韓國營養學會誌 :第17卷 · 第 3 號 · 1984
Korean J. Nutr. Vol. 17, No. 3, 1984

Pyridoxine결핍이 뇌의 신경전달물질에 미치는 영향*

– Catecholamine 대사 –

최 혜 미 · 강 순 아

서울대학교 식품영양학과

Pyridoxine Deficiency on Neurotransmitters in the Developing Rat Brain

– Catecholamine Metabolism –

Choi, Haymie and Kang, Soon Ah

Dept. of Food & Nutrition, Seoul National Univ

=ABSTRACT=

Pregnant rats were fed a pyridoxine deficient diet during the gestation and lactation. DEF I group received the deficient diet from delivery ; DEF Ⅱ group, from the 15 th day of gestation. Body and brain weights, brain protein, DNA, RNA, plasma GOT and GPT, and catecholamines were measured. Effect of MAO inhibiting drug, pargyline, was determined. Brain protein, DNA, and RNA of offsprings of deficient groups were significantly lower than the control group, but RNA/ DNA, brain weight/DNA, and protein/DNA show that cell number were more affected than cell size by the pyridoxine deficiency during the 3rd week of gestation and lactation.

Plasma GOT activities were more significantly different than plasma GPT between the control and deficient group. Brain norepinephrine of offsprings of deficient group were significantly lower than the control, but brain dopamine content was not significantly different from the control. At 2nd and 3rd week, norepinephrine was significantly depressed in deficient groups. Pargyline treatment affected a 1.2 fold increase in catecholamines in 3hr while the control had a 1.5 fold increase. Thus norepinephrine and dopamine synthesis was depressed in the deficient groups. Dopaminergic neurons may be less dependent on pyridoxine level than neurons from norepinephrine. Pyridoxine deficiency in maternal diet is not so critical to brain catecholamines of offsprings except to the neonatal rats.

*본 논문은 1983년도 문교부학술연구조성비로 이루어짐.
접수일자 : 1984. 6. 1.

서 론

뇌 성장발달과 생화학적인 조성은 이유기 이전 즉 태아기와 유아기의 영양 상태에 의해 크게 영향을 받는데 특히 세포분열과 세포성장이 신속한 시기이므로 이 시기의 영양부족은 뇌 성장발달 과정에 영향을 미쳐 세포분열을 지연시키고 세포수의 감소를 초래하며[1] 뇌의 생화학적 조성 및 기능에도 영향을 준다[2)3)].최근 여러 vitamin 결핍과 관련된 neuropathology가 연구되고 있는데 특히 vitamin B_6(pyridoxine)은 체내대사의 생화학적인 반응 즉 amino acids metabolism, fatty acid 합성, sphingosine 합성, γ-aminobutyric acid shunt pathway에 중요한 조효소 역할을 하는 필수적인 영양소로서 특히 central nervous system(CNS)에 관여한다[4)5)].

Stephen 등의 연구[6]에 의하면 CNS 발달 동안에 pycidoxine 결핍에 의해 나타나는 발작증세는 glutamic acid decarboxylase(GAD), pyridoxal phosphate (PLP) dependent enzyme activity의 감소와 관련이 깊다고 한다. PLP가 glycogen phosphorylase, kynurenase, α, β-eliminase, amino acid decarboxylase, transaminase의 coenzyme의 기능을 가지고 있는데 pyridoyine deficiency 때 amino acid decarboxylase 보다 transaminase (GOT, GPT)가 더 민감하게 반응한다는 보고도 있다[7]. 그러므로 enzyme의 activity를 측정하여 체내의 B_6상태의 지표로 삼고 vitaminB_6 체내 필요량의 기준으로써 이용된다.

뇌중의 신경전달 물질로써 norepinephrine, dopamine, 5-hydroxytryptamine 기능을 포함한 monoamines 분비의 생합성적인 조절을 포함하는 대사과정연구는 매우 의미있는 것이다.

L-tyrosine의 hydroxylation은 catecholamines합성에 rate limiting step[5)8)]이지만 tyrosine hydroxylation enzyme과 tryptophan의 hydroxylation enzyme은 아미노산 기질에 대한 친밀성[8)9)]와 end product regulation에 의해서 성질이 다르다[10]. Pyridoxal phosphate 는 L-3, 4-dihydroxy phenyl alanine (L-DOPA) decarboxylase의 조효소이므로 pyridoxine 결핍한 동물에서는 뇌중 monoamines 농도의 감소를 초래한다[5].

5-hydroxytryptophan(5-HTP)과 catecholamines의 생합성과정은 L-5-hydroxytryptophan(5-HTP) and L-3, 4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) decarboxylation을 포함하는데 L-DOPA decarboxylating enzyme이 5-HTP decarboxylating enzyme과 동일하다면 pyridoxine 결핍시 catecholamine과 serotonin 농도의 변화가 비슷하게 영향을 받아야 할 것이다. 많은 neurotropic drug에 의해 monoamines 대사에 영향을 주는데 monoamine oxidase(MAO) inhibitor인 pargyline은 여러 amine의 oxidative deamination을 방해하는 능력을 가지고 있고 이 화학물질에 의해 조직내의 amine농도의 뛰어난 증가를 볼 수 있다[11].

본 연구는 임신시의 pyridoxine 결핍에 새끼쥐 뇌중의 DNA, RNA, protein, catecholamines의 함량을 측정하면서 plasma GOT, GPT 활성도도 측정하고 화학물질에 의한 영향을 조사하며 뇌 성장발육 및 뇌 조직 성분, 대사과정에 미치는 영향을 살피고자 한다.

실험재료 및 방법

1) 실험동물 및 식이

평균체중이 220-230g 정도 되는 Sprague-Dawley 종 virgin female을 정상숫컷쥐(male : female = 1:2)로 교배시켜서 임신후 3군으로 나누어 실험식이로 사육하였는데 식이성분은 Table 1과 같다. 조절식이는

Table 1. Composition of experimental diet (g/100g diet)

	Pyridoxine-deficient	Pyridoxine-supplemented
Vitamin-free casein[1)]	20.0	20.0
Corn starch	59.7	59.7
Corn oil	10.0	10.0
Salt mixture[2)]	4.0	4.0
Cellulose[3)]	5.0	5.0
Vitamin mixture $-B_6$[4)]	1.0	–
$+B_6$[5)]	–	1.0
DL-methioine	0.3	0.3

1) ICN Nutritional Biochemicals, Cleveland Ohio, USA.
2) AIN Mineral Mixture 76. ICN Nutritional Biochemicals, Cleveland Ohio, USA.
3) ICN Nutritional Biochemicals, Cleveland Ohio, USA.
4) Vitamin fortification mixture, without B_6, ICN.
5) 〃 , ICN.

pyridoxine 10㎎/㎏ diet, 결핍식이는 pyridoxine 0 ㎎/㎏ 이다. Control군은 실험 전기간 control diet로 7주간 ad libitum으로 사육하고 deficient Ⅰ(DEF Ⅰ)은 출산 직후부터 결핍식이를, deficient Ⅱ (DEFⅡ)는 임신후 2주부터 결핍식이를 7주간 ad libitum으로주었다.

2) Sampling

분만직후, 생후1주, 2주, 3주, 4주, 5주 및 7주에 새끼쥐의 체중을 측정하고 각군에서 몇가지씩 무작위 추출하여 decapitate하여 혈액을 받아 EDTA를 (1㎎/㎖ blood) 사용하여 즉시 3000×g 에서 20분간 원심분리 시킨후 plasma를 분리하고 뇌와 함께 −20℃에서 즉시 냉동 저장한다. Plasma는 GOT, GPT 를 측정하는 데 뇌는 DNA, RNA, protein, catecholamine를 측정하는 데 사용했다. 분만직후 각 어미에서 태어난 새끼수를 8마리로 조정해 주었다.

3) 분석방법

(1) 성장율

흰쥐의 분만직후, 생후1주, 2주, 3주, 4주,5주 및 7주에 같은 시각에 체중을 측정하였고 희생 직후에 뇌의 무게 측정을 하였다.

(2) 생화학적 분석

① 뇌에서의 protein 정량

뇌에서의 protein 정량은 Lowry 방법[12]에 의해측정하는데 표준단백질은 bovine serum albumin (0.3 ㎎/㎖)을 사용하였다.

② 뇌에서의 DNA, RNA 정량

Cd(Ⅱ) salt를 이용하여 nucleic acid를 침전 시킨후 orcinol, diphenylamine 반응[13]에 의해서 측정하였다.

③ 뇌중의 catecholamine 정량

Norepinephrine(noradrenaline, arternol)과 dopamine은 Ansell[14]과 Gorden[15] 방법에 의해 Farrand Mark−Ⅰ spectrophotofluorometer로 측정했다.

④ 화학물질에 의한 영향

생후 3주, 4주 및 5주에 뇌중의 monoamines 함량을 Curzon과 Green방법[16]에 의해 pargyline을 투여한 후 측정했다. MAO inhibitor인 pargyline은 0.9%(w/v) saline용액에 녹여서 동물을 희생하기 3시간전에 복막에 250㎎/㎏ 주입시켰다.

⑤ Plasma 중의 transaminases 활성도

Keto acid와 amino acid의 상호 전환을 촉매하는 GOT, GPT activity 측정은 dinitrophenyl hydrazine[17] 반응에 의해 측정했다.

(3) 통계처리 방법

위의 분석결과에 의한 각 군간의 차이에 대한 통계적 유의성은 Student's t−test[18]로 점검하였다.

실험결과 및 고찰

1) 체중 증가량 및 행동관찰

새끼쥐의 실험 기간동안 체중의 변화는 Table 2에 나타난 바와 같다. Control group 체중은 현저하게 증

Table 2. Effect of pyridoxine defieient diet on body weight of offsprings

Age(weeks) \ Group	Control	DEF Ⅰ	DEF Ⅱ
0	6.24 ± 0.56(88)[a b]	6.24 ± 0.56(88)	6.01 ± 0.54(43)
1	15.32 ± 2.57(44)	13.67 ± 1.67(42)*	15.42 ± 2.27(25)+
2	33.71 ± 2.09(40)	26.62 ± 3.00(28)**	21.32 ± 1.95(20)++**
3	54.60 ± 3.60(31)	34.06 ± 4.45(18)**	22.50 ± 3.67(5)++**
4	78.63 ± 7.46(28)	37.34 ± 6.97(18)**	
5	115.52 ± 7.62(20)	39.57 ± 3.60(12)**	
7	196.67 ± 7.64(10)	56.70 ± 2.36(3)**	

a : Mean ± S.D.
b : Number of animals used for calculation
* : P < 0.05 significantly different from control group
** : P < 0.01 〃 〃 〃 〃
\+ : P < 0.05 significantly different from DEF Ⅰ group
++ : P < 0.01 〃 〃 〃 〃

가하는데 반해 deficient group은 서서히 증가되어 시간이 지날수록 차이가 더욱 심해졌다. 생후 2주 부터 control, DEF Ⅰ은 유의적인 차이를 보여주며 DEF Ⅰ DEF Ⅱ 사이에도 유의적인 차이가 나타났다. 분만직후 DEF Ⅱ는 control에 비해 낮았고 이유시에는 DEF Ⅰ, Ⅱ는 control에 비해 유의적인 차이를 나타냈다(Ⅰ:62%, Ⅱ: 41%). 이것은 임신시의 영양적인 제한이 새끼쥐의 성장에 영향이 크다는 것을 알 수 있다.

DEF Ⅰ group의 새끼쥐는 점점 약해져서 죽음에 이르렀기 때문에 수유기간동안 생존율이 떨어졌고 Ⅱ group 어미쥐는 정신 이상으로 새끼쥐를 잡아먹었기 때문에 성장기간은 제외를 했다.

수유기간 동안 DEF Ⅰ, Ⅱ group 어미쥐의 식이섭취량은 control과 별차이가 없었으나 그들의 새끼쥐는 털이 많이 빠지고 색깔이 밝지 않고 control보다 피부가 거칠었다. 생후 2주, 3주에 DEF의 새끼쥐는 전율, 빠른 운동, 발작증세가 나타났는데 증상의 시작과 뇌발달의 critical period와 부합되는 것을 알 수있었다.

이유 후 체중의 현저한 차이는 Moon and Kirksey[19]의 연구와 일치함을 보였고 DEF에서 체중감소와 성장속도 감소와 연관시켜볼 때 어미쥐의 pyridoxine결핍이 새끼쥐의 정상적인 체중증가를 저해한다.

결핍한 어미의 새끼쥐 체중과 크기의 감소는 milk 생성의 감소, 결핍한 어미쥐의 milk에 낮은 vitamin B_6 함량 혹은 새끼쥐의 젖빠는 능력(suckling)의 약화에 의한 것이라 생각되는 데 한 연구[20]에 의하면 vitamin B_6결핍은 milk생성 감소보다 milk에 B_6 함량 감소를 가져왔고 Zeman의 연구[21]에서는 protein 결핍한 어미쥐는 젖빠는 능력약화에 의해 적당한 milk 감소를 초래한다고 했다.

한편 Rose의 연구[22]는 여러 pituitary hormone조절에 그들의 영향이 서로 반대적인 작용을 하여 dopamine은 pituitary에 직접 영향을 주어 prolactin 분비를 방해한 것이라고 한다. National Research Council[23]에서는 1㎏의 식이에 7㎎의 pyridoxine이 함유된 것을 추천하고 있는데 Driskell 연구[24]에 의하면 정상적인 성장을 위해 하루에 평균적으로 15㎎ pyridoxine이 함유된 suboptimal diet를 권유했다. 그러나 최근 연구[19]에 의하면 NRC에서 추천하는 pyridoxine의 양으로 성장, 임신기간, 수유기간 동안 먹은 어미쥐에 의해 수유시킬 때 새끼쥐의 생존률이 떨어졌다고 한다. 그러므로 본 연구에서의 10㎎ pyridoxine의 양은 정상적 성장에 적당하다고 생각한다.

2) 뇌의 무게의 변화

실험 기간동안 뇌의 무게도 Fig. 1에서 보는 바와 같이 체중과 비슷하게 DEF group과 control group 간에 유의적인 차이를 나타내지만 Ⅰ, Ⅱ는 그렇게 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이유시 DEF Ⅰ은 67%, DEF Ⅱ는 55%로 가장 큰 차이를 보였다. 이유전 뇌성장은 이유후 보다 빠른 속도로 증가함을 볼 수 있고 뇌 성장은 체중증가 지연만큼 심하지는 않지만 임신말기나 수유기 어미쥐 결핍이 새끼쥐의 정상적인 뇌성장 발달을 지연시킴을 알 수 있다. Moon과 Kirksey 보고[19]에 의하면 임신 후반기 동안의 pyridoxine결핍이 태아시기 뇌 성장 발달에 해로운 영향을 미친다고 했고 수유기간 동안 섭취한 음식의 질은 뇌의 기능적인 발달에 중요한 역할을 한다고 했다. 또한 많은 연구[4)6)25)]에 의하면 vitamin B_6는 유아성장에서 CNS의 대사, 뇌발달 기능에 필수적인 영양소라고 지적했다.

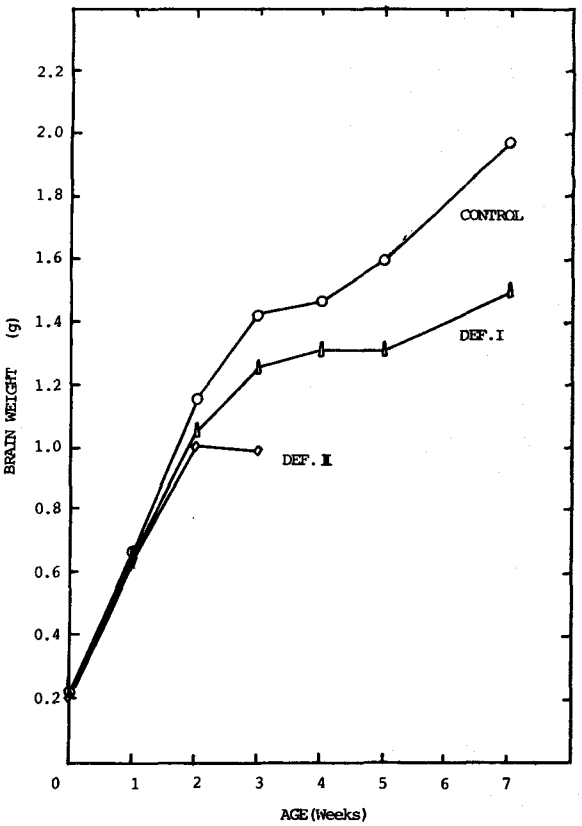

Fig. 1. Effect of pyridoxine deficient diet on brain weight of offsprings.

뇌의 무게를 단위 체중당으로 표시하면 Table 3에 나타난 바와 같이 DEF group이 control group보다 높게 나타났는데 이는 DEF의 뇌무게는 control 보다 작으나 DEF의 체중 감소량이 control보다 크기 때문에 그 비율은 증가했다. 이러한 사실로 pyridoxine결핍에 의해 전체 체중보다 뇌는 자체 보호능력이 크다는 많은 보고들[21)26)27)]을 확신시켜 주었다.

3) 뇌의 단백질 함량

실험 기간동안 뇌의 단백질 함량은 Table 4 에서 보는 바와 같다.

DEF Ⅰ과 Ⅱ group은 control group에 비해 매우 심하게 감소를 했으나 Ⅰ과 Ⅱ사이에는 함량은 감소하는데 반해 유의적인 차이가 없었다. 이유시에는 Ⅰ은 67%, Ⅱ는 55%로 현저한 차이를 보였다. 뇌의 단백질 함량에는 deficient diet가 이유전 뿐만 아니라 이유후에도 영향을 미친다. 단백질 합성은 성장이 완성될 때까지 지속되고 PLP가 합성에 관여하므로 생후 pyridoxine 결핍에 의해 단백질 합성을 지연시킴에 따라 함량을 감소시킨다고 생각한다. 단백질 합성에 PLP가 중요하므로 유아기의 발달동안 pyridoxine 결핍의 영향은 총단백질 함량에 유의적인 감소를 초래한다.

여러 연구자들에 의해 deficient group의 단백질 합성은 출생후 2주부터 어미쥐의 pyridoxine 결핍에 의해 심하게 영향을 받아서 뇌중의 단백질 함량의 감소를 초래한다고 한다[4)19)28)].

4) 뇌중의 DNA, RNA 함량

세포수의 지표인 DNA값은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 생후 2주부터 control보다 deficient group은 매우 유의적인 차이를 보였다. 특히 이유전에 DEF Ⅱ는 Ⅰ보다 유의적으로 낮았고 이때 DEF Ⅰ은 69%, Ⅱ는 39%의 수치를 보였다. 뇌중의 RNA는 Fig. 2에서 보면 deficient group은 control에 비해 유의적인 차이를 보였다. 특히 생후 2주때 71%, 7주때는 78%를 보이고 DEF Ⅱ group에서는 출생시 Ⅰ보다 유의

Table 3. Effect of pyridoxine deficient diet on various ratios of offsprings

Group \ Weeks \ Ratios		Brain weight/body weight	RNA / DNA	Brain weight/DNA	Protein / DNA
CONTROL	0	3.397	1.120	25.54	10.29
	1	4.120	1.042	34.13	13.84
	2	3.435	1.187	30.88	13.41
	3	2.615	1.147	28.79	12.45
	4	1.875	1.159	27.25	11.47
	5	1.381	1.086	24.88	10.70
	7	0.966	1.083	25.80	11.96
DEF. I	0	3.397	1.120	25.54	10.29
	1	4.616	1.092	36.47	11.36
	2	3.989	1.199	39.78	13.32
	3	3.673	1.270	36.26	12.00
	4	3.554	1.274	33.34	13.97
	5	3.351	1.373	32.50	13.58
	7	2.647	1.246	29.72	11.78
DEF. II	0	3.463	1.140	36.49	13.58
	1	4.245	1.645	61.12	17.07
	2	4.942	1.335	47.01	13.29
	3	2.193	1.535	50.40	17.31

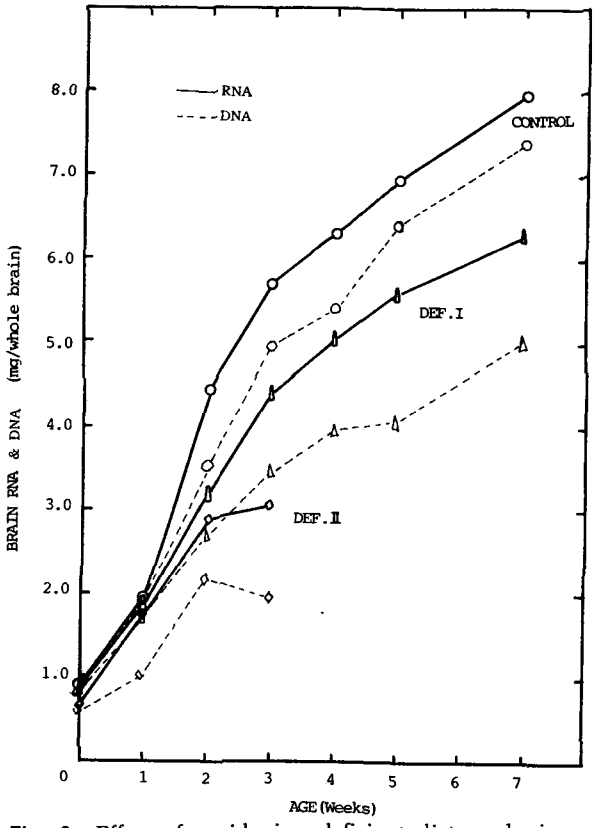

Fig. 2. Effect of pyridoxine deficient diet on brain DNA and RNA of offsprings.

적으로 낮은 수치를 보여 69%이다. 이유때는 매우 유의적인 차이를 나타내서 이유 후보다 생후 2～3 주때 가장 영향이 크다. Nucleic acid 전구체인 active formaldehyde는 serine-hydroxy methytransferase reaction에 의해 생성되는데[30] PLP가 매우 중요한 역할을 하므로 본 연구의 DNA, RNA함량은 어미쥐의 pyridoxine deficient diet에 의해 영향을 받는다.

임신 기간과 수유기간 동안의 어미쥐의 pyridoxine 결핍이 새끼쥐의 뇌 DNA를 감소시킨다는 것은 pyridoxine 결핍이 새로운 세포형성 감소에 큰 영향을 미친다는 것을 알 수 있다. 비슷한 연구로 Moon과 Kirksey[19]는 태아시기와 유아시기 발달동안 세포성장에 B_6 결핍이 nucleic acid 합성에 필요한 one carbon units의 부적당한 생성 뿐만 아니라 부적당한 amino acid가 protein합성을 변화시켜 세포 분열에도 영향을 준다. Driskell과 Kirksey 연구[6]에서는 태아 뇌에서 최대 ribosomal 기능을 하는데는 임신기간동안 적어도 15-20*mg* pyridoxine이 필요하다고 한다. Protein/DNA 비율은 세포성장의 지표로써 DEF Ⅰ, Ⅱ는 control 보다 높은 수치를 나타내고 있는데(Table 4), 이러한 사실은 어미쥐의 결핍에 의해 새끼쥐의 뇌에서 세포분열이 세포 크기의 성장보다 더욱 심한영향을 받았음을 보여주고 있다. 나이에 따른 뇌중의 RNA/DNA 비율이 비슷한 결과를 보여주는 많은 연구[19)24)28)]가 있다.

Table 4. Effect of pyridoxine deficient diet on brain protein of offsprings (mg/whole brain)

Group / Age(weeks)	Control	DEF Ⅰ	DEF Ⅱ
0	8.54 ± 0.64(34)[a,b]	8.54 ± 0.64(34)	7.74 ± 1.30(28)
1	26.16 ± 2.10(14)	19.65 ± 1.95(18)**	18.26 ± 3.05(20) **
2	50.29 ± 1.01(14)	35.57 ± 0.93(14)**	29.78 ± 3.75(15) **
3	61.73 ± 1.38(19)	41.41 ± 6.97(15)**	34.27 ± 7.70(17) **
4	62.05 ± 3.48(18)	55.59 ± 1.91(16)*	
5	68.58 ± 2.69(16)	55.40 ± 1.95(9)**	
7	88.01 ± 4.20(3)	59.49 ± 4.43(3)**	

a : Mean ± S.D.
b : Number of animals used
* : $P < 0.05$ significantly different from control group
** : $P < 0.01$ 〃 〃 〃 〃

5) 뇌중 catecholamines 함량

뇌중 catecholamines (norepinephrine, dopamine)에 pyridoxine deficiency의 영향이 Fig. 3, 4에 보여진다. Fig. 3에서 control group과 deficient group 사이에 나이에 따른 norepinephrine의 값은 점차적인 상승을 보였지만 DEF group은 control group보다 유의적으로 낮았고, 나이에 따른 뇌중 dopamine의 변화는 norepinephrine처럼 큰 차이를 보이지 않았다 (Fig. 4). DEF I과 control 사이에는 양의 차이가 없었으나 DEF I과 II 사이에는 유의적인 차이가 나타났다. 또한 dopamine의 함량은 norepinephrine 함량보다 약간 높은 것을 볼 수 있었다. PLP가 amino acid decarboxylase의 조효소로써 역할을 하므로 CNS에서 amine metabolism에 pyridoxine 결핍은 매우 흥미로운 일이다. 많은 연구자들은 pyridoxine 결핍시 aromatic amino acid decarboxylase의 뇌중의 값이 감소한다고 보고[6)7)27)]했다. 그러나 norepinephrine과 epinephrine의 농도는 pyridoxine 결핍한 쥐나 대조군

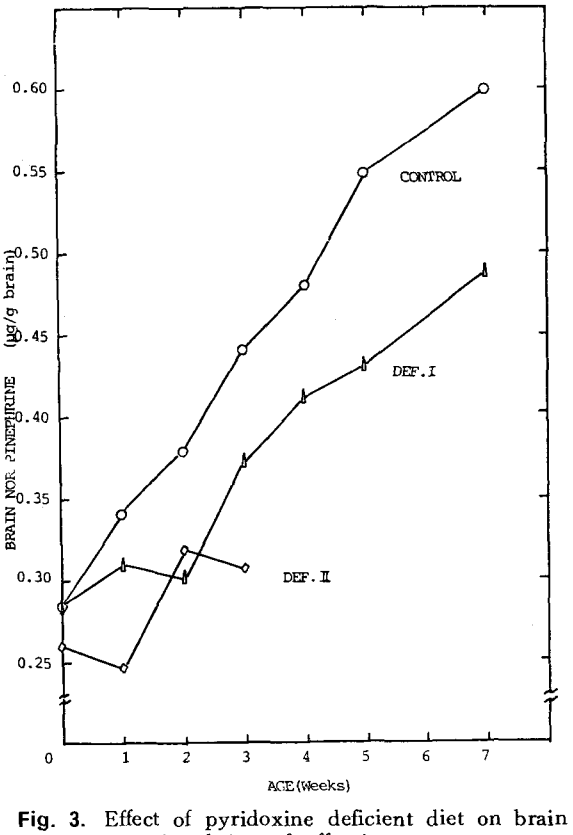

Fig. 3. Effect of pyridoxine deficient diet on brain norepinephrine of offsprings.

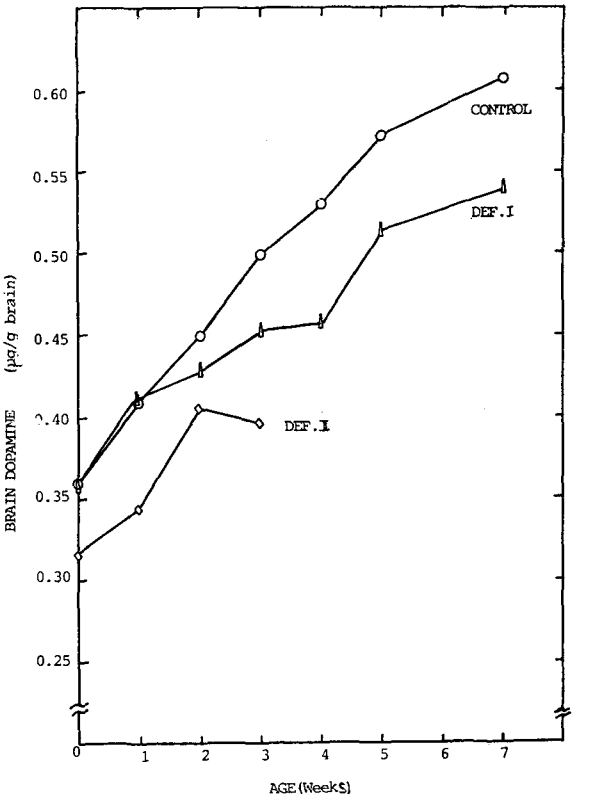

Fig. 4. Effect of pyridoxine deficient diet on brain dopamine of offsprings.

사이에 별다른 차이가 없었다[8)].

본 연구에서 성장 발달 기간동안 pyridoxine 결핍시 norepinephrine 농도는 유의적으로 감소하는 데 비해 dopamine은 유의적인 차이는 나타나지 않았고 dopamine 함량변화는 norepinephrine 변화보다 크지 않았다. 즉 pyridoxine 결핍시 dopaminergic neuron은 norepinephrinergic neuron 보다 덜 영향을 받았다. 즉 어미쥐의 pyridoxine 결핍은 유아시기를 제외하고는 새끼쥐의 뇌중 catecholamine에 큰 영향을 주지 않았다. Brain catecholamines와 serotonin의 비평행적 변화에 대한 보고가 있는데[1)5)] 이는 amine들의 합성이 서로 분리되어서 조절된다고 볼 수 있음을 가리킨다. Amine 합성에 carboxylase와 hydroxylase의 성질을 고려해 볼 때[9)] tyrosine hydroxylase는 tyrosine에 대해 낮은 *km* (3.7×10^{-5}M) 값을 가지며 tyrosine에 포화되어 있으며[10)11)] pyridoxine 결핍한 쥐 tyrosine 농도는 control 쥐의 80%이다[3)]. 이 효소는 대사물질인 dopamine, norepinephrine 혹은 생성물질인 3,4-dihy-

droxyphenylalanine에 의해서 방해되는 데 tyrosine hydroxylation 조절에 있어서 feedback inhibition 중요성에 대해서 많이 언급되었다[9)10)11)]. Tyrosine hydroxylation은 substrate availability 보다 feedback inhibition에 의해 조절되지만 tryptophan hydroxylase는 효소에 대한 기질의 불포화로 높은 *km*값을 가짐으로써[9)11)] 뇌중 serotonin 합성에 brain, plasma tryptophan이 관련될 수도 있다는 가능성을 비추어 주었다. 그러므로 monoamines 대사과정에 관여하는 tyrosine hydroxylase, tryptophan hydroxylase enzyme activity에 대한 연구가 더 진행되어야 하며 monoamines 합성에 관여하는 DOPA, 5-HTP decarboxylating enzyme 비교에 대한 연구가 보충되리라 생각된다.

6) 화학물질의 영향

Pargyline을 이용해서 monoamines oxidase를 방해하여 control group과 DEF I의 brain norepinephrine, dopamine을 출생 3주, 4주, 5주때 비교된 것을 Table 5에서 볼 수 있다. Pargyline이 산화를 방해함으로써 모든 monoamines의 실지 수치는 높았다. 그러나 brain norepinephrine에서 deficient 군은 control 군에 비해 유의적인 차이가 없었고 dopamine은 약간의 차이가 있었다. Pargyline을 투여했을 때 무기력해지면서 혼수상태로 들어가고 때때로 경련을 일으키기도 한다. Pargyline 투여시 control 군은 catecholamines가 1.5배 상승하는데 반해 결핍군은 1.2배 상승함을 볼 수 있는데 이는 catecholamines 합성이 결핍군에서 감소됨을 알 수 있다. 많은 연구자들에 의해서 monoamine 대사에 영향을 주는 neurologic drug를 투여시에 비슷한 결과를 얻었다[5)16)]. 일반적으로 MAO inhibitor은 monoamines oxidative deamination에 관여하는 효소뿐만 아니라 MAO와 관련없는 succinic dehydrogenase, dopamine hydroxylase, 5-HTP decarboxylase, diamine oxidase같은 효소를 방해한다[11)]

7) 혈장 transaminases의 활성도

대사에 관여하는 vitamin B_6 조효소의 다른 기능중의 하나는 transamination에 관여하는 것이다. 실험기간 동안 혈장 glutamic pyruvate transaminase (GPT)의 활성도는 Fig. 5에 보여지는 바와 같이 DEF I은 control 보다 유의하게 낮았고 큰 차이는 생후 4주 때 control의 48%의 수치를 보였다. 또한 혈장 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)의 활성도는 Fig. 5에 보여지는 데 생후 0, 1주를 제외하고는 실험기간 동안 결핍군 DEF I, II은 control 군에 비해 유의적으로 낮았다. 특히 DEF II는 I에 비해 유의적인 차이를 보여 1주때 DEF I의 59%, 이유때 control의 33%이다. 혈장 GOT 활성도는 control과 결핍군 사이에 혈장 GPT활성도에 비해 매우 유의적인 차이를 나타냈다. 즉 pyridoxine 결핍에 의해 transamination 반응에 영향을 주었다. 실험 기간 동안 혈장 GOT 활성도는 control 보다 결핍군이 유의적으로 낮은 것을 볼 수 있었고 GPT 활성도는 생후 3,4주에만 유의적인 차이를 보인 것으로 보아 혈장 GOT 활성도가 py-

Table 5. Effect of pargyline treatment on brain catecholamines of offsprings (μg / g brain)

Group	Age (weeks)	Norepinephrine		Dopamine	
		untreated	treated	untreated	treated
Control	3	0.443 ± 0.019 [a]	0.486 ± 0.071	0.499 ± 0.011	0.647 ± 0.008
	4	0.478 ± 0.028	0.581 ± 0.048	0.530 ± 0.009	0.634 ± 0.002
	5	0.549 ± 0.021	0.625 ± 0.092	0.574 ± 0.006	0.704 ± 0.052
Def. I	3	0.372 ± 0.011 **	0.508 ± 0.019	0.452 ± 0.018	0.499 ± 0.001 **
	4	0.412 ± 0.009 **	0.591 ± 0.020	0.458 ± 0.028 *	0.546 ± 0.014 *
	5	0.432 ± 0.007 **	0.648 ± 0.003	0.514 ± 0.013	0.561 ± 0.006

a : Mean ± S. D.
*: $P < 0.05$, Significantly different from control group
**: $P < 0.01$, 〃 〃 〃 〃

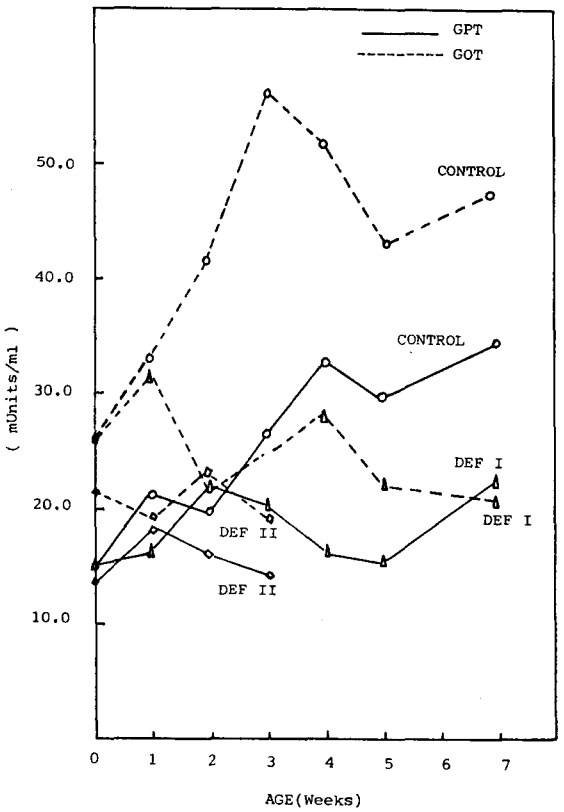

Fig. 5. Effect of pyridoxine deficient diet on the activity of glutamic-pyruvic transaminase and glutamic-oxaloacetic transaminase in plasma of offsprings.

ridoxine 영양상태의 지표로써 더 민감하게 반응함을 알 수 있다.

많은 비슷한 연구 결과가 나왔는데 인간에 있어서 vitamin B_6 영양상태의 임상적 평가는 erythrocytes GOT, GPT의 total, holoenzyme 활성도 사이의 비율, 즉 activation factor (α)를 많이 사용한다[31]. Erythrocyte GOT가 GPT activity 보다 vitamin B_6 상태를 평가하는 기준으로는 더 많이 사용하고 있다는 보고[27]가 있는가 하면 그 반대되는 연구[4][32]도 있다. 최근 여러 연구자들에 의하면 in vitro 실험으로 PLP첨가에 의한 erythrocyte GPT 활성도의 stimulation 백분율 변화가 활성도 자체 측정보다 영양상태 평가에 더 적당하다는 보고[33][34]도 있으므로 좀 더 포괄적인 비교 연구가 요구된다고 하겠다.

결 론

임신한 어미쥐에 임신 기간과 수유 기간 동안 pyridoxine 이 결핍한 식이를 주었을 때 뇌의 신경 전달물질에 미치는 영향을 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 실험 기간 중 새끼쥐의 체중과 뇌의 무게는 모체의 제한 식이를 오래 시행할 수록 현저하게 감소됨을 볼 수 있었다. 체중은 이유전보다 이유후에 증가하는 추세인데 반해 뇌의 무게는 생후 초기에 증가하다가 이유 후에 안정되는 경향을 보여 두뇌 성장이 생후 초기에 활발히 일어남을 재확인하고 임신시의 영양적인 제한이 새끼쥐의 성장과 뇌 발달에 영향이 크다는 것을 알 수 있다.

2) 뇌의 단백질 함량에 결핍식이가 이유전 뿐만 아니라 이유후에도 영향을 미치는 것으로 단백질 합성은 성장이 완성될 때까지 지속되고 생후 pyridoxine 결핍에 의해 단백질 합성을 지연시켜 함량을 감소시킨다.

3) 새끼쥐 뇌 DNA, RNA 함량을 감소시킨다는 것은 pyridoxine 결핍이 새로운 세포형성에 큰 영향을 준다는 것을 알 수 있고 결핍군에서 RNA/DNA, protein/DNA, brain weight/DNA 비율이 control보다 높은 것으로 새끼쥐 뇌에서 세포분열이 세포 크기 성장보다 더욱 심한 영향을 받음을 보여준다.

4) 혈장 GOT 활성도는 실험 기간 동안 유의적인 차이가 있는 데 반해 혈장 GOT활성도는 생후 3, 4주에만 유의성 있는 것으로 보아 혈장 GOT가 pyridoxine 영양상태의 지표로써 더 민감하게 반응함을 알 수 있었다.

5) Monoamine oxidase의 inhibitor인 pargyline을 투여시 brain norepinephrine 보다 dopamine 에서 유의적인 차이를 보였으나 pargyline에 의해 산화가 방해됨으로써 모든 monoamines의 실지 수치는 높았다.

6) 나이에 따른 뇌중 catecholamines 함량은 증가하지만 결핍식이에 의한 norepinephrine 농도는 유의적으로 감소하는데 반해 dopamine은 유의적인 차이를 보이지 않은 것으로 pyridoxine이 dopaminergic neuron에 덜 영향을 준다는 것을 알 수 있었다.

본 연구를 통해서 임신기와 수유기의 어미쥐의 pyridoxine 결핍이 새끼쥐의 정상적인 뇌 성장 발달과 뇌 조직 구성물질, 뇌 신경 전달 물질에 영향을 미침을 알 수 있었다.

REFERENCES

1) Wurtman, R.J. & Wurtman, J.J.: *Determinants of the Availability of nutrients to the*

brain. Nutrition and the Brain. vol. 1: 178 –185, 1977.

2) Williamson, B. & Coniglio, J.G.: *The effects of pyridoxine deficiency and of caloric restriction on lipids in the developing rat brain. J. Neurochem. 18: 267–276, 1971.*

3) Kurtz, D.J., Levy, H., & Kanfer, J.N.: *Cerebral lipids and amino acids in the vitamin B_6 deficient suckling rat. J. Nutr. 102: 291 –298, 1972.*

4) Driskell, J.A., Strickland, L.A., Poon, C.H., & Foshee, D.P.: *The vitamiue B_6 requirement of the male rat as determined by behavioral patterns, brain pyridoxal phosphate and nucleic acid composition and erythrocyte alanine aminotransferase activity. J. Nutr. 103: 670 –680, 1973.*

5) Dakshinamurti, K., Blancq, W.D., Herchl, R., & Havlicek, V.: *Nonparallel changes in brain monoamines of pyridoxine deficient growing rats. Exp. Brain Res. 26: 355 –366, 1976.*

6) Stephens, M.C., Havlicek, V., & Dakshinamurti, K.: *Pyridoxine deficient and development of the central nervous system in the rat. J. Neurochem. 18: 2407–2416, 1971.*

7) Dietrich, L.S. & Shapiro, D.M.: *Antagonist studies: Comparison of deoxy–pyridoxine and pyridoxine deficient on various vitamin B_6 enzyme. Proc. Soc. Exp. Med. 84: 555 – 558, 1953.*

8) Sourkes, T.L.: *Influence of specific nutrients on catecholamine synthesis and metabolism. Pharmacol. Reviews 24: 349 –359, 1972.*

9) Carlesson, A., Kehr, W., Linqvist, M., Magnusson, T., & Atack, C.V.: *Regulation of monoamine metabolism in the central nervous system. Pharmacol. Reviews. 24: 371 –384, 1972.*

10) Spector, S., Gordon, R., Sjoerdsma, A., & Udenfriend, S.: *End–product inhibition of tyrosine hydroxylase as a possible mechanism for regulation of norepinephrine synthesis. Mol. Pharmacol. 3: 549 –555, 1967.*

11) Costa, E. & Meek, J.L.: *Regulation of biosynthesis of catecholamines and serotonin in the central nervous system. Ann. Rev. Pharmacol. 14: 491–511, 1974.*

12) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., & Randall, R.J.: *Protein measurement with the Folin Phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265 –275, 1951.*

13) Hatcher, D.W. & Goldstein, G.: *Improved methods for determination of RNA. Anal. Biochem. 31: 42 –50, 1969.*

14) Ansell, G.B. & Beeson, M.F.: *A rapid and sensitive procedure for the combined assay of noradrenaline, dopamine and serotonin in a single brain sample. Anal. Biochem. 23: 196 – 206, 1968.*

15) Shellenberger, M.K., & Gordon, J.H.: *A rapid, simplified procedure for simultaneous assay of norepinephrine, dopamine and serotonin from discrete brain areas. Anal. Biochem. 39: 356 –372, 1971.*

16) Curzon, G. & Green, A.R.: *Rapid method for the determination of 5–hydroxytryptamine and 5–hydroxyindole acetic acid in small regions of rat brain. Brit. J. Pharmacol. 37: 689 –697, 1969.*

17) Reitman, S. & Frankel, S.: *A colorimetric methods for the determination of serum GOT and GPT. Am. J. Clin. Pathol. 28: 56 –63, 1967.*

18) Harnett & Murphy: *Introductory statistical analysis. Addison–Wesley Publishing Company. Inc. 360 –364, 1975.*

19) Moon, W.Y. & Kirksey, A.: *Cellular growth during prenatal and early postnatal periods in progeny of pyridoxine deficient rats. J. Nutr. 103: 123 –133, 1973.*

20) Roberts, B.W.: *Lactation and human milk. In: Nutrition in pregnancy and lactation. pp. 166 –167, Mosby Co., 1981.*

21) Zeman, F.J. & Stanbrough, E.C.: *Effect of maternal protein deficiency on cellular development in the fetal rat. J. Nutr. 99: 274 –282, 1969.*

22) Darid, P. R.: *The interactions between vitamin B_6 and hormones. Vitamins and Hormones 36: 54–91, 1978.*

23) National Research Council: *Nutrient requirements of laboratory animals. National Academy of Sciences. Washington, D. C. 56–93, 1972.*

24) Driskell, J. A. & Foshee, D. P.: *Behavioral patterns and brain nucleic acid and pyridoxal phosphate contents of male rat progeny from vitamin B_6-repleted dams. J. Nutr. 104: 810–818, 1974.*

25) Cursion, D.B.: *Vitamin B_6 and brain function in animals and man. Ann. N.Y. Acad. Sci. 166: 7–15, 1969.*

26) Thomas, M.R. & Kirksey, A.: *Postnatal patterns of fatty acids in brain of progeny from vitamin B_6 deficient rats before and after pyridoxine supplementation. J. Nutr. 106: 1415–1420, 1976.*

27) Dakshinamurti, K. & Stephens, M.C.: *Pyridoxine-deficiency in the neonatal rat. J. Neurochem. 16: 1515–1522, 1969.*

28) Driskell, J. A. & Kirksey, A.: *The cellular approach to the determination of pyridoxine requirements in pregnant and nonpregnant rats. J. Nutr. 101: 661–667. 1971.*

29) Mandell, A.J., Knapp, S., & Hsu, L.L.: *Some factors in the regulation of central serotoninergic synapses. Life Sci. 14: 1–17. 1974.*

30) Trakatellis, A.C. & Axelrod, A.E.: *Effect of pyridoxine deficiency on nucleic acid metabolism in the rat. Biochem. J. 95: 344, 1965.*

31) Sauberich, H.E., Canham, J.E., Baker, E.M., Raica, N.J., & Herman, Y.F.: *Biochemical assessment of the nutritional status of vitamin B_6 in the human. Am. J. Clin. Nutr. 25: 629–642, 1972.*

32) Cinnamon, A.D. & Beaton, J.R.: *Biochemical assessment of vitamin B_6 status in man. Am. J. Clin. Nutr. 23: 696–702, 1970.*

33) Woodring, M. & Storvick, C.A.: *Effect of pyridoxine supplementation on glutamic-pyruvic transaminase and in vitro stimulation in erythrocytes of normal women. Am. J. Clin. Nutr. 23: 1385–1395, 1970.*

34) Kirksey, A., Pang, R.L., & Lin, W.J.: *Effect of different levels of pyridoxine fed during pregnancy superimposed upon growth in the rat. J. Nutr. 105: 607–615, 1975.*