

Streptozotocin 유도 당뇨쥐에서의 Phospholipase A₂, Cyclooxygenase 활성과 Thromboxane 및 Prostacyclin합성

양정아 · 김성옥 · 최정화 · 곽오계* · 이순재[†] · 장현욱**

대구호성가톨릭대학교 식품영양학과

*대구전문대학 간호과

**영남대학교 약학대학

Activities of Phospholipase A₂ and Cyclooxygenase, and Syntheses of Thromboxane and Prostacyclin in Streptozotocin Induced Diabetic Rats

Jeong-Ah Yang, Sung-Ok Kim, Jeong-Hwa Choi, Oh-Gye Kwag*,
Soon-Jae Rhee[†] and Hyeun-Wook Chang**

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyungsan 713-702, Korea

*Dept. of Nursing Science, Taegu Junior College, Taegu 702-722, Korea

**College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, Korea

Abstract

The relation between lipid peroxidation and thrombotic reaction were investigated in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. Sprague-Dawley male rats weighing 100 ± 10 gm were randomly assigned to normal and STZ-induced diabetic group (DM). Diabetes was experimentally induced by intravenous injection of 55 mg/kg of body weight of STZ in citrate buffer (pH 4.3) after 4 weeks feeding of basal diet. Animals were sacrificed at the 6th day of diabetic states. Body weight gains were lower in diabetic group after STZ injection. Serum levels of thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) that were markedly increased in DM group compared with of normal group. TBARS levels of HDL and LDL were similar patterns to total TBARS of serum. Activities of platelet phospholipase A₂ (PLA₂) were higher in diabetic group than those of normal group. Activities of platelet cyclooxygenase were 106% in DM group than normal group. Platelet thromboxane A₂ (TXA₂) formation was increased in DM group than normal group. Production of aortic prostacyclin (PGI₂) was lower in diabetic group than that of normal group. PGI₂/TXA₂ ratios were decreased by 55% in DM groups than those of normal group. The present results indicate that STZ-induced diabetic rats are more sensitive to oxidative stress which leads to acceleration of lipid peroxidation and platelet aggregability. In conclusion, accelerating effect of lipid peroxidation and thrombogenesis in diabetic state is regarded to be resulted from enhancement of PLA₂ activity and arachidonic acid metabolism, inhibition of antiaggregating agent and aortic PGI₂ formation.

Key words: diabetes mellitus, lipid peroxidation, phospholipase A₂, cyclooxygenase, prostaglandins

서 론

당뇨병 환자에 있어서는 말초혈관질환, 관상동맥질환 등의 동맥경화성 혈관합병증의 발생빈도가 높아서 당뇨병환자에서의 사망의 주된 원인이 되고 있다(1,2). 이러한 현상은 당뇨 환자에서 나타나는 지질대사의 조절 기능 이상과 그로 인한 과산화적 손상의 촉진 및 혈전생

성 기전의 활성화등에 기인하는 것으로 알려져 있다(3,4).

이러한 당뇨병환자에서의 과산화적 손상은 고지혈증과 함께 유리기 생성이 정상인에 비해 촉진되어 지질 과산화물이 촉진되면서 초래된다고 알려져 있다(5,6). 특히 혈장의 산화된 LDL과 같은 지질과산화물은 혈관 내피세포를 손상시키고 그에 따라 유리되는 여러 인자들에 의해 혈소판이 활성화되어진다(7,8). 혈소판이 활

[†]To whom all correspondence should be addressed

성화되면 ADP와 thromboxane A₂(TXA₂)의 분비에 따라 연쇄적으로 혈소판끼리 결합하는 응집현상이 일어난다. TXA₂는 혈소판에서 생성되는 혈소판응집 촉진 물질로서 정상상태에서는 혈관 내피세포에서 생성되는 prostacyclin(PGI₂)과의 상호 길항적 작용에 의해 혈관내의 항상성을 유지하게 되나 생체내 화학적 물리적 자극에 의해 이들 PGI₂/TXA₂ 비의 균형이 깨뜨려지면 혈소판 응집이나 혈전생성이 촉진하게 된다(9).

혈소판 응집 및 혈관 수축을 유도하는 물질인 TXA₂ 합성은 phospholipase A₂(PLA₂) 활성 및 cyclooxygenase, thromboxane synthetase 등으로 이루어지는 arachidonic acid cascade계의 일련의 효소반응을 통해 생성되는 강력한 응집 물질로 이의 합성 조절은 세포막의 인지질로부터 arachidonic acid(AA)를 생성하는 PLA₂가 이 과정의 율속효소로 작용하고 있다. 그러므로 PLA₂의 활성은 혈전생성기전의 조절에 있어 매우 중요한 의미를 가진다. 이러한 PLA₂의 활성 변화는 체내 유리기 생성증가 및 과산화물의 축적과 유기적인 관계를 가지는 것으로 알려져 있으며(10) 당뇨 상태에서는 인지질 중의 AA의 유리가 증가되어 malondialdehyde의 생성을 촉진한다는 보고도 있다(11).

따라서 본 연구에서는 당뇨병의 주요 합병증인 혈관성 질환들의 병인론에 관여하는 여러 인자들을 구체적이고 종합적으로 확인하고자 하는 목적에서 당뇨상태에서 지질과산화물의 생성과 PLA₂ 활성변화와의 관련성을 관찰하고 그 결과 cyclooxygenase 활성과 TXA₂ 및 PGI₂ 합성 등 혈전생성인자들의 변화를 관찰해 보았다.

재료 및 방법

실험동물의 사육 및 당뇨유발

실험동물은 Sprague-Dawley종 수컷을 대전화학연구소로부터 구입하여 이를 일주일간 적응시킨 후 체중 100gm 내외의 것을 난피법(randomized complete block design)에 의해 정상군과 당뇨 유발 실험군으로 나눈 후 4주간 사육하였다. 기본 실험식이 조성은 Table 1과 같다. 당뇨실험군은 streptozotocin(STZ)을 55mg/kg BW로 0.1M sodium citrate buffer(pH 4.3)에 녹여서 꼬리정맥을 통하여 주사하여 당뇨를 유발시켰으며 STZ 주사 후 6일째에 혈당 농도가 300mg/dl 이상인 동물만 실험에 사용하였다.

식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

식이와 식수 섭취량 및 체중은 전 실험 기간을 통하

Table 1. Composition of basal diet

| Ingredients | Basal diet(g/kg diet) |
|-----------------------------|-----------------------|
| Corn starch ¹⁾ | 668 |
| Casein ²⁾ | 180 |
| DL-methionine ³⁾ | 2 |
| Corn oil ⁴⁾ | 50 |
| Vitamin mix ⁵⁾ | 10 |
| Salt mix ⁶⁾ | 40 |
| Cellulose ⁷⁾ | 50 |
| kcal/kg | 3.850 |

¹⁾Pung Jin Chem. Co.

²⁾Lactic Casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board, Winton, N.Z.

³⁾Sigma Chem. Co.

⁴⁾Dong Bang Oil Co.

⁵⁾Vitamin mix: according to NRC(12)

per kg of diet; thiamin-HCl, 20mg; riboflavin, 21mg; pyridoxine, 20mg; nicotinic acid, 90mg; d-calcium pantothenate, 60mg; folic acid, 10mg; biotin, 1mg; menadione, 45mg; vitamin B₁₂(0.1% triturate in mannitol), 20mg; retinyl acetate, 2,000IU; cholecalciferol, 1,000IU; choline, 1.5g; inositol, 0.1g; p-amino benzoic acid, 0.1g; dl- α -tocopheryl acetate, 40mg

⁶⁾Salt mix: according to Haper's(12)

g per/100g of salt mixture; CaCO₃, 30.0g; CaHPO₄, 7.5g; K₂HPO₄, 32.2g; NaCl, 16.7g; MgSO₄ · 7H₂O, 10.2g; ferric citrate, 2.75g; MnSO₄, 0.51g; KI, 70mg; CuCl₂ · 5H₂O, 35mg; ZnCl₂, 25mg; CoCl₂ · 5H₂O, 5mg; (NH₄)₆Mo₇O₂ · 4H₂O, 5mg

⁷⁾Sigma Chem. Co.

CMC(Sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber)

여 매일 일정한 시간에 측정하였다. 식이효율은 전 체중증가량을 같은 기간 동안의 식이 섭취량으로 나누어 줌으로써 계산하였다.

혈소판의 phospholipase A₂ 활성 및 arachidonic acid cascade계 대사에 관한 실험

혈소판 분리

실험종료 후 실험동물을 dimethyl ether의 마취하에 쥐의 복부 대동맥으로부터 채혈하여 혈액을 얻었다. 이때 항 응고제인 trisodium citrate 3.8% 용액이 전체의 10%가 되도록 하였다. Platelet rich plasma(PRP)와 platelet poor plasma(PPP)는 분별 원심분리법에 의해 얻으며 150×g에서 10분간 다시 원심분리하여 침전을 제거한 상등액을 PPP라고 한다. 이때 실험에 사용한 PRP는 혈소판 수를 계측하여 3×10⁸cells/ μ l가 되도록 맞추어 실험 때까지 -70°C의 deep freezer에 보관하였다.

[³H]-arachidonic acid 표지 혈소판의 조제(13)

위 방법에 따라 얻은 PRP를 150×g에서 15분간 다

시 원심분리하여 농축된 PRP를 얻었다. 분리된 혈소판에 2.5ml의 PPP를 넣어 현탁시켰다. 이 혈소판 현탁액 2.5ml에 12.5 μ Ci의 [³H]-arachidonic acid(AA)를 가하고 37°C에서 120분간 반응시킨 후 1,000 \times g에서 15분간 원심 분리하였다. 분리한 혈소판에 20mM EDTA(pH 6.8)가 함유된 Tris-Tyrode's buffer 5ml를 넣고 1,000 \times g에서 15분간 원심 분리함으로써 유입되지 않은 [³H]-AA를 제거하였다. 마지막으로 EDTA(pH 6.8)가 함유되지 않은 Tris-Tyrode's buffer 1.0ml를 가하여 현탁한 후 혈소판 농도가 1 \times 10⁹cells/ml가 되게 한 것을 cyclooxygenase 및 lipoxygenase의 저해제인 propylgallate(최종농도 200 μ M) 가한 후 1분간 반응시켜 막으로부터 유리된 AA가 더 이상 대사되지 않도록 하였다.

Phospholipase A₂(PLA₂)의 활성화 측정(13)

위에서 얻어진 혈소판 현탁액 500 μ l에 thrombin 1U를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1.5mM formaldehyde로서 반응을 중지시켰다. 1,000 \times g에서 10분간 원심분리한 후 분리한 pellet층에 CHCl₃와 MeOH를 1:1로 넣은 다음, 다시 3,000 \times g에서 15분간 원심분리하여 얻은 하층액을 N₂ 가스로 증발시킨 후 CHCl₃을 300 μ l에 녹인 후 일정한량을 취하여 TLC에 점적하였다. 표준품을 이용하여 확인된 TLC 상의 AA 부위를 취하여 liquid scintillation counter(LSC, Packard Co.)로 동위원소 활성을 측정하였다.

Cyclooxygenase 활성화 측정(14)

1)의 방법으로 혈소판 숫자가 3 \times 10⁸cells/ml이 되도록 한 혈소판 현탁액 490 μ l에 AA 최종농도 10 μ g가 되게 첨가하여 혼합한 후, 여기서 450 μ l를 취하여 37°C에서 6분간 반응시킨 후 EDTA 함유 indomethacin을 가하여 8,000 \times g에서 2분간 원심분리를 행하여 얻은 상등액을 실험에 사용하였다. 이때 생성된 TXA₂는 매우 강력한 혈소판 응집인자이나 매우 불안정하여 곧바로 안정된 형태인 TXB₂로 변하므로 이것을 TXA₂ 생성의 지표로 하고, Amersham으로부터 구입한 RIA kit를 사용하여 측정하였다. LSC로 동위원소 활성을 측정하였다.

Thromboxane A₂(TXA₂)생성능 측정

TXA₂는 매우 불안정하므로 Amersham으로부터 구입한 thromboxane B₂(TXB₂)용 RIA kit를 사용하여 TXB₂의 양을 측정하여 TXA₂의 지표로 삼았다. 동위원소 활성의 활성은 LSC로서 측정하였다.

대동맥에서의 prostacyclin(PGI₂) 생성능 측정(15)

복부대동맥을 상부로부터 1cm 잘라내어 혈액과 지방 조직을 완전히 제거한 후 0.05M tris-buffer(pH 7.4)

용액을 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 4.8 M formic acid 용액으로서 반응을 정지시켰으며 이 용액을 PGI₂ 생성실험에 사용하였다. 배양액에서 건져낸 대동맥을 100°C에서 하루 동안 건조시킨 후 n-hexane을 넣고 3일 동안 실온에 두면서 지방을 제거한 후 100°C에서 하루 동안 건조시킨 후 무게를 재어 두었다. 위 방법에 의해 얻은 배양액에 PGI₂는 매우 불안정한 물질이므로 안정된 대사산물인 6-keto PGF_{1 α} (6-keto Prostaglandin F_{1 α})를 측정하여 Amersham TRK 790 kit를 사용하여 PGI₂의 양을 측정하여 대신하였으며 PGI₂는 fat free aorta 1mg 단위로 표시하였다.

혈청중의 과산화지질 정량

과산화지질의 분석은 TBA와 반응하는 물질 즉, TBARS를 n-butanol로 추출하여 excitation 파장 515nm, emission 파장 533nm에서 형광을 측정하는 Yagi법(16)을 이용하였고, 이때 표준품은 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 사용하였다.

통계처리

모든 실험 결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 평균차이가 있는가를 검증하기 위하여 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며, 분산분석의 결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's-HSD test(17)에 의해 분석하였다.

결 과

체중증가, 식이섭취량, 식이효율 및 긴장의 무게

실험 4주간 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이 효율을 관찰한 결과는 Table 2와 같다. STZ를 투여하기 전까지는 정상군과 실험군간의 유의적인 차이는 없었으나 STZ를 투여한 후에는 당뇨병유발군은 현저하게 감소하였다. 식이효율은 STZ 투여 전에는 정상군과 실험군간에 차이가 없었으나 STZ 투여 후에는 정상군에 비해 당뇨병군이 현저하게 감소하였다. 식이 섭취량은 STZ투여 당뇨병군에서 높았다. 식이효율은 STZ 투여전에는 정상군과 실험군간에 차이가 없었으나 STZ 투여후에는 정상군에 비해 당뇨병군이 감소하였다.

Phospholipase A₂ 활성화

AA cascade의 율속 효소로 알려진 phospholipase A₂의 활성을 측정한 결과(Fig. 1) 정상군에 비해 DM군

Table 2. Food intake, weight gain, liver weight and food efficiency ratio of experimental rats

| Groups | Body weight gains (g) | Food intake (g) | FER | | Liver weight (g/100g body wt) |
|-----------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------|
| | | | During 4 weeks before STZ injection | | |
| Normal | 168.57 ± 7.0 ^{NS} | 576.91 ± 19.6 ^{NS} | 0.28 ± 0.01 ^{NS} | | |
| DM | 164.50 ± 7.8 | 564.00 ± 9.2 | 0.37 ± 0.11 | | |
| During 6 days after STZ injection | | | | | |
| Normal | 24.64 ± 13.0 ^a | 104.01 ± 6.5 ^a | 0.23 ± 0.24 ^a | | 2.92 ± 0.5 ^{NS} |
| DM | -67.11 ± 19.1 ^b | 169.04 ± 13.2 ^b | -0.82 ± 0.15 ^b | | 3.36 ± 0.4 |

All values are mean ± SE (n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different each groups at p<0.05 by Tukey's test
NS: Not significant

Experimental and control groups were injected with or without 55mg STZ/kg body weight via tail vein

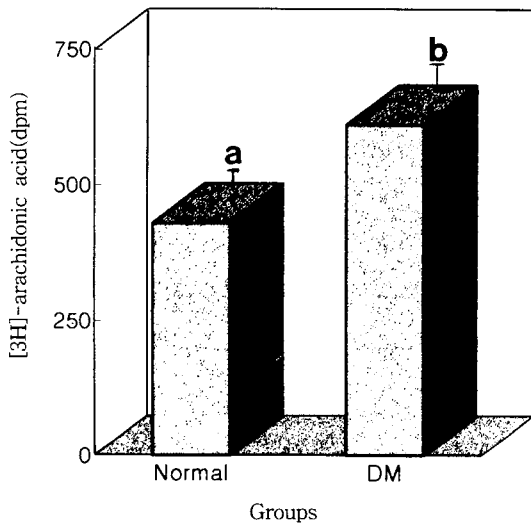


Fig. 1. Phospholipase A₂ activities of platelet in streptozotocin -induced diabetic rats.

All values are mean ± SE (n=10)

Values with different letters of a and b in groups are significantly different from another group (p<0.05).

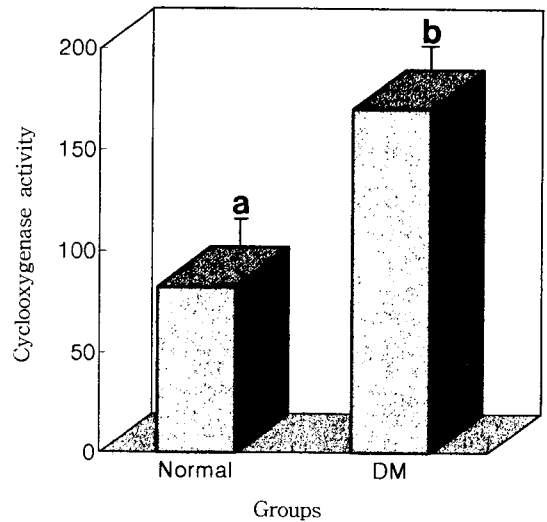


Fig. 2. Cyclooxygenase activities of platelet in streptozotocin-induced diabetic rats.

All values are mean ± SE (n=10)

Values with different letters of a and b in groups are significantly different from another group (p<0.05).

에서 42% 증가되었다.

Cyclooxygenase 활성

AA 대사에 관여하는 cyclooxygenase의 활성을 조사하기 위해 생성물인 혈소판 TXA₂ 함량을 측정된 결과 Fig. 2와 같이 DM군은 정상군에 비해 106% 증가하여 당뇨병에서는 PLA₂ 활성의 증가에 따라 cyclooxygenase도 그 활성이 현저하게 증가됨을 알 수 있었다.

혈소판 thromboxane A₂(TXA₂) 및 대동맥의 prostacyclin(PGI₂) 생성

혈소판 응집 및 혈관 수축물질인 TXA₂ 함성량은 정상군에 비해 DM군에서 169%의 현저한 증가를 보였다.

대동맥에서 생성되는 항혈소판 응집물질인 PGI₂는 매우 불안정한 물질로서 생리적인 반감기가 불과 수초에 불과하여 생성 즉시 이의 안정된 대사산물인 6-keto-prostaglandin F_{1α}(6-ketoPGF_{1α})로 자동전환 되어버림으로 6-keto PGF_{1α}의 함량을 측정하여 PGI₂의 생성량으로 환산하였다. 대동맥의 PGI₂ 함량(Table 3)은 정상군에 비해 DM군은 31% 감소하였다. 따라서 PGI₂/TXA₂비는 DM군이 정상군에 비해 55% 감소하였다.

혈청 지질과산화물 수준

체내 지질과산화의 지표가 되는 지질과산화물가는 Table 4와 같다. 혈청 총지질 과산화가는 정상군에 비해 DM군은 151% 증가하였다. HDL-POV(peroxide

Table 3. Concentrations of platelet TXA₂ and aortic PGI₂ in streptozotocin-induced diabetic rats

| Groups | TXA ₂ | PGI ₂ | PGI ₂ /TXA ₂ |
|--------|------------------------------------|-------------------------|------------------------------------|
| | (pg/1.5×10 ⁶ platelets) | (pg/mg fat free aorta) | (ratio) |
| Normal | 100.8±14.6 ^a | 659.8±26.2 ^a | 5.0±0.5 ^a |
| DM | 271.3±43.2 ^b | 452.1±13.1 ^b | 2.1±0.3 ^b |

All values are mean±SE(n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05

Table 4. Thiobarbituric reactive substance values of serum lipid in streptozotocin-induced diabetic rats (Malondialdehyde nmol/mg protein)

| Groups | Total lipid | HDL-POV | LDL-POV |
|--------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Normal | 1.35±0.1 ^a | 0.91±0.1 ^a | 0.44±0.1 ^a |
| DM | 3.57±0.2 ^b | 1.48±0.1 ^b | 2.09±0.1 ^b |

All values are mean±SE(n=10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05

value)는 정상군에 비해 DM군에서 63% 증가하였으며 LDL-POV는 정상군에 비해 DM군에서 375%의 두드러진 증가를 나타내었다. 이러한 결과는 PLA₂ 및 cyclooxygenase 활성 변화와 비슷한 양상으로 지질과산화물의 축적이 변화됨을 알수 있었다.

고 찰

본 연구는 STZ에 의해 유발된 당뇨쥐에서의 혈전생성기전 촉진에 영향을 미칠 것으로 예상되는 여러 인자들의 변화를 관찰하고자 하는 목적에서 시도되었다. 본 실험에서 체중 증가량을 관찰한 결과 정상군은 전 실험기간 동안 지속적인 증가를 보인 반면 STZ 유발 당뇨군은 STZ 주사후 현저한 체중감소를 보였으며 이는 많은 당뇨병 실험(18,19)에서 보고된 일반적인 결과와 같은 경향이었다. 식이 섭취량도 DM군에서 유의적으로 증가하였으며 이는 STZ-유발 당뇨군에서 식이 섭취량이 증가한다는 보고(20)와 일치하는 것이다.

체내 과산화적 손상의 지표가 되는 혈청중의 과산화물가는 DM군은 정상군에 비해 2.5배 증가하였으며 HDL-POV와 LDL-POV는 정상군에 비해 DM군에서 유의적으로 높았다. 당뇨병일 경우 혈중 LDL-cholesterol의 농도가 상승되며 이들은 혈장에서 쉽게 산화되어 oxidized-LDL로 전환되어 유리 산소 라디칼을 형성하며, 궁극적으로는 당뇨의 합병증인 macroangiopathy의 유발 요인인 atheroma를 형성하게 된다. 당뇨병 상태의 혈소판은 혈관벽에 대한 부착능 및 혈소판끼리의 응집능이 증가되어 있으며(3,21) 이것은 지질과산화물의 생성증가로 인한 혈관벽의 손상 증대와 더불어

어 당뇨병의 주요 합병증인 혈관계 질환을 유발시키는 원인 중의 하나로 알려져 있다(22-24).

당뇨병 상태에서 혈소판 기능 증가의 대표적 기전으로 AA cascade를 들 수 있으며, 이 반응은 AA cascade의 주원료인 AA가 phospholipase A₂의 활성화에 의해 세포막의 인지질로부터 유리됨으로서 개시되어진다(25).

본 실험에서 [³H]-AA를 혈소판에 incorporation 시킨 후 thrombin을 자극하여 막 인지질로부터 유리되는 [³H]-AA의 양을 측정한 결과 DM군은 정상군에 비해 42%의 증가를 보였다. 이러한 결과는 당뇨쥐의 혈소판이 정상에 비해 phospholipase A₂ 활성이 증가되어 있으며 그에 따라 AA의 유리가 현저히 증가되었음을 의미하는 것이다. 이는 당뇨병 상태에서는 phospholipase A₂의 활성이 증가되고 TXA₂ 생성이 증가된다고 보고한 Takahashi 등(26)의 연구와 일치하는 것이다.

AA 대사에 관여하는 혈소판 cyclooxygenase의 활성은 정상군에 비해 DM 유발군에서 유의적인 증가를 보였는데 이것은 phospholipase A₂ 활성증가에 따른 것으로 볼 수 있다.

또한 당뇨병 혈소판에서는 TXA₂ 수용체의 활성이 증가되어 있을 뿐 아니라 수용체 합성은 증가된다(27). 본 실험의 결과 DM군의 TXA₂ 생성량은 정상군에 비해 169%의 큰 증가를 보이고 PGI₂ 생성이 감소되어 결국 PGI₂/TXA₂ ratio는 DM군이 정상군에 비해 55% 저하하였다. 이는 PGI₂ 합성은 혈장의 포도당 수준과 부의 상관관계를 가진다는 보고(15)와 대동맥 PGI₂의 증가와 혈소판 TXA₂의 감소가 당뇨병 혈관 장애의 병인론에 관여하는 내인성 인자로서 작용한다는 Karpen 등(28)의 보고에 의해 뒷받침 되어진다.

이상의 실험 결과를 종합해보면 STZ 유발 당뇨쥐에 있어 당뇨병으로 인한 혈소판 기능의 항진과 혈전생성기전의 활성화에 영향을 미치는 AA cascade의 주요 성분들의 변화를 조사한 결과 당뇨시 phospholipase A₂ 활성에 의한 AA의 유리와 cyclooxygenase 활성유도로 AA cascade가 활성화되었다. 그 결과 혈소판 응집과 혈관수축 작용을 하는 TXA₂ 생성은 증가되는 반면, 혈관확장 물질인 PGI₂ 생성은 감소되어 PGI₂/TXA₂비가 유의적으로 저하되므로써 당뇨환자에서는 혈소판

응집 및 혈전 생성이 촉진될 수 있는 기전을 관찰할 수 있었다.

요 약

당뇨병에서의 혈전생성 기전에 관련된 주된 요인을 관찰코져 흰쥐를 4주간 사육한 후 streptozotocin(STZ)으로 당뇨를 유발한 후 6일째에 희생하여 당뇨쥐에 있어서의 phospholipase A₂ 활성변화에 따른 조직의 과산화적 손상과 혈소판 응집능 등의 변화를 관찰한 결과는 다음과 같다. 체중증가는 STZ를 투여한 후에는 STZ 투여군에서 현저하게 감소하였다. 식이섭취에 있어 STZ injection 후, DM군은 16% 증가하였다. 식이효율은 STZ injection 후 DM군은 정상군에 비해 유의적으로 감소하였다. 혈청 중의 총 지질과산화물가는 정상군에 비해 DM군은 2.5배 높았다. HDL 중의 TBARS는 정상군에 비해 DM군은 약 1.6배 정도 높았고 LDL 중의 TBARS는 정상군에 비해 DM군에서 4.8배의 높은 증가를 보였다. 혈소판 phospholipase A₂ 활성은 DM군은 정상군에 비해 42% 증가하였다. 혈소판 cyclooxygenase 활성은 정상군에 비해 DM군이 2배 정도 높은 수준이었다. 혈소판 중의 TXA₂ 농도는 정상군과 비교하여 DM군에서 169%로 현저하게 높았고 대동맥 PGI₂의 농도는 정상군에 비해 DM군은 낮은 수준을 보였으며 대동맥 PGI₂와 혈소판 TXA₂의 비는 DM군에서 정상군에 비해 55% 낮았다. 결론적으로 STZ 유발 당뇨쥐에 있어서는 혈청 지질과산화물 수준의 증가와 더불어 phospholipase A₂ 활성이 증가되었으며 따라서 cyclooxygenase가 유도하는 AA cascade 활성화에 의해 TXA₂ 생성증가 및 PGI₂/TXA₂ ratio의 감소가 관찰되었다. 이러한 결과는 당뇨병 질환에서 나타나는 동맥경화증, 심혈관계 질환 등의 여러 혈관계의 병리적 현상들이 당뇨병 상태에서의 지질대사 이상으로 인한 지질과산화물의 증가와 그의 독성으로 인한 여러 혈소판 관련 인자들의 활성화와 밀접하게 연관되어 나타나는 것을 시사하는 것이라 하겠다.

문 헌

- Kannel, W. B. and McGee, D. L. : Diabetes and cardiovascular disease. *JAMA*, **241**, 2035(1979)
- 최영길, 이태희 : 당뇨병과 고지혈증. 도서출판 의학출판사, p.111(1995)
- Urano, S., Midori, H. H., Tochihi, N., Matsuo, M., Shiraki, M. and Ito, H. : Vitamin E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposomes to oxidative stress in aged diabetics. *Lipids*, **26**, 58(1991)
- Watanabe, J., Wohltman, H. J., Klein, R. L., Collwell, J. A. and Lopes-virella, M. F. : Enhancement of platelet aggregation by low density lipoprotein from IDDM patient. *Diabetes*, **37**, 1652(1988)
- DeDuve, C. and Baudhium, P. : Peroxisomes, microbodies and related particles. *Phys. Res.*, **46**, 323(1965)
- Awasthi, Y. C., Beulat, E. and Srivastara, S. K. : Purification and properties of human erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.*, **250**, 5114(1975)
- Viinikka, L. : Platelet function and thrombus in diabetes. *Acta Endocrinol.(Suppl.)*, **272**, 31(1985)
- 박선양 : 동맥경화증의 병태생리-혈소판의 역할. 한국지질학회지, **4**, 218(1994)
- Chobanian, A. V. : Pathophysiology of atherosclerosis. *Clin. Haematol.*, **15**, 323(1986)
- Stephen, M. B. and Catherine, M. : The role of phospholipase in microsomal lipid peroxidation induced with t-butyl hydroperoxide. *Biochem. Biophys.*, **158**, 1021(1989)
- Smith, J. B., Ingerman, C. M. and Siver, M. J. : Malondialdehyde formation as an indicator of prostaglandin production by human platelets. *J. Lab. Clin. Med.*, **88**, 167(1976)
- 백태홍, 전세열, 김천호 : 영양학 실험. 수화사(1985)
- 김지영, 문창현, 임동순, 조태순 : Streptozotocin-유도 당뇨병 랫드의 혈소판 phospholipaseA₂ 활성에 미치는 hydroxybrazilin의 영향. 약학회지, **38**, 97(1994)
- 황귀서 : 당뇨병 랫드의 혈소판 응집능에 미치는 brazilin의 영향 및 그작용기전에 관한 연구. 서울대학교 박사학위논문(1993)
- Karpen, C. W., Pritchard, J. R., Arnold, J. H., Cornwell, D. G. and Panganamala, R. V. : Restoration of prostacyclin/thromboxane A₂ balance in the diabetic rat-influence of dietary vitamin E. *Diabetes*, **31**, 947(1982)
- Yagi, K. A. : Simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Mes.*, **15**, 212(1976)
- 채서일, 김범룡 : SPSS/PC를 이용한 통계분석. 법문사, (1988)
- Jonod, A., Lambert, A. E., Stauffacher, W. and Renols, A. E. : Diabetogenic action of streptozotocin : Relationship of dose to metabolic response. *J. Clin. Invest.*, **48**, 2129(1969)
- Failla, M. L. and Kiser, R. A. : Altered tissue content and cytosol distribution of trace metals in experimental diabetes. *J. Nutr.*, **111**, 1900(1981)
- Lau, A. L. and Failla, M. L. : Urinary excretion of zinc, copper and iron in the streptozotocin-diabetic rat. *J. Nutr.*, **114**, 224(1984)
- Kutti, J., Wadenvik, H., Hanestam, B. and Stenstorm, G. : Evaluation of platelet reactivity in diabetes mellitus. *Acta. Med. Scand.*, **219**, 195(1986)
- O'Brien, P. J. and Little, C. : Intracellular mechanisms for the decomposition of a lipid peroxide. *Can. J. Biochem.*, **47**, 493(1969)
- Hodason, W. C., Sikorski, B. W. and King, R. G. : Cardiovascular sensitivity changes to eicosanoids in rats with experimentally induced diabetes mellitus. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **19**, 9(1992)
- Paton, R. C. and Passa, P. : Platelets and diabetic vas-

- cular disease. *Diabetes Metab.*, **9**, 306(1983)
25. 정충실 : 식이지방이 2-acetylaminofluorene을 투여한 쥐간에서 지질과산화물, 약물대사 효소 및 eicosanoid 생성에 대한 영향. 서울대학교 박사학위 논문, p.69(1991)
26. Takahashi, R., Morita, I., Murota, S. and Ito, H. : Regulation of platelet aggregation and arachidonate metabolism in streptozotocin-diabetic rats. *Prostaglandins Leukot. Med.*, **25**, 123(1986)
27. Collier, A., Tymkewyz, P., Armstrong, R., Young, R. J., Jones, R. L. and Clarke, B. F. : Increased platelet thromboxane receptor sensitivity in diabetic patients with proliferative retinopathy. *Diabetologica*, **29**, 471 (1986)
28. Karpen, C. W., Cataland, S., D' Dorisio, T. M. and Panganamala, R. V. : Interrelation of platelet vitamin E and thromboxane synthetase in type I diabetes mellitus. *Diabetes*, **33**, 239(1984)

(1997년 10월 9일 접수)