보고^{32,33)}도 있다. 식이지방의 경우에서도 Mills와 Ward²²⁾(34)는 식이로 γ -LNA와 EPA를 첨가해 주면 스트레스 반응을 완화하는 효과를 볼 수 있었으나 LA(18:2, n-6)와 α -LNA(18:3, n-3)는 아무런 반응을 나타내지 않았다고 밝혔다. 즉, 필수지방산의 대사 경로에서 LA가 γ -LNA가 되는 과정에 관여하는 $\Delta 6$ desaturase와 20:3이 20:4로 되는 과정에 관여하는 $\Delta 5$ desaturase 활성이 스트레스에 의하여 저해됨을 알 수 있다. $\Delta 5$ 와 $\Delta 6$ desaturase는 cortisol이나 NE를 in vitro에서 첨가하여도 방해 받으며²¹⁾ 특히 $\Delta 6$ desaturase의 활성이 $\Delta 5$ 에 비하여 현저히 감소한다²⁰⁾. 이는 결국 필수지방산의 대사가 원활하게 진행되지 않음을 뜻한다. 그러므로 본 실험에서 뇌중 NE수준이 한냉스트레스나 집단스트레스를 받았을 때 어유를 섭취한 군이 대두유나 쇠기름을 섭취한 군에 비하여 낮은 이유가 위의 효소 활성이 스트레스에 의하여 낮아져 eicosanoids 합성이 적지만 어유군이 EPA 섭취가 많아 지방대사가 훨씬 잘 이루어졌음을 의미한다. 따라서 스트레스에 의하여 LA가 eicosanoids에 의존하는 어떤 기능이 손상되고 관련되는 질병이 발생할 가능성도 생각해 볼 수 있을 것이다.

신경전달물질중 serotonin의 관계를 보면, 구급스트레스를 주고 1시간 뒤에 희생시켜 뇌에서 5-HT와 5-HIAA 농도를 측정하였더니¹⁸⁾ 약 10%씩 증가하였는데 2시간째에는 5-HT는 감소하였으나 5-HIAA는 5시간째 까지도 계속 증가하였다. 즉, 스트레스에 의하여 5-HT의 합성이 증가하였고 5-HIAA로의 전환도 늘어나서 대사회전율이 빨라졌음을 의미한다. 한편 구급스트레스를 2분간 반복하였을 때 5-HT와 5-HIAA의 반응이 증가하였고도 한다²⁹⁾. Mueller 등³⁰⁾도 구급스트레스를 주었더니 뇌중 5-HT 농도가 증가하였고 5-HIAA도 구급스트레스를 받은 후 5분과 1~2시간에도 유의적으로 증가하였고 보고하였다. 한편, 흰쥐에게 스트레스를 주었을 때 5-HT는 변화가 없었으나 그 대사산물인 5-HIAA 농도는 증가하였으며 이는 serotonergic 신경세포의 활성증가에 의하여 5-HT의 방출과 이용이 증가한 탓이라는 보고

들^{36,37)}도 있다. 본연구에서 스트레스의 정도가 가장 심한 한냉스트레스를 받은 실험군들이 같은 식이군에서는 5-HT 농도가 높았으므로 스트레스에 의하여 5-HT의 합성이 늘어남을 알 수 있었다. 그러나 집단 스트레스나 고립 스트레스간에는 5-HT 농도가 차이가 없었으며 5-HIAA 농도도 실험군간 유의한 차이가 없었다. 그리고 식이지방의 종류에 따른 영향은 나타나지 않았다. 그러므로 본 연구에서 지방산 조성이 다른 식이지방의 섭취와 스트레스가 catecholamines와 serotonin 수준에 미치는 영향을 살펴보았는데, 부신과 뇌에서 catecholamines중 NE의 농도가 스트레스에 의하여 유의적으로 증가함을 알 수 있었다. 혈중 cortisol수준에서 짐작해 볼 수 있듯이 HPA축을 통한 자극뿐 아니라 SAM구조에서 교감신경이 자극을 받아 활성이 증가하고 결국 NE 합성을 증가하였다. 이러한 스트레스에 의한 NE 농도의 증가는 어유섭취에 의하여 감소되어질 수 있으므로 스트레스를 많이 받는 상황에서는 어유섭취가 필수지방산의 대사를 보완할 수 있는 한 방안이 될 수 있을 것이다.

Literature cited

- 1) Bazan NG. Supply of n-3 polyunsaturated fatty acids and their significance in the central nervous system. In : Wurtman RJ, Wurtman JJ, eds. *Nutrition and the Brain* vol. 8. 1-25, Raven Press Ltd. 1990
- 2) Hargreaves KM, Clandinin MT. Dietary control of diacylphosphatidylethanolamine species in brain. *Biochim Biophys Acta* 962 : 98-104, 1988
- 3) Bourre JM, Dounel M, Dumont O, Piciotti M, Nalboug G, Lanfont H. High dietary fish oil alters the brain polyunsaturated fatty acid composition. *Biochim Biophys Acta* 960 : 458-460, 1988
- 4) Crawford MA. The role of dietary fatty acids in biology : Their place in the evolution of the human brain. *Nutr Rev* 50 : 4-11, 1992
- 5) Sanders TAB, Mistry M, Naismith DJ. The influence of a maternal diet rich in linoleic acid on brain and retinal docosahexaenoic acid in the rat. *Br J Nutr* 51 : 57-66, 1984
- 6) Kissebah AH. 'Stress' hormones and lipid metabolism. *Proc Roy Soc Med* 67 : 665-667, 1974
- 7) Ader R, Cohen N. Psychoneuroimmunology : Conditioning and stress. *Ann Rev Psychol* 44 : 53-85, 1993
- 8) Malarkey WB, Lipkus IM, Cacioppo JT. The dissociation of catecholamine and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to daily stressors using dexamethasone. *J Clin Endocrinol Metab* 80 : 2458-2463, 1995
- 9) 김선희. 스트레스와 질병, 면역, 그리고 영양과의 관계. 식품영양정보 제 5 호, 1994

- 10) Rivier C, Bruhn T, Vale W. Effect of ethanol on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat : Role of corticotropin-releasing factor (CRF). *J Pharmacol Exp Ther* 229 : 127-131, 1984
- 11) Kvetnansky R, Fukuhara K, Pacak K, Cizza G, Goldstein DS, Kopin IJ. Endogenous glucocorticoids restrain catecholamine synthesis and release at rest and during immobilization stress in rats. *Endocrinology* 133 : 1411-1419, 1993
- 12) Makino S, Gold PW, Schulkin J. Corticosterone effects on corticotropin-releasing hormone in RNA in the central nucleus of the amygdala and the parvocellular region of the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Brain Res* 640 : 105-112, 1994
- 13) Gordon R, Spector S, Sjoerdsma A, Udenfriend S. Increased synthesis of norepinephrine and epinephrine in the intact rat during exercise and exposure to cold. *J Pharmacol Exp Ther* 153 : 440-447, 1966
- 14) Bliss EL, Ailion J, Zwanziger J. Metabolism of norepinephrine, serotonin and dopamine in rat brain with stress. *J Pharmacol Exp Ther* 164 : 122-134, 1968
- 15) Corrodi H, Fuxe K, Lidbrink P, Olson L. Minor tranquilizers, stress and central catecholamine neurons. *Brain Res* 29 : 1-16, 1971
- 16) Rogers MP, Trentham DE, Dynesius RA, Reich P, David JR. Exacerbation of type II collagen-induced arthritis by auditory stress. *Clin Res* 28 : 508A, 1980
- 17) Choquet D, Korn H. Dual effects of serotonin on a voltage-gated conductance in lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 85 : 4557-4561, 1988
- 18) Curzon G, Green AR. Regional and subcellular changes in the concentration of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in the rat brain caused by hydrocortisone, DL- α -methyl-tryptophan 1-kynurenine and immobilization. *Br J Pharmacol* 43 : 39-52, 1971
- 19) Torrellas A, Guaza C, Borrell J, Borrell S. Adrenal hormones and brain catecholamines responses to morning and afternoon immobilization stress in rats. *Physiol Behav* 26 : 129-133, 1980
- 20) Mills DE, Huang YS, Narce M, Paison JP. Psychosocial stress, catecholamines and essential fatty acid metabolism in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 205 : 56-61, 1994
- 21) De Gomez Dumm INT, de Alaniz MJT, Brennev RR. Effect of catecholamines and beta blockers on linoleic acid desaturation activity. *Lipids* 13 : 649-652, 1978
- 22) Mills DE, Ward RP. Effects of eicosapentaenoic acid on cardiovascular responses to stress. *Proc Soc Exp Biol Med* 182 : 127-131, 1986
- 23) Mills DE, Summers MR, Ward RP. Gamma linoleic acid attenuates cardiovascular responses to stress in borderline hypertensive rats. *Lipids* 20 : 573-577, 1985
- 24) Mills DE, Prkachin KM, Harvey K, Ward RP. Dietary fatty acid supplementation alters stress reactivity and performance in man. *J Human Hypertension* 3 : 11-116, 1989
- 25) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents : Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123 : 1939-1951, 1993
- 26) Reinhard JF, Monkowitz MA, Sved AF, Fernstrom JD. A simple, sensitive and reliable assay for serotonin and 5-HIAA in brain tissue using liquid chromatography with electrochemical detection. *Life Sci* 27 : 905-911, 1980
- 27) Shils ME, Olson JA, Shike M. Modern Nutrition in health and disease. Lea & Febiger. 8th ed., pp615-617, 1994
- 28) Paris JM, Lorens SA, Van de kar LD, Urban JH, Richardson-Morton KD, Bethea CL. A comparison of acute stress paradigms : Hormonal responses and hypothalamic serotonin. *Physiol Behav* 39 : 33-43, 1987
- 29) De Souza EB, Vanloon GR. Brain serotonin and catecholamine responses to repeated stress in rats. *Brain Res* 367 : 77-86, 1986
- 30) Kretnausky R and Mikulaj L. Adrenal and urinary catecholamines in rats during adaptation to repeated immobilization stress. *Endocrinology* 87 : 738-473, 1970
- 31) Young JB, Landsberg L. Suppression of sympathetic nervous system during fasting. *Science* 196 : 1473-1475, 1977
- 32) Young JB, Landsberg L. Stimulation of the sympathetic nervous system during sucrose feeding. *Nature* 269 : 615-617, 1977
- 33) Kim SW, Yu BP, Sanderford M, Herlihy JT. Dietary restriction modulates the norepinephrine content and uptake of the heart and cardiac synaptosome. *Proc Soc Exp Biol Med* 207 : 43-47, 1994
- 34) Mills DE, Ward RP. Effects of essential fatty acid administration on cardiovascular responses to stress in the rat. *Lipids* 21 : 139-142, 1986
- 35) Mueller GP, Twohy CP, Chen HT, Advis JP, Meites J. Effects of L-tryptophan and restraint stress on hypothalamic and brain serotonin turnover, and pituitary TSH, and prolactin release in rats. *Life Sci* 18 : 715-724, 1976
- 36) Kennett GA, Joseph MH. The functional importance of increased brain tryptophan in the serotonergic response to restraint stress. *Neuropharmacol* 20 : 39-41, 1981
- 37) Curzon G, Joseph MH, Knott PJ. Effects of immobilization and food deprivation on rat brain tryptophan metabolism. *Neurochem* 19 : 1967-1974, 1972