KISEP Original Article 대한간질학회지 2003;7(2):108-111

케톤생성식이요법에 의한 연령-의존성 케토시스에 대한 연구*

김동욱[1] · 문진수[1] · 장현오[1] · 박희동[2] · 김재문[2] · 정기영[3] · 채수안[4] · 박호진[5]

인제대학교 의과대학 일산백병원 소아과학교실,[1] 충남대학교 의과대학 신경과학교실,[2]
성균관대학교 의과대학 삼성의료원 신경과학교실,[3] 중앙대학교 의과대학 소아과학교실,[4]
을지의과대학 소아과학교실[5]

A Study on the Age-Dependent Ketosis Induced by the Ketogenic Diet

Dong Wook Kim, M.D.[1], Jin Soo Moon, M.D.[1], Hyun Oh Jang, M.D.[1], Hee-Dong Park, M.S.[2], Jae-Moon Kim, M.D.[2], Ki-Young Jung, M.D.[3], Soo Ahn Chae, M.D.[4] and Ho Jin Park, M.D.[5]

Department of Pediatrics,[1] Ilsan Paik Hospital, Inje University College of Medicine, Goyang,
Department of Neurology,[2] Chungnam National University College of Medicine, Daejeon,
Department of Neurology,[3] Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul,
Department of Pediatrics,[4] Chung-Ang University College of Medicine, Seoul,
Department of Pediatrics,[5] Eulji University School of Medicine, Daejeon, Korea

Purpose : Ketogenic diet (KD) remains a therapy in search of explanation although it is an established treatment for patients with intractable epilepsy. It has been clinically proven more efficacious at younger ages, presumably because of the enhanced ability of the immature brain to extract and utilize ketone bodies. The study was designed to investigate whether ketosis induced by the KD is age-dependent.

Methods : A KD ([fat] : [protein+carbohydrate] ratio of 4.3 : 1) was administered to male Sprague-Dawley rats for 3 weeks, while control animals were fed a standard rodent chow. Dietary treatment was initiated at either postnatal 3 or 12 weeks. Blood β-hydroxybutyrate (BHB) levels were assayed from blood obtained via the tail vein with the Keto-Site™ reflectance meter and test cards on treatment day 21.

Results : Blood BHB levels in the KD-treated group were significantly higher than those in the control group in 3 week-old rats (4.18±0.62 [n=30] vs. 0.27±0.02 [n=30] mM, respectively; $p<0.0001$) and 12 week-old rats (0.86±0.06 [n=30] vs. 0.22±0.02 [n=30] mM, respectively; $p<0.0001$). In the KD-treated groups, blood BHB levels of 3 week-old animals were significantly higher than those of 12 week-old ones ($p<0.0001$), whereas in the control groups, no significant differences in blood BHB levels between the two age groups ($p>0.05$).

Conclusions : The present study demonstrates that the KD induces more severe ketosis in younger rats. Age-dependent differences in the degree of ketosis induced by the KD may explain that the diet is clinically more efficacious at younger ages. (J Korean Epilep Soc 2003;7(2):108-111)

KEY WORDS : Ketogenic diet · β-Hydroxybutyrate · Ketosis · Age · Epilepsy · Rat.

서 론

케톤생성식이요법(ketogenic diet)은 난치성 간질 환자의 치료에 사용되고 있는 매우 효과적인 치료법이다. 이 식이요법은 특히 소아에서 연령이 어릴수록 더 효과적인 것으로 알려져 있다.[1] 그 이유는 성인보다는 연령이 어린 소아에서 식습관(eating habit)이 덜 고착되어 있으므로, 이 식이요법에 대한 관용성(tolerability)이나 순응도(compliance)가 더 좋기 때문이라는 설명과 더불어 연령이 어릴수록 체내 케톤체 생성 및 이용이 더 활발하기 때문이라는 설명이 설득력을 얻고 있다.[2,3] 본 연구에서는 케톤생성식이요법에 의해 야기되는 체내 케토시스의 정도가 연령에 따라 차이가 있을 것이라는 가설

Received 22 November 2003
Accepted 22 November 2003
Corresponding author: **Dong Wook Kim, M.D.,** Department of Pediatrics, Inje University, Ilsan Paik Hospital, 2240 Daehwa-dong, Ilsan-gu, Goyang, Gyeonggi 411-706, Korea
E-Mail: dwkim@ilsanpaik.ac.kr
*This work was supported by the 2002 Inje University research grant.

을 검증하고자 한다. 이러한 연구 목적을 달성하기 위하여 실험쥐를 대상으로 서로 다른 연령군으로 나누어 이들에게 케톤생성식이요법을 시행하고 그에 따른 체내 케토시스의 정도를 대표적 체내 케톤체인 β-hydroxybutyrate(BHB)의 혈중 농도를 측정하여 비교 분석하고자 한다.

대상 및 방법

3주령 수컷 Sprague-Dawley 쥐 60마리와 12주령 60마리를 실험에 사용하였는데, 이들을 각각 케톤생성식이요법 치료군과 표준사료를 먹이는 대조군의 2군으로 나누었다. 치료군의 쥐들에게는 치료 첫날은 금식시키고 이후 3주 동안 [지방] : [단백질+탄수화물]이 4.3 : 1의 비율로 구성된 실험동물용 케톤생성식이사료(TD 96355, Harlan Teklad, USA)[4-10]를 먹였으며, 대조군에는 치료기간 동안 표준 사료를 먹였다. 수분은 양 군 모두 특별한 제한을 두지 않고 자유롭게 섭취하도록 하였다.

치료군에서 실제로 유의한 케토시스가 초래되었는지를 확인하기 위하여, 치료 시작 후 실험 제 21일에 쥐의 꼬리 정맥에서 채혈을 한 후 Keto-Site™ test kit(GDS Diagnostics, USA)를 이용하여 대표적 체내 케톤체인 BHB의 혈중 농도를 정량적으로 측정하여 양 군을 비교하였다. 아울러 치료군에서의 연령에 따른 케토시스 정도의 차이가 있는지를 비교 분석하였으며, 정상 대조군의 혈중 BHB 농도도 연령에 따른 차이를 보이는지 검사하였다.

혈중 BHB 농도의 수치는 모두 평균치(±표준오차)를 제시하였으며, 이들의 비교 분석에는 t-test를 이용하여 통계 처리하였고 $p<0.05$를 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

치료 시작 후인 실험 제 21일에 측정한 혈중 BHB 농도는 Table 1에 제시된 바와 같다. 즉, 3주령 쥐에서 케톤생성식이요법 치료군의 혈중 BHB 농도는 4.18(±0.63) mM로 대조군의 0.27(±0.02) mM보다 유의하게 높게 측정되었으며($p<0.0001$) 12주령에서도 치료군의 0.86(±0.06) mM이 대조군의 0.22(±0.02) mM보다 유의하게 높이 나타났으므로($p<0.0001$), 케톤생성식이요법에 의해 3주령 및 12주령 쥐에서 모두 케토시스가 발생한 것을 확인할 수 있었다. 한편, 케톤생성식이요법 치료군에서의 연령에 따른 케토시스의 정도에 차이가 있는가에 대하여 통계적 분석을 하였던 바, 3주령의 혈중 BHB 농도가 12주령에 비하여 유의하게 높았는데($p<0.0001$), 이로써 어린 연령에서 케톤생성식이요법에 의해 유발되는 케토시스의 정도가 더 현저함을 알 수 있었다(Table 1). 그러나 표준 사료를 섭취하였던 정상 대조군에서는 혈중 BHB 농도가 연령에 따라 유의한 차이를 보이지는 않았다($p>0.05$).

Table 1. Blood β-hydroxybutyrate levels in rats treated with ketogenic diet for 21 days

Age	Blood β-hydroxybutyrate level in mM		*p*-value
	Ketogenic diet group (n)	Control group (n)	
3 weeks old	4.18±0.62 (30)	0.27±0.02 (30)	<0.0001
12 weeks old	0.86±0.06 (30)	0.22±0.02 (30)	<0.0001
p-value	<0.0001	>0.05	

고 찰

식이요법은 고대부터 간질 치료를 위하여 사용되어 왔으며, 기원전 5세기에 Hippocrates는 음식은 물론 마실 것조차 절대 금식함으로써 발작이 완전히 치유된 간질 환자를 보고한 바 있다. Galen은 음식이 간질의 발병에 주된 역할을 한다고 굳게 믿었으며, 심지어 청소년기에 시작하는 모든 간질은 잘못된 식사 때문이라고 제창하였다. 일반적으로 Galen은 건강하고 균형 잡힌 음식을 선호하였으나 어떤 환자들에게는 가끔 양을 줄인 식사를 권하였으며 한번은 어떤 간질 환아의 아버지에게 극소량의 식사를 권유한 적도 있었다. 성경 시대에 예수는 여러 명의 간질 환아들에게 금식 기도를 시킴으로써 치유시켰다는 기록이 있다. 8세기에 당시의 유명한 의사 Avicenna는 간질 환자들에게 어떤 음식들은 절대 먹지 말 것을 충고했었다. 20세기 초에는 여러 의사들이 절대 금식 도중에 발작의 일시적 관해(temporary remission)가 나타남을 보고하면서 식이요법이 더욱 대중화되기 시작했다.[11]

이처럼 발작 조절을 위한 금식은 오래 전부터 알려져 왔으며 1911년에 Guelpa와 Marie[12]가 이러한 경험적 사실을 바탕으로 금식의 항경련효과를 처음으로 과학적으로 증명하였으며, 1921년에 Geyelin[13]이 26명의 간질 환자들에게 주기적 금식을 시행함으로써 금식 기간 중에 경련이 감소하는 것을 관찰하여 금식의 항경련효과를 다시 입증하였다. 같은 해에 Wilder[14]가 금식에 의해 생기는 케토시스와 항경련효과를 보다 장기간 유지하면서 환자에게 적절한 열량과 영양을 공급할 목적으로 고지방 저탄수화물 식이요법을 창안하여 간질 치료를 시도한 것이

케톤생성식이요법의 시작이었다. 효과적인 항간질약제가 거의 없었던 시절에는 비교적 활발히 간질 치료에 사용되기도 하였지만, 1938년에 diphenylhydantoin이 출현하고 연이어 새로운 항간질약제가 개발되어 임상에 사용되면서 이 식이요법은 거의 잊혀진 치료법으로 극히 일부 기관에서 제한적으로 사용되어 왔다. 그러다가 1990년대 중반에 기존의 항간질약제로 전혀 조절되지 않던 난치성 소아 간질 환자의 일부에서 우수한 항경련효과가 있음이 증명되고 그 결과가 널리 알려짐에 따라 다시 주목받기 시작하여, 최근 몇 년 사이에 그 우수한 치료 효과를 증명하는 임상연구 결과들이 계속 발표되면서 점점 그 사용이 확대되어가고 있는 재발견된 간질 치료법이다.[15-17]

케톤생성식이요법은 전통적으로 영아기 이후의 소아기 간질 환자에 사용되어 왔었다.[17,18] 이처럼 임상적으로 소아 연령층에 주로 사용된 이유는 사춘기 이후 성인 연령층의 경우에는 이미 식습관이 굳어져서 엄청난 양의 지방 성분을 위주로 한 케톤생성식이요법을 지속적으로 실행하기 어려운 점, 즉 관용성 혹은 순응도가 나쁘기 때문이었을 것으로 추측된다. 그리고 그 이론적 배경에는 어린 소아에서 체내 케톤체 이용 능력이 가장 크며 연령이 증가할수록 체내 케톤체의 추출이 상대적으로 감소한다는 연구 결과[19]가 자리하고 있다. 또한 Haymond 등[20]은 38시간 동안의 금식에 의해 소아가 성인보다 더 많은 케톤체를 생산한다는 연구 결과를 보고하였다. 이처럼 체내 케톤체의 생산이나 뇌에서의 이용이 연령과 연관성이 있다는 사실은 그 외에도 다른 연구 결과를 통해서 인정받고 있지만,[21-23] 실제로 임상에서 케톤생성식이요법의 항경련효과가 연령에 따라 통계적으로 유의하게 다르다는 결과를 공식적으로 보고한 예는 찾기 어려웠다.[18] 그러나 전통적으로 소아 환자에 주로 사용되어 오면서 케톤생성식이요법의 항경련효과도 연령이 어릴수록 더 효과적일 것이라는 믿음을 대부분의 임상가들이 공유하고 있으며, 과거의 동물실험을 통한 연구 보고에서 일부 확인되기도 했다.

1972년에 Uhlemann과 Neims[24]는 16일령 및 성숙 생쥐를 대상으로 건조 중량 69.8% 지방으로 구성된 사료(약 3 : 1 케톤생성비)를 10일간 먹인 후 다양한 발작 유발 방법을 사용한 발작 감수성 실험을 한 결과를 보고하였는데, 미성숙 생쥐에서는 케토시스가 초래되고 pentylenetetrazole(PTZ)로 유발시킨 발작을 제외한 최대 전기충격, 수화 전기충격 및 bicuculline - 유발 발작에 대해 항경련효과를 보인 반면에 성숙 생쥐는 그러하지 못했다. 그리고 미성숙 생쥐에게서도 케톤생성식이 섭취 기간이 1일로 짧았을 때에는 항경련효과가 관찰되지 않았다고 한다. 1984년에 Otani 등[25]은 4주령의 연소형 생쥐와 7주령의 성숙 생쥐들에게 정상식이와 케톤생성식이를 먹이고 최대전기충격, 수화전기충격, 경련 및 반복적 준경련(subconvulsive) 용량의 PTZ를 포함한 다양한 발작 유발 방법을 사용하여 그 반응을 관찰하여 보고했다. 이 실험에서 항경련효과를 보인 유일한 발작 유발 방법은 반복적 준경련 용량의 PTZ 투여였으며 보다 어린 생쥐에서 그 효과가 더 뚜렷하였다.

최근에 이르러 저자 등[5]은 미성숙(3주령) 쥐에서 케톤생성식이요법이 PTZ - 발작에 대한 항경련효과가 있음을 보고한 적이 있다. 이후 좀 더 체계적으로 케톤생성식이요법의 연령 - 의존성 항경련효과를 탐구하고자 추가 실험을 수행한 결과, 9주령의 쥐에서는 항경련효과가 증명된 반면에 12주령에서는 뚜렷한 항경련효과가 나타나지 않는다는 발견을 통하여 임상적으로 느껴져 왔던 케톤생성식이요법의 연령 - 의존성 항경련효과를 확인할 수 있었다.[7] 본 연구에서는 케톤생성식이요법의 이러한 연령 - 의존성 항경련효과가 이 식이요법에 의해 유발되는 체내 케토시스의 정도가 연령에 따라 차이가 나기 때문일 것이라는 가설을 설정하고, 이를 확인하는 일차 실험으로 많은 수의 쥐를 대상으로 서로 현저히 다른 연령군에서 케톤생성식이요법에 의한 케토시스의 정도를 측정하고 그 결과를 비교 분석하고자 하였다. 그리고 그 결과는 예상대로 어린 연령군의 쥐에서 동일한 기간 동안 동일한 성분의 치료용 사료를 섭취하였음에도 불구하고 나이든 연령군보다 유의하게 더 높은 케토시스가 초래됨을 확인하였다. 그러나 서로 연령이 현저히 다름에도 불구하고 표준사료를 섭취한 정상 대조군에서는 혈중 BHB 농도에 유의한 차이가 없었다.

케톤생성식이요법은 색다른 일시적 유행이 아니라 항경련효과가 분명히 밝혀진 정통 항간질치료법이다.[26] 오랜 기간 간질 치료의 뒷전에 머물다가 이제는 인정받는 주요 치료 방법으로 떠오른 케톤생성식이요법에 대한 실험연구 노력은 최근 수년 동안 매우 활발해졌다. 그러나 아직도 밝혀지지 않은 의문점들은 많다. 항경련효과의 연령 - 의존성도 그 중 하나이다. 이러한 의문점을 근본적으로 푸는 열쇠는 결국 이 식이요법이 어떻게 항경련효과를 나타내는지 그 작용기전을 밝혀내는 데에 있을 것이므로, 앞으로 이 기전을 밝히기 위한 연구 노력이 더욱 확대되어야 할 것이다.

REFERENCES

1. Freeman JM, Vining EPG, Pillas DJ, Pyzik PL, Casey JC, Kelly MT. The efficacy of the ketogenic diet-1998: a prospective evaluation of intervention in 150 children. *Pediatrics* 1998;102:1358-63.
2. KrausH, SchlenkerS, SchwedeskyD. Developmental changes of cerebral ketone body utilization in human infants. *Hoppe-Seylers Z Physiol Chem* 1974;355:164-70.
3. Hawkins RA, Willamson DH, KrebsHA. Ketone-body utilization by adult and suckling rat brain in vivo. *Biochem J* 1971;122:13-8.
4. Rho JM, Kim DW, Robbins CA, Anderson GD, Schwartzkroin PA. Age-dependent differences in flurothyl seizure sensitivity in mice treated with a ketogenic diet. *Epilepsy Res* 1999;37:233-40.
5. Kim DW, Kim HS, Ko TS, Chae SA, Kim KJ, Hwang YS. Effects of the ketogenic diet on pentylenetetrazole-induced seizure. *Journal of the Korean Child Neurology Society* 2001;9:37-43.
6. Kim DW, Chae SA, Jung KY, Kim JM. Effects of the ketogenic diet on flurothyl-induced seizure susceptibility. *J Korean Epilep Soc* 2001;5:119-23.
7. Kim DW, Chae SA, Park HJ. A study on the age-dependent antiepileptic effects of the ketogenic diet in the pentylenetetrazole-seizure animal model. *Journal of the Korean Child Neurology Society* 2002;10:29-34.
8. Moon JS, Kim DW. A study on the liver toxicity induced by ketogenic diet. *Journal of the Korean Child Neurology Society* 2002;10:213-8.
9. Noh HS, Kim YS, Lee HP, *et al*. The protective effect of a ketogenic diet on kainic acid-induced hippocampal cell death in the male ICR mice. *Epilepsy Res* 2003;53:119-28.
10. Rhou HM, Lee KS, Kim JM, Kim DW. Protective effects of ketogenic diet on the hippocampal damage produced by pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Journal of the Korean Child Neurology Society* 2003;11:24-36.
11. Prasad AN, Stafstrom CF, Holmes GL. Alternative epilepsy therapies: the ketogenic diet, immunoglobulins, and steroid. *Epilepsia* 1996;37(Suppl 1):S81-S95.
12. Guelpa G, Marie A. La lutte contre l'epilepsie par la desintoxication et par la reeducation alimentaire. *Revue de Therapie Medico-Chirurgicale* 1911;78:8-13.
13. Geyelin HR. Fasting as a method for treating epilepsy. *Med Rec* 1921;99:1037-9.
14. Wilder RM. The effects of ketonemia on the course of epilepsy. *Mayo Clin Proc* 1921;2:307-8.
15. Wheless JW. The ketogenic diet: fa (c)t or fiction. *J Child Neurol* 1995;10:419-23.
16. Nordli DR Jr, DeVivo DC. The ketogenic diet revisited: back to the future. *Epilpepsia* 1997;38:743-9.
17. Swink TD, Vining EPG, Freeman JM. The ketogenic diet: 1997. *Adv Pediatr* 1997;44:297-329.
18. Vining EPG. Clinical efficacy of the ketogenic diet. *Epilepsy Res* 1999;37:181-90.
19. Persson B, Settergren G, Dahlquist G. Cerebral arterio-venous difference of acetoacetate and D-beta-hydroxybutyrate in children. *Acta Paediatr Scand* 1971;61:273-8.
20. Haymond MW, Howard C, Ben-Galim E, DeVivo DC. Effects of ketosis on glucose flux in children and adults. *Am J Physiol* 1983;245:E373-8.
21. DeVivo DC, Leckie MP, Agrawal HC. The differential incorporation of β-hydroxybutyrate and glucose into brain glutamate in the newborn rat. *Brain Res* 1973;55:485-90.
22. DeVivo DC, Leckie MP, Agrawal HC. D-β-Hydroxybutyrate: a major precursor of amino acids in the developing rat brain. *J Neurochem* 1975;25:161-70.
23. Schroeder H, Bomont L, Nehlig A. Influence of early chronic phenobarbital treatment on cerebral arteriovenous differences of glucose and ketone bodies in the developing rat. *Int J Dev Neurosci* 1991;9:453-61.
24. Uhlemann ER, Neims AH. Anticonvulsant properties of the ketogenic diet in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1972;180:231-8.
25. Otani K, Yamatodani A, Wada H, Mimaki T, Yabuuchi H. Effect of ketogenic diet on convulsive threshold and brain monoamine levels in young mice. *No To Hattatsu* 1984;16:196-204.
26. Roach ES. Alternative neurology: the ketogenic diet. *Arch Neurol* 1998;55:1403-4.