

## 필수 지방산 조성이 다른 식이의 docosahexaenoic acid 투여가 흰쥐 뇌 및 간의 지방산 조성에 미치는 영향

임 선 영\*

한국해양대학교 해양환경생명과학부

Received July 11, 2009 / Accepted October 8, 2009

**Effect of Treatment with Docosahexaenoic Acid into N-3 Fatty Acid Deficient and Adequate Diets on Rat Brain and Liver Fatty Acid Composition.** Sun-Young Lim\*. *Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan, 609-761, Korea* - Previous studies have suggested that docosahexaenoic acid (DHA) supplementation into n-3 fatty acid deficient diet improved spatial learning performance, but there was no significant difference in brain related function when DHA was added into a n-3 fatty acid adequate diet. Here, we investigated the effect of adding DHA into an n-3 fatty acid deficient or adequate diet on brain and liver fatty acid composition. On the second day after conception, Sprague Dawley strain dams were divided into four groups as follows; n-3 fatty acid deficient (Def), n-3 fatty acid deficient plus DHA (Def+DHA, 10.2% DHA), n-3 fatty acid adequate (Adq, 3.4% linolenic acid), and n-3 fatty acid adequate plus DHA (Adq+DHA, 3.31% linolenic acid plus 9.65% DHA). After weaning, male pups were fed on the same diets of their respective dams until adulthood. In brain fatty acid composition, the Def group showed a lower brain DHA (64% decrease), which was largely compensated for by an increase in docosapentaenoic acid (22:5n-6). Brain DHA in the Def+DHA group was increased to almost the same extent as in the Adq and Adq+DHA groups and there were no significant differences among them. Liver fatty acid composition showed a similar pattern to that of the brain, but liver DHA in the Def+DHA showed the highest percentage among the diet groups. In conclusion, n-3 fatty acid deficiency from gestation to adulthood leads to decreased brain DHA, which has been shown to be highly associated with poor spatial learning performance. Thus, adequate brain DHA levels are required for optimal nervous function.

**Key words :** Brain function, docosahexaenoic acid, docosapentaenoic acid, n-3 fatty acid, fatty acid composition

### 서 론

필수 지방산 중 n-3계 지방산인  $\alpha$ -linolenic acid (LNA)는 생체 내에서 탄소 사슬연장 및 불포화과정(elongation-desaturation)을 거쳐 docosahexaenoic acid (DHA)로 전환된다. LNA는 뇌-혈관장벽을 쉽게 지나갈 수 있음에도 불구하고 뇌 조직에서 그 함량은 극히 미량이지만[27], DHA는 기억, 학습 등 지능과 사고를 요구하는 뇌 조직에 많이 분포되어 뇌세포 인지질막의 주요 불포화지방산들 중의 하나로 우리가 식품으로 적절한 양의 n-3계 필수 지방산을 섭취해야 하는 이유이기도 하다. N-6계 및 n-3계 지방산의 장기적인 불균형으로 야기된 n-3 지방산 결핍은 동물 및 임상실험에서 부정적인 결과를 초래하였다. 예를 들면, 쥐를 이용한 실험에서 비정상적인 망막기능[29]을 나타내었으며 이러한 결과는 고양이[23] 및 원숭이[22]를 이용한 연구에서도 비슷한 결과가 보고되었다. 또한 Y-maze [12], 명암구별[31] 및 전기쇼크 실험[2]에서 쥐는 학습

능력의 결함을 보였고 공간[20] 및 후각[9] 관련 기억학습능력 실험에서도 뇌 기능의 결손을 나타내었다. 영장류의 retina DHA 함량 감소와 비례하여 시력 저하 및 어두운 곳에서 적응한 후 느린 회복이 나타났다[4]. 신생아의 경우 필수 지방산 원료로 채종유를 사용하여 조제된 분유를 섭취한 신생아는 다가불포화지방산이 함유된 분유를 섭취한 신생아에 비하여 뇌의 DHA 함량이 낮았고 반면 docosapentaenoic acid (DPAn-6)의 함량이 높았으며[6,11,16] 이러한 지방산 조성 변화는 시력[3], 인지능력[1] 및 문제해결 능력[30]에서 결함을 나타내는 것과 양의 상관관계가 있다고 알려졌다.

식이형태로 LNA형 혹은 DHA와 같은 다가불포화지방산 형태로 투여했을 때 뇌를 비롯한 조직의 DHA 축적에 관한 연구들이 활발히 진행되었다. Neuringer 등[21]은 2세대 동안 n-3 지방산이 결핍된 식이로 사육한 실험에서 대조군으로 n-3 지방산이 적절히 함유한 대두유를 섭취한 엄마 레서스원숭이(rhesus monkey)의 경우 분만 시 혈장 내 LNA 함량이 높았으나 DHA 함량은 점점 떨어져 n-3 지방산이 결핍된 식이를 섭취한 엄마 레서스원숭이와 유사한 정도의 양으로 나타났다. 반면 대두유를 섭취한 엄마 원숭이로부터 태어난 신생 원숭이의 제대혈 DHA 함량은 2-4배 더 높았다. 따라서 엄마 원숭이

\*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-404-4750

E-mail : sylim@hhu.ac.kr

의 경우 LNA로부터 DHA로 전환하는 능력이 매우 부족한 반면 신생 원숭이의 경우 성장 중인 조직에 필요한 다가불포화지방산을 우선적으로 취하는 것으로 사료되며 이러한 결과는 신생아를 대상으로 연구한 Crawford 등[5]의 연구결과와 유사하였다. 이러한 현상에 대한 명확한 기작은 알려져 있지 않지만 태아 혹은 태반이 LNA로부터 긴 사슬의 불포화지방산을 합성하는 능력이 우수하거나 혹은 이들 다가불포화지방산들이 태반을 쉽게 통과하여 신생아로 전달되는 것으로 사료된다. 또한 설치동물 실험에서 2주된 신생 쥐에 LNA와 DHA를 각각 투여했을 때 뇌 조직으로 DHA가 축적되는 속도는 LNA 형태보다는 DHA 형태로 주입했을 경우 59배로 빨랐다[28]. Green과 Yavin [8]은 출생 전 쥐의 뇌 조직 지방산 연구에서 방사선으로 라벨된 DHA 투여는 뇌에 바로 축적되며 유리 지방산 풀에서 3분의 반감기를 가지는 반면, 라벨된 LNA는 60분의 반감기를 가졌다고 보고하였다. 그러나 여전히 뇌를 비롯한 조직들이 다가불포화지방산을 우선적으로 취하는 것에 대한 설명은 잘 알려져 있지 않다. 선행된 연구[13]에서 임신기부터 성인기까지 n-3 지방산이 결핍된 식이와 n-3 지방산이 결핍된 식이에 DHA를 보충한 식이로 나누어 사육한 후 이들이 성인이 되었을 때 Morris water maze 실험을 하여 동물의 공간기억력을 측정할 결과 DHA 보충은 흰쥐의 학습능력과 기억력을 향상시켰다. 그러나 임신기부터 성인기동안 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이에 DHA를 첨가했을 때는 공간기억학습 능력이 다소 우수하였으나 유의적 개선효과가 없었다[14]. 따라서 본 연구의 목적은 임신기 동안 n-3 필수지방산이 결핍된 군과 적절히 함유된 군에 각각 DHA를 보충하였을 때 뇌 및 간의 지방산 조성을 검토하여 선행된 연구에서 나타나는 공간 기억학습 능력의 차이에 대한 설명으로 뇌의 DHA 함량과 공간기억력과의 상관성을 규명하고자 한다.

**재료 및 방법**

**동물의 사육 및 식이**

본 실험에서는 임신 2일된 암컷 Sprague Dawley (SD)계 흰쥐 40 마리를 Charles River 실험실(Portage, MI)로부터 구입하여 각각 10마리씩 4군으로 나누어 n-3 지방산이 결핍된 군[n-3 Deficient (Def) group]과 DHA가 첨가된 식이(Def+DHA group) 및 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군[n-3 Adequate (Adq) group]과 DHA가 첨가된 식이(Adq+DHA group)로 임신기간 및 수유기동안 사육하였다. 신생 흰쥐가 이유기가 되었을 때 각각 암컷 흰쥐로부터 1마리씩의 수컷 흰쥐를 취하여 어미 흰쥐의 식이와 동일한 식이로 15주령까지 사육하였다(Fig. 1). 실험에 사용된 식이는 지방산의 양이 변형된 AIN-93G 표준식이[25]이고 실험식이와 음용수는 실험기간동안 자유 섭취방법으로 급여하였다(Table 1). 적정 환경은 온도 23±1°C, 상대습도, 명암 12 시간 주기였다. 네

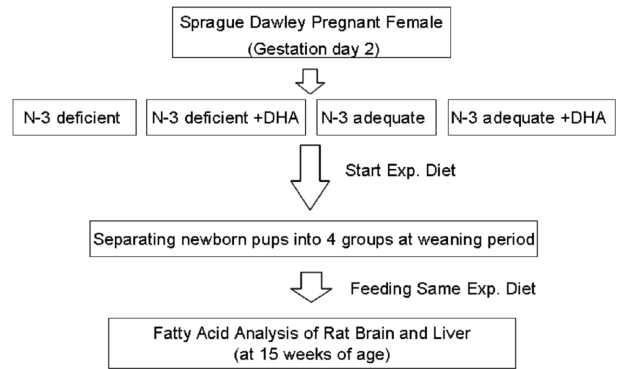


Fig. 1. A flow diagram illustrating study design.

Table 1. Nutrient compositions of experimental diets

Ingredients	Amount (g/100 g)			
	Def	Def+DHA	Adq	Adq+DHA
Casein (vitamin free)	20	20	20	20
Carbohydrate	60	60	60	60
Corn starch	15	15	15	15
Sucrose	10	10	10	10
Dextros	19.9	19.9	19.9	19.9
Maltose-dextrin	15	15	15	15
Cellulose	5	5	5	5
Salt mix.	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix.	1	1	1	1
L-Cystine	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25	0.25
tert-Butylhydroquinone	0.002	0.002	0.002	0.002
Fat:				
Hydrogenated Coconut oil	7.53	5.8	6.89	5.39
Safflower oil	2.1	2.1	1.93	1.93
Oleic acid	0.37		0.6	
Flaxseed oil			0.58	0.58
DHASCO		2.1		2.1

가지 그룹들에서 총포화지방산과 monounsaturates의 함량에는 큰 차이가 없었으나, n-3 지방산이 결핍된 식이군(Def group)의 지방산 조성은 17.6% linoleic acid (LA), 0.08% LNA이며 Def+DHA 그룹의 경우 17.5% LA, 0.08% LNA 및 10.2% DHA를 함유하였다. 한편 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq group)의 지방산 조성은 16.9% LA, 3.4% LNA이며 DHA는 함유되어 있지 않고 DHA 첨가군(Adq +DHA group)의 경우는 16.9% LA로 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군과 함량이 같으나 LNA는 3.31%를 그리고 DHA는 9.65%를 함유하였다(Table 2).

**Gas chromatography를 이용한 지방산 측정**

실험 쥐들이 15주가 되었을 때 희생시키고 뇌 및 간을 취해

Table 2. Fatty acid composition of experimental diets (% of total fatty acids)

Fatty acid composition	Def	Def+DHA	Adq	Adq+DHA
Σ Saturates	71.9	59.4	67.2	56.8
Σ monounsaturates	8.88	10.9	9.92	11.1
18:2n-6	17.6	17.5	16.9	16.9
18:3n-3	0.08	0.08	3.40	3.31
22:6n-3	-	10.2	-	9.65

서 지방산 조성을 검토하였다. 지질 추출은 Folch 등[7]을 변형하여 실시하였으며 즉 생체 조직을 butylated hydroxy toluene (BHT)를 함유한 CCl<sub>4</sub>:methanol (2:1)로 교반하여 균질화하였다. 균질물을 일정양 취한 후 클로로포름 2 ml와 0.2 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.4 ml를 넣고 교반하여 3,000 rpm에서 5분간 원심 분리한 후 지질층을 얻었다. 최종적으로 질소가스를 이용하여 서서히 지질층의 유기용매를 완전히 날린 다음 지질을 얻었다. Morrison과 Smith의 방법[17]에 따라 추출된 지질에 methylation용 시약인 boron trifluoride methanol 1 ml와 hexane 0.4 ml를 가한 후 1시간 동안 100°C에서 가열하여 methylation시켰다. 지방산 분석은 HP-5890B gas chromatography (Agilent, Palo Alto, CA)를 이용하였고 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°C, oven (initial 130°C, 분당 증가율 175°C까지 4°C/min, 250°C까지 1°C/min, 210까지 30°C/min, final 245°C), injector 250°C 그리고 carrier gas는 수소를 사용하였다[26]. 지방산 분석에 사용한 표준용액은 미국 Nu-Check 사의 462 standard를 이용하였으며 표준용액의 retention 시간과 비교하여 정성하였으며 내부표준물질(22:3n-3 methyl ester)을 사용하여 개개의 지방산들의 농도를 산출하였다.

**통계처리**

실험결과는 Mean ± SEM (Standard Error of Mean)으로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 Statistica program (Statsoft, Tulsa, OK)을 이용하여 repeated measures one-way ANOVA를 실시하여 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Tukey's HSD (Honest Significant Difference) test를 실시하여 유의성을 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**체중 및 조직무게 비교**

실험 쥐들이 15주가 되었을 때의 체중을 비교해 보면 n-3 지방산이 결핍된 식이군(Def)의 체중은 DHA를 첨가한 식이군(Def+DHA)이나 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq) 및 DHA 첨가군(Adq+DHA)에 비해 유의적으로 높았다(p<

Table 3. Comparison of body and organ weights from rats fed different diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Tissue (g)	Def	Def+DHA	Adq	Adq+DHA
Body	665±12.5 <sup>a</sup>	586±13.3 <sup>b</sup>	567±13.6 <sup>b</sup>	597±20.9 <sup>b</sup>
Brain	2.38±0.03 <sup>a</sup>	2.15±0.02 <sup>b</sup>	2.12±0.02 <sup>b</sup>	2.05±0.05 <sup>b</sup>
Liver	25.0±0.85 <sup>a</sup>	20.0±0.72 <sup>b</sup>	21.2±1.45 <sup>b</sup>	25.2±1.88 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Each variable represents the mean±SEM, n=6. Values for each group with different superscript roman letters in a row are significantly different at p<0.05.

0.05)(Table 3). 체중과 유사하게 뇌와 간의 무게도 나머지 식이군들과 비교했을 때(Adq+DHA군의 간 제외)유의적으로 높은 수치를 보였다(p<0.05). 동물 및 인체 실험에서 n-3 및 n-6계를 포함하는 필수지방산의 공급은 에너지 대사에 영향을 끼치며 필수지방산의 결핍은 성장 저하 및 기초대사의 변화 등이 알려져 있다[10]. 그러나 높은 함량의 필수지방산의 공급은 체중을 감소시킨다는 보고[24]가 있으나 여기에 대한 명확한 기작은 잘 알려져 있지 않다.

**뇌의 지방산 조성 변화**

Table 4는 뇌의 지방산 조성을 나타낸 것으로 n-3 지방산 적절군(Adq)은 가장 높은 총 포화지방산과 가장 낮은 총 단일불포화지방산을 나타내었고 이와 대조적으로 n-3 지방산 결핍+DHA 첨가군(Def+DHA)은 낮은 총 포화지방산과 높은 총 단일불포화지방산 함량을 나타내었다(p<0.05). 총 포화지방산 중 특히 18:0의 함량은 n-3 지방산 적절군(Adq)에서 높았고 n-3 지방산 결핍+DHA 첨가군(Def+DHA)에서 낮았다. 총 단일불포화지방산 중 18:1n-7 및 22:1의 함량은 n-3 지방산이 결핍군(Def) 및 DHA가 첨가된 군(Def+DHA)과 비교하였을 때 n-3 지방산 적절군(Adq) 및 DHA 첨가군(Adq+DHA)에서 낮은 수치를 보였다. 총 n-6계 지방산 함량은 n-3 지방산 결핍군(Def)에서 가장 높았으며 다음으로 n-3 적절군(Adq)으로 각각 DHA가 첨가된 두 식이군들에서 가장 낮은 수치를 나타내었다(p<0.05). N-6계 지방산들 중 특히 22:5n-6의 함량이 n-3 지방산 결핍군(Def)에서 현저히 높았으며 20:4n-6 및 22:4n-6의 함량도 이 식이군(Def)에서 높았으나 18:2n-6 및 20:3n-6의 함량은 낮았다(p<0.05). N-3 적절군(Adq)과 DHA가 첨가된 군(Adq+DHA)과 비교했을 때 n-3 적절군(Adq)의 18:2n-6 및 20:3n-6의 함량은 유의적으로 낮았으나 20:4n-6, 22:4n-6 및 docosapentaenoic acid (DPAn-6, 22:5n-6)의 함량은 유의적으로 높았다(p<0.05). 총 n-3계 지방산의 함량은 예상했듯이 n-3 지방산 결핍군(Def)에서 가장 낮은 함량을 나타내었으며 22:6n-3의 함량도 다른 식이군들과 비교했을 때 약 64% 감소됨을 살펴볼 수가 있었다(p<0.05). 또한 n-6/n-3의 비도 n-3 지방산 결핍군(Def)에서 3.35로 식이군들 중 유의적으로 높았다(p<0.05)(Fig. 2). 흥미로운 것은 n-3 지방산결핍에 DHA를 첨가한 식이군(Def+DHA)의 경우 뇌의 22:6n-3 함량이 13.1%

Table 4. Effect of treatment with docosahexaenoic acid into n-3 fatty acid deficient or adequate diets on brain fatty acid composition (% of total fatty acids)<sup>1</sup>

Fatty acids	Def	Def+DHA	Adq	Adq+DHA
14:0	0.16±0.006	0.14±0.002	0.16±0.006	0.14±0.009
16:0	18.2±0.323	17.9±0.209	18.8±0.296	18.1±0.434
18:0	16.2±0.087 <sup>b</sup>	15.8±0.135 <sup>c</sup>	17.0±0.122 <sup>a</sup>	16.2±0.135 <sup>b</sup>
20:0	0.88±0.055	0.79±0.039	0.59±0.131	0.72±0.056
22:0	0.78±0.051	0.80±0.039	0.61±0.068	0.75±0.059
24:0	1.42±0.102	1.48±0.086	1.31±0.104	1.59±0.113
Total Sat. <sup>2</sup>	37.7±0.256 <sup>ab</sup>	36.9±0.245 <sup>bc</sup>	38.4±0.215 <sup>a</sup>	37.5±0.300 <sup>ab</sup>
16:1	0.35±0.021	0.38±0.005	0.34±0.007	0.39±0.013
18:1	17.7±0.162 <sup>c</sup>	19.6±0.072 <sup>a</sup>	17.7±0.351 <sup>c</sup>	18.8±0.272 <sup>b</sup>
18:1n-7	4.47±0.024 <sup>a</sup>	4.11±0.047 <sup>bc</sup>	4.14±0.089 <sup>b</sup>	3.86±0.063 <sup>c</sup>
20:1	2.96±0.172	2.93±0.129	2.03±0.358	2.70±0.233
22:1	0.36±0.025 <sup>a</sup>	0.30±0.015 <sup>ab</sup>	0.24±0.026 <sup>b</sup>	0.26±0.020 <sup>b</sup>
24:1	2.95±0.190	3.05±0.124	2.51±0.252	3.00±0.202
Total Mono. <sup>3</sup>	28.8±0.496 <sup>ab</sup>	30.4±0.332 <sup>a</sup>	27.0±0.974 <sup>b</sup>	29.0±0.758 <sup>ab</sup>
18:2n-6	0.41±0.006 <sup>d</sup>	0.75±0.020 <sup>a</sup>	0.52±0.013 <sup>c</sup>	0.66±0.020 <sup>b</sup>
18:3n-6	0.05±0.001	0.04±0.001	0.05±0.003	0.04±0.001
20:2n-6	0.15±0.005	0.18±0.007	0.44±0.272	0.16±0.006
20:3n-6	0.29±0.012 <sup>c</sup>	0.69±0.015 <sup>a</sup>	0.30±0.040 <sup>c</sup>	0.57±0.022 <sup>b</sup>
20:4n-6	8.91±0.158 <sup>a</sup>	6.32±0.108 <sup>b</sup>	8.88±0.175 <sup>a</sup>	6.78±0.162 <sup>b</sup>
22:4n-6	3.80±0.038 <sup>a</sup>	1.79±0.045 <sup>d</sup>	3.21±0.032 <sup>b</sup>	1.98±0.049 <sup>c</sup>
22:5n-6	6.76±0.257 <sup>a</sup>	0.06±0.003 <sup>c</sup>	0.41±0.023 <sup>b</sup>	0.06±0.010 <sup>c</sup>
Total n-6	20.4±0.372 <sup>a</sup>	9.84±0.131 <sup>c</sup>	13.8±0.348 <sup>b</sup>	10.2±0.200 <sup>c</sup>
18:3n-3	0.05±0.004	0.05±0.001	0.04±0.004	0.04±0.003
22:3n-3	1.33±0.078 <sup>b</sup>	1.54±0.033 <sup>b</sup>	1.84±0.142 <sup>a</sup>	1.80±0.055 <sup>a</sup>
22:5n-3	0.03±0.005 <sup>c</sup>	0.29±0.010 <sup>a</sup>	0.14±0.002 <sup>b</sup>	0.28±0.006 <sup>a</sup>
22:6n-3	4.81±0.322 <sup>b</sup>	13.1±0.284 <sup>a</sup>	12.2±0.310 <sup>a</sup>	13.5±0.357 <sup>a</sup>
Total n-3	6.22±0.390 <sup>b</sup>	15.2±0.287 <sup>a</sup>	14.2±0.432 <sup>a</sup>	15.4±0.392 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Each variable represents the mean±SEM, n=6.  
<sup>2</sup>Sat. means saturated fatty acids.  
<sup>3</sup>Mono. means monounsaturated fatty acids.  
 Values for each group with different superscript roman letters in the same fatty acid are significantly different at  $p < 0.05$ .

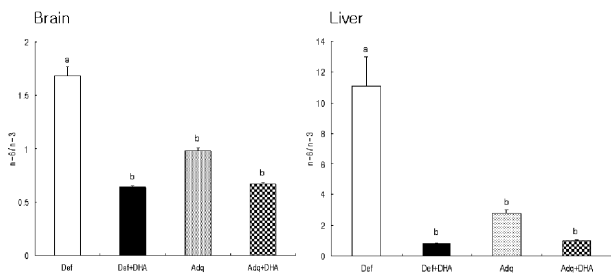


Fig. 2. Ratio of n-6 to n-3 fatty acids of brain and liver from rats fed different diets. The values are presented as the mean±SEM, with n=6 rats. <sup>a-b</sup>Means with different roman letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

로 n-3 지방산 적절군(Adq) 및 DHA 첨가군(Adq+DHA)과 유의적 차이가 없었다. 선행된 연구에서 임신기동안부터 성인기

까지 n-3 지방산이 결핍된 식이군(Def)에 DHA 첨가는 Morris water maze를 이용한 공간기억학습 능력 실험에서 목적 플랫폼까지 찾아가는 시간이 단축되었으며 기억력 테스트에서도 원래 플랫폼이 있었던 자리에 대한 기억력이 우수함을 보고하였다[13]. 그러나 임신기부터 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이에 부가적인 DHA의 첨가는 흰쥐의 공간기억학습 능력이 다소 나은 효과를 보였으나 n-3 지방산을 이미 적절히 섭취하고 있는 경우와 비교했을 때 공간기억력 관련 뇌 기능에 유의적인 개선효과가 나타나지 않았다[14]. 따라서 본 연구 결과에서 나타났듯이 n-3 지방산이 결핍된 군의 뇌 DHA 함량이 n-3 지방산이 적절히 함유된 군 및 DHA를 첨가한 군보다 64% 정도 낮았으며 이는 선행된 연구에서 나타난 공간기억력 결함과 매우 밀접한 관련이 있는 것으로 여겨진다. Moriguchi 등[20]도 3 세대동안 n-3 지방산이 결핍된 식이로 사육된 동물은 대조군에 비하여 뇌의 DHA 함량이 87% 정도 감소하였으며 이는 공간 기억력의 저하현상으로 나타났다고 보고하였다. 이어진 연구[9]에서 후각에 기초한 기억 관련 뇌 기능에도 영향을 미쳐 n-3 지방산이 결핍된 군의 경우 두 가지 뚜렷한 냄새 구별에 결함을 보였다고 보고하였다. 본 연구의 지방산 조성 변화에서도 살펴보았듯이 n-3 지방산 결핍군의 경우 뇌의 DPAn-6의 함량이 상대적으로 높음을 알 수가 있다. 이와 관련하여 Lim 등[15]은 n-3 지방산의 결핍과 같은 뇌의 스트레스 상황에서 DHA 대신 증가된 DPAn-6의 역할을 규명하고자 인공사육시스템을 이용하여 뇌 기능 연구를 하였다. 즉, 출생 후 2일 내에 엄마쥐로부터 신생쥐를 떼어내어 1세대에서부터 n-3 지방산이 결핍된 분유, DHA가 첨가된 분유 및 DPAn-6가 첨가된 분유로 사육한 후 이들이 성인이 되었을 때 공간기억력과 운동조정 능력을 측정하였다. 예상했듯이 DHA 첨가군과 비교했을 때 n-3 지방산 결핍군의 경우 뇌의 DHA 함량이 64% 정도 감소하였고 공간기억력도 상당히 떨어졌으며 rotarod를 이용한 운동조정 능력에서도 결함을 보여 소뇌 기능 장애를 확인하였다. 흥미로운 것은 DPAn-6 첨가군에서도 n-3 지방산이 결핍된 군과 유사한 페턴의 공간기억력 및 운동조정 능력을 나타내었고 뇌의 DHA 함량도 감소되었음을 알 수가 있었다. 따라서 n-3 지방산이 결핍된 군에서 나타나는 뇌의 DPAn-6는 뇌의 DHA 결핍에 따른 뇌 기능 손상을 보상할 수 없음을 확인하였다. 따라서 본 연구에서도 나타났듯이 뇌의 DHA 함량은 n-3 지방산이 결핍된 군에서 현저히 감소되었고 반면 DPAn-6 함량은 증가하였음을 보였으므로 선행된 연구의 뇌 기능 결함을 설명할 수 있을 것으로 사료된다. 한편, n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq)과 DHA 첨가된 식이군(Adq+DHA)간의 뇌 DHA 함량에는 유의적 차이가 없는 것으로 보아 뇌의 DHA 함량은 12-13%가 최대 수치라고 사료되며 두 식이군간의 뇌의 DHA 함량에는 유의적 차이가 없었다는 결과로부터 뇌의 지방산 조성 과 공간기억력에 관련하는 뇌 기능과의 상관성을 살펴 볼 수가 있었다.

Table 5. Effect of treatment with docosahexaenoic acid into n-3 fatty acid deficient or adequate diets on liver fatty acid composition (% of total fatty acids)<sup>1</sup>

Fatty acids	Def	Def+DHA	Adq	Adq+DHA
12:0	0.53±0.068 <sup>a</sup>	0.21±0.022 <sup>b</sup>	0.46±0.075 <sup>a</sup>	0.14±0.017 <sup>b</sup>
14:0	2.50±0.156 <sup>a</sup>	1.14±0.117 <sup>b</sup>	2.18±0.331 <sup>a</sup>	1.15±0.117 <sup>b</sup>
16:0	31.4±1.406	27.7±1.462	29.7±3.539	32.6±1.929
18:0	10.9±0.699 <sup>b</sup>	13.8±0.384 <sup>b</sup>	15.1±1.567 <sup>a</sup>	10.3±1.368 <sup>b</sup>
20:0	0.03±0.002	0.04±0.008	0.04±0.006	0.03±0.005
22:0	0.06±0.004	0.11±0.008	0.10±0.017	0.06±0.019
24:0	0.15±0.029 <sup>b</sup>	0.32±0.028 <sup>a</sup>	0.27±0.053 <sup>a</sup>	0.15±0.021 <sup>b</sup>
Total Sat. <sup>2</sup>	45.6±1.121	43.3±1.473	47.9±2.500	44.5±2.380
14:1	0.32±0.012	0.05±0.007	0.20±0.039	0.06±0.009
16:1	7.90±0.562 <sup>a</sup>	4.19±0.416 <sup>d</sup>	5.08±0.830 <sup>b</sup>	5.84±0.597 <sup>c</sup>
18:1	19.9±0.760 <sup>a</sup>	11.9±1.386 <sup>b</sup>	13.8±2.100 <sup>b</sup>	19.8±1.308 <sup>a</sup>
18:1n-7	2.96±0.259 <sup>a</sup>	2.39±0.105 <sup>b</sup>	2.39±0.266 <sup>b</sup>	2.15±0.169 <sup>b</sup>
20:1	0.07±0.007	0.07±0.006	0.06±0.010	0.05±0.006
24:1	0.13±0.015	0.15±0.021	0.19±0.037	0.11±0.016
Total Mono. <sup>3</sup>	31.3±1.297 <sup>a</sup>	18.8±1.613 <sup>b</sup>	21.7±2.857 <sup>b</sup>	28.0±1.817 <sup>a</sup>
18:2n-6	5.08±0.230 <sup>c</sup>	10.3±0.624 <sup>a</sup>	6.60±1.047 <sup>b</sup>	5.66±0.890 <sup>c</sup>
18:3n-6	0.19±0.018 <sup>a</sup>	0.09±0.006 <sup>b</sup>	0.17±0.016 <sup>a</sup>	0.06±0.006 <sup>b</sup>
20:2n-6	0.37±0.083 <sup>a</sup>	0.12±0.022 <sup>b</sup>	0.41±0.081 <sup>a</sup>	0.08±0.017 <sup>b</sup>
20:3n-6	0.93±0.147	1.21±0.076	1.19±0.213	0.73±0.084
20:4n-6	10.5±0.966 <sup>a</sup>	4.94±0.604 <sup>b</sup>	10.8±2.212 <sup>a</sup>	2.94±0.521 <sup>c</sup>
22:4n-6	0.25±0.036	0.03±0.003	0.15±0.028	0.02±0.006
22:5n-6	2.13±0.427 <sup>a</sup>	0.06±0.009 <sup>c</sup>	0.54±0.105 <sup>b</sup>	0.01±0.006 <sup>c</sup>
Total n-6	19.5±1.600 <sup>a</sup>	16.7±1.263 <sup>b</sup>	19.8±3.594 <sup>a</sup>	9.51±1.505 <sup>c</sup>
18:3n-3	nd	2.24±0.335 <sup>a</sup>	0.12±0.013 <sup>c</sup>	1.14±0.398 <sup>b</sup>
20:5n-3	0.01±0.002 <sup>c</sup>	0.01±0.004 <sup>c</sup>	0.68±0.131 <sup>a</sup>	0.19±0.037 <sup>b</sup>
22:3n-3	1.17±0.107	1.81±0.172	1.49±0.311	0.85±0.142
22:5n-3	0.58±0.559 <sup>a</sup>	0.40±0.067 <sup>a</sup>	0.54±0.116 <sup>a</sup>	0.21±0.072 <sup>b</sup>
22:6n-3	0.47±0.149 <sup>c</sup>	16.6±1.404 <sup>a</sup>	5.03±1.186 <sup>b</sup>	7.67±1.564 <sup>b</sup>
Total n-3	2.22±0.610 <sup>c</sup>	21.0±1.925 <sup>a</sup>	7.73±1.731 <sup>b</sup>	10.1±2.170 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Each variable represents the mean±SEM, n=6.  
<sup>2</sup>Sat. means saturated fatty acids.  
<sup>3</sup>Mono. means monounsaturated fatty acids.  
 Values for each group with different superscript roman letters in the same fatty acid are significantly different at  $p < 0.05$ .

**간의 지방산 조성 변화**

간의 지방산 조성을 살펴보면(Table 5), 총 포화지방산 함량에는 식이군들 간의 유의적 차이가 없었으나 그 중 18:0의 함량은 n-3 지방산 적절군(Adq)에서 가장 높았다( $p < 0.05$ ). 총 단일불포화지방산의 함량은 n-3 결핍군(Def)과 n-3 적절+DHA 식이군(Adq+DHA)에서 유의적으로 높은 수치를 나타내었고 유사한 경향은 18:1의 함량에서도 살펴 볼 수가 있었다( $p < 0.05$ ). 16:1의 경우 n-3 결핍군(Def) > n-3 적절+DHA 첨가군(Adq+DHA) > n-3 적절군(Adq) > n-3 결핍+DHA 첨가군(Def+DHA) 순으로 그 함량이 높았다. 총 n-6계 지방산의 함량은 n-3 결핍군(Def) 및 n-3 적절군(Adq)에서 가장 높았고 그 다음으로 n-3 결핍+DHA 첨가군(Def+DHA)이며 n-3 적절

+DHA 첨가군(Adq+DHA)에서 가장 낮았다( $p < 0.05$ ). 뇌의 지방산 조성은 유사하게 n-6 지방산들 중 특히 22:5n-6의 함량이 n-3 지방산 결핍군(Def)에서 현저히 높았으며 18:3-6, 20:2n-6 및 20:4n-6의 함량도 이 식이군(Def)에서 높았으나 18:2n-6의 함량은 낮았다( $p < 0.05$ ). N-3 적절군(Adq)의 경우, DHA 첨가군(Adq+DHA)과 비교했을 때 대부분의 n-6계 지방산의 함량이 유의적으로 높았다( $p < 0.05$ ). 흥미로운 것은 n-3 계 지방산 조성으로 n-3 결핍군에 DHA의 첨가군(Def+DHA)은 총 n-3계 지방산과 22:6n-3의 함량이 n-3 결핍군(Def)에 비해 현저히 높았음을 살펴 볼 수가 있었다( $p < 0.05$ ). 특히 이 식이군(Def)의 22:6n-6의 함량은 n-3 적절군(Adq) 및 DHA 첨가군(Adq+DHA)보다 더 높은 수치를 나타내었다. 또한 n-3 지방산이 결핍된 동물의 경우(Def) 간에서 18:3n-3의 함량을 거의 찾을 수가 없었으나 DHA 첨가군(Def+DHA)의 경우 가장 높은 함량을 나타내었다. 이는 n-3 지방산 결핍군(Def)의 경우 거의 모든 18:3n-3이 생체 내에서 고도로 불포화된 지방산으로 전환되기 위해 사용된 것으로 유추할 수가 있다. N-3계 지방산들 중 18:3n-3의 함량은 n-3 적절+DHA군(Adq+DHA)에서 높았으나 22:5n-3의 함량은 n-3 적절군(Adq)에서 높았다( $p < 0.05$ ). 그러나 총 n-3계 지방산 및 22:6n-3 함량은 n-3 적절군(Adq)과 DHA 첨가군(Adq+DHA)에는 유의적 차이가 없었다. 뇌의 지방산 조성은 유사하게 n-3 지방산 결핍군(Def)의 n-6/n-3의 비가 11.1로 다른 식이군들 중 유의적으로 높았다( $p < 0.05$ )(Fig. 2). Moriguchi 등[18]은 뇌를 포함하는 조직의 적절한 DHA 함량의 회복에 걸리는 시간에 관하여 연구하였는데 즉, 2세대동안 n-3 지방산이 결핍된 식이로 사육한 후 동물이 7주가 되었을 때 n-3 지방산이 적절하게 함유된 식이로 교체시킨 후 대조군인 n-3 지방산 적절군의 DHA의 함량에 도달하는 시간을 검토하였다. 조직들 중 혈청과 간의 DHA 함량이 n-3 적절군의 수준만큼 도달하는데 가장 빨랐다고 보고하였다. 망막을 포함하는 신경조직에서 DHA의 회복 속도는 상대적으로 느려 망막의 경우 완전히 회복하는데 4주가 걸렸으며 뇌의 경우 8주가 걸렸다고 보고하였다. 또한 Morris water maze을 이용한 뇌의 지방산 조성 및 공간기억력간의 상관관계에 대한 연구[19]에서 3 세대동안 n-3 지방산이 결핍된 식이로 사육된 동물에 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이로 교체하였는데 그 시기를 출생부터, 이유기(3 weeks) 및 약령기(7 weeks)로 나누어 실험하였다. 결과적으로 출생 및 이유기 때 n-3 지방산 투여는 대조군과 비슷한 함량의 뇌 DHA를 나타내었고 공간기억력도 거의 대조군 수준으로 회복됨을 확인하였다. 그러나 약령기에 n-3 지방산을 투여했을 때는 투여기간에 의존하여 6주간 n-3 지방산으로 투여했을 때 공간기억력이 회복됨을 보고하였다. 즉, 뇌의 DHA 함량이 증가함에 따라 목적 플랫폼까지 찾아가는 데 걸리는 시간은 감소한 반면, 뇌의 DPA n-6의 함량이 증가함에 따라 목적지까지 걸리는 시간은 증가하였음을 알 수가 있었다. 따라서 본 연구의 결과로부터

임신기부터 시작하여 성인기까지 DHA 첨가는 n-3 지방산이 결핍된 군의 경우 뇌의 DHA 함량 증가와 함께 공간기억력이 향상되었으므로 뇌의 적절한 DHA 함량과 뇌 기능 향상성은 밀접한 관계가 있다고 사료된다. 반면 이미 n-3 지방산이 적절히 함유된 군의 경우 부가적인 DHA 첨가는 뇌의 DHA 함량 증가 및 공간기억력 향상에는 유의적 효과가 없었음을 알 수가 있었다.

## 요 약

선행된 연구에서 나타난 n-3 지방산 결핍 식이에 DHA 첨가는 뇌 기능 개선효과가 나타났으나 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이에 DHA 첨가는 유의적 뇌 기능 향상효과가 나타나지 않았다. 이러한 결과에 대한 설명으로 본 연구에서는 필수 지방산 함량이 다른 식이, 즉 n-3 지방산 결핍 및 적절군에 각각 DHA를 첨가하여 뇌 및 간의 지방산 조성에 미치는 영향에 대하여 검토하였다. N-3 지방산이 결핍된 식이군(Def)의 체중 및 뇌의 무게는 DHA를 첨가한 식이군(Def+DHA)이나 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이군(Adq) 및 DHA 첨가군(Adq+DHA)에 비해 유의적으로 높았다( $p < 0.05$ ). 뇌의 지방산 조성 결과에서 n-6계 지방산들 중 특히 22:5n-6의 함량이 n-3 지방산 결핍군(Def)에서 현저히 높았으며 20:4n-6 및 22:4n-6의 함량도 이 식이군(Def)에서 높았으나 18:2n-6 및 20:3n-6의 함량은 낮았다( $p < 0.05$ ). 총 n-3계 지방산 및 22:6n-3의 함량은 예상했듯이 n-3 지방산 결핍군(Def)에서 가장 낮았으며 다른 식이군들과 비교했을 때 약 64% 감소됨을 살펴볼 수가 있었다. 또한 n-6/n-3의 비도 n-3 지방산 결핍군(Def)에서 3.35로 식이군들 중 유의적으로 높았다( $p < 0.05$ ). 흥미로운 것은 n-3 지방산 결핍에 DHA를 첨가한 식이군(Def+DHA)의 경우, 뇌의 22:6n-3 함량이 13.1%로 n-3 지방산 적절군(Adq) 및 DHA 첨가군(Adq+DHA)과 유의적 차이가 없었다. 간의 지방산 조성 결과에서 뇌의 지방산 조성과 유사하게 n-6 지방산들 중 특히 22:5n-6의 함량이 n-3 지방산 결핍군(Def)에서 현저히 높았으며( $p < 0.05$ ), n-3 적절군(Adq)의 경우, DHA 첨가군(Adq+DHA)과 비교했을 때 대부분의 n-6계 지방산의 함량이 유의적으로 높았다( $p < 0.05$ ). N-3 결핍군에 DHA의 첨가군(Def+DHA)은 총 n-3계 지방산 및 22:6n-3의 함량이 n-3 결핍군(Def)에 비해 현저히 높았다( $p < 0.05$ ). 특히 이 식이군(Def)의 22:6n-6의 함량은 n-3 적절군(Adq) 및 DHA 첨가군(Adq+DHA)보다 더 높은 수치를 나타내었다. 또한 n-3 지방산이 결핍된 동물(Def)의 간에서 18:3n-3의 함량을 거의 찾을 수가 없었으나 DHA 첨가군(Def+DHA)의 경우 가장 높은 함량을 나타내었다. 이는 n-3 지방산 결핍군(Def)의 경우 거의 모든 18:3n-3가 생체 내에서 고도로 불포화된 지방산으로 전환되기 위해 사용된 것으로 사료된다. 따라서 본 연구의 결과로부터 n-3 지방산이 결핍된 군의 경우 DHA 첨가로 인하여 뇌

DHA 함량 증가와 더불어 뇌 기능이 개선되었음을 살펴 볼 수가 있었다. 반면 이미 뇌의 DHA가 포화상태인 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이의 경우 DHA의 부가적인 첨가는 뇌 기능 향상면에서는 유의적 효과가 나타내지 않았음을 뇌의 지방산 조성으로 확인 할 수가 있었다.

## References

1. Agostoni, C., S. trojan, R. Bellu, E. Riva, and M. giovannini. 1995. Neurodevelopmental quotient of healthy term infants at 4 months and feeding practice: the role of long-chain polyunsaturated fatty acids. *Pediatr. Res.* **38**, 262-266.
2. Bourre, J. M., M. Francois, A. Youyou, O. Dumont, M. Piciotti, G. Pascal, and G. Durand. 1989. The effects of dietary alpha-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysical parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J. Nutr.* **119**, 1880-1892.
3. Carlson, S. E., S. H. Werkman, P. G. rhodes, and E. A. Tolley. 1993. Visual-acuity development in healthy preterm infants: effect of marine-oil supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.* **58**, 35-42.
4. Connor, W. E. and M. Neuringer. 1988. The effect of n-3 fatty acid deficiency and repletion upon the fatty acid composition and function of brain and retina. pp. 275-294, *In* Karnovsky M. L., A. Leaf, and L. C. Bolls (eds.), *Biological Membranes: Aberrations in Membrane Structure and Function*, Liss Inc., New York.
5. Crawford, M. A., A. G. Hassan, and G. Williams. 1976. Essential fatty acids and fetal brain growth. *Lancet* **1**, 452-453.
6. Farquharson, J., F. Cockburn, W. J. Patrick, E. C. Jamieson, and R. W. Logan. 1992. Infant cerebral cortex phospholipids fatty-acid composition and diet. *Lancet* **340**, 810-813.
7. 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.
8. Green, P. and E. Yavin. 1998. Mechanisms of docosahexaenoic acid accretion in the fetal brain. *J. Neurosci. Res.* **52**, 129-136.
9. Greiner, R. S., T. Moriguchi, B. M. Slotnick, A. Hurrion, and N. Salem. 2001. Olfactory discrimination deficits in n-3 fatty acid-deficient rats. *Physiol. Behav.* **72**, 379-385.
10. Holman, R. T. 1968. Essential fatty acid deficiency. *Prog. Chem. Fats Other Lipids* **9**, 275-348.
11. Jamieson, E. C., J. Farquharson, R. W. Logan, A. G. Howatson, W. J. Patrick, and F. Cockburn. 1999. Infant cerebellar gray and white matter fatty acids in related to age and diet. *Lipids* **34**, 1065-1071.
12. Lamptey, M. S. and B. L. Walker. 1976. A possible essential role for dietary linolenic acid in the development of the young rat. *J. Nutr.* **106**, 86-93.
13. Lim, S. Y. 2007. Effect of supplementation with docosahexaenoic acid from gestation to adulthood on spatial learning

- performance in rat. *J. Life Sci.* **17**, 1400-1405.
14. Lim, S. Y. 2007. Effect of treatment with docosahexaenoic acid into n-3 fatty acid adequate diet on learning related brain function in rat. *J. Life Sci.* **19**, 917-922.
  15. Lim, S. Y., J. Hoshiba, and N. Salem. 2005. An extraordinary degree of structural specificity is required in neural phospholipids for optimal brain function: n-6 docosapentaenoic acid substitution for docosahexaenoic acid leads to a loss in spatial task performance. *J. Neurochem.* **95**, 848-857.
  16. Makrides, M., M. A. Neumann, R. W. Byard, K. Simmer, and R. A. Gibson. 1994. Fatty acid composition of brain, retina, and erythrocytes in breast- and formula-fed infants. *Am. J. Clin. Nutr.* **60**, 189-194.
  17. 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.
  18. Moriguchi, T., J. Loewke, M. Garrison, J. N. Catalan, and N. Salem. 2001. Reversal of docosahexaenoic acid deficiency in the rat brain, retina, liver, and serum. *J. Lipid Res.* **42**, 419-427.
  19. Moriguchi, T. and N. Salem. 2003. Recovery of brain docosahexaenoate leads to recovery of spatial task performance. *J. Neurochem.* **87**, 297-309.
  20. Moriguchi, T., R. Greiner, and N. Salem. 2000. Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *J. Neurochem.* **75**, 2563-2573.
  21. Neuringer, M., W. E. Connor, C. V. Petten, and L. Barstad. 1984. Dietary omega-3 fatty acid deficiency and visual loss in infant rhesus monkeys. *J. Clin. Invest.* **73**, 272-276.
  22. Neuringer, M., W. E. Connor, D. S. Lin, L. Barstad, and S. Luck. 1986. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal omega-3 fatty acid deficiency on retina and brain in rhesus monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**, 4021-4025.
  23. Pawlosky, R. J., Y. Denkins, G. Ward, and N. Salem. 1997. Retinal and brain accretion of long-chain polyunsaturated fatty acids in developing felines: the effects of corn oil-based maternal diets. *Am. J. Clin. Nutr.* **65**, 465-472.
  24. Pudlakewicz, C., J. Seufert, and R. T. Holman. 1968. Requirements of the female rat for linoleic and linolenic acids. *J. Nutr.* **94**, 138-146.
  25. Reeves, P. G., F. H. Nielsen, and G. C. Fahey. 1993. Committee report on the AIN-93 purified rodent diet. *J. Nutr.* **123**, 1939-1951.
  26. Salem, N., M. Reyzer, and J. Karanian. 1996. Losses of arachidonic acid in rat liver after inhalation. *Lipids* **31**, S153-156.
  27. Sastry, P. 1985. Lipids of nervous tissue: Composition and metabolism. *Prog. Lipid Res.* **24**, 69-176.
  28. Sinclair, A. J. 1975. Incorporation of radioactive polyunsaturated fatty acids into liver and brain of developing rat. *Lipids* **10**, 120-123.
  29. Wheeler, T. G., R. M. Benolken, and R. E. Anderson. 1975. Visual membranes: specificity of fatty acid precursors for the electrical response to illumination. *Sci.* **188**, 1312.
  30. Willatts, P., J. S. Forsyth, M. K. DiModugno, S. Varma, and M. Colvin. 1998. Influence of long-chain polyunsaturated fatty acids on infant cognitive function. *Lipids* **33**, 973-980.
  31. Yamamoto, N., M. Saitoh, A. Moriguchi, M. Nomura, and H. Okuyama. 1987. Effect of dietary alpha-linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability of rats. *J. Lipid Res.* **33**, 973-980.