

개에 있어서 약물에 의한 당뇨병의 유발과 혈당제어의 감시에 관한 연구

II. 당뇨병 모델 개에 있어서 혈당량과 혈청 Fructosamine 농도 변화의 시간적 상관관계

이창우¹ · 최희인 · 김본원
서울대학교 수의과대학

Drug-Induced Diabetes Mellitus and Monitoring Hyperglycemic Control in Dogs

II. Relationship among Blood Glucose and Serum Fructosamine in Model Diabetic Dogs

Chang-Woo Lee¹, Hee-In Choi and Bonn-Won Kim
College of Veterinary Medicine, Seoul National University

ABSTRACT : Four out of 15 dogs were successfully induced diabetes mellitus with intravenous injection of 30 mg of streptozotocin and 50 mg of alloxan monohydrate per kilogram body weight and maintained more than 9 weeks without injection of insulin or oral hypoglycemic agent. Histopathologically, these four dogs have typical diabetic lesions such as degeneration and vacuolation of pancreatic islet cells, and fatty change of liver at necropsy in the end of study. Serum glucose level increased dramatically at 24 hours post-injection but serum fructosamine level increased gradually and reached plateau at 31~41 days post-injection of streptozotocin and alloxan. Serum fructosamine concentration correlated very well with serum glucose concentration of preceding 4-7 weeks in experimentally induced diabetic dogs. Our data suggest that serum fructosamine reflects mean glucose concentration of preceding 4~7 weeks in experimentally induced diabetic dogs.

Key words : dog, fructosamine, mean glucose concentration, diabetes mellitus

서 론

사람에 있어서 진성당뇨병은 발병율이 높고, 특유의 다양하고 무서운 병원성 때문에 많은 연구가 진행되었다. 당뇨병에 걸린 사람(당뇨병 환자) 중에서 고혈당증의 정도가 상한선에 있는 환자는 대혈관성 질환, 심혈관성 질환 및 미세혈관성 질환을 초래하며¹⁰, 심혈관성 질환은 관상동맥, 뇌 및 말초동맥 등과 같은 주요 혈관에 발생하여^{12,14,25,34} 생명을 위협한다.

당뇨병 진료에 있어서 임상병리학적 과제는 경증의 포도당 불내증을 감별하고, 일단 치료가 시작되면 당

혈증 제어상태를 효과적으로 감시할 수 있는 수단을 개발하는 것이다. 당뇨병의 재래식 검사로서 공복시 혈당량, 수시혈당량, 경구당부하시험 등이 실시되어 왔다. 공복시 혈당량은 당뇨병 환자²⁸와 정상인^{33,41}에서 공히 일간 변동이 상당하며, 일내변동³⁷도 존재한다. 수시혈당량은 식사상태를 무시한 혈당량으로서 정밀도가 낮다. 경구당부하시험은 본래 포도당에 대한 개인의 불내증 기능성의 지표일 뿐이다. 이것은 실제의 불내증 지표로서 두 가지 결함이 있다. 첫째는 일상생활에서 섭취하는 다양한 탄수화물에 대한 당혈 증반응과 포도당에 대한 당혈증반응은 일치하지 않으며¹⁸, 포도당 부하에 대한 반응은 혼합된 탄수화물 식사에 의한 고혈당증의 대략적인 평가에 지나지 않는다³⁵. 둘째로 이것은 표준화된 식사와 일정한 시간의 절식과 같은 표준화된 조건하에서 실시하는 것이기

*이 연구는 서울대학교 발전기금 포항제철 학술연구비의 지원을 받아 수행되었음.

¹Corresponding author.

때문에 환자의 실제의 생활 및 식사 습성이 표준화된 조건과 어떤 상호반응을 나타낼지 예측할 수 없다¹⁰.

당뇨병의 병원성이 일과성 고혈당증에 의한 것이 아니고 장기간에 걸친 고혈당증에 의한 것이기 때문에 누적혈당량이 만성당뇨병의 원인이라는 가설을 인정할 경우 큰 폭의 일간변동과 일내변동에 영향을 받지 않으면서 장기간의 누적고혈당증을 증명할 수 있는 수단이 필요할 것이다. Hemoglobin³⁰과 혈장 단백질²¹의 비효소적 glycosylation이 이에 대한 가능성을 제공해 주었으며, 이것들이 발견될 때까지 의사가 장기간에 걸친 혈당량 제어를 평가할 수 있는 객관적인 방법이 없었다.

개의 당뇨병 치료를 위해서 혈당, 요당, 인슐린 투여량, 에너지 소모 등을 감시할 필요가 있다. 인슐린에 대한 임상적인 반응을 감시하기 위해 전통적으로 혈당과 요당을 측정하였다^{22,43}. 그러나 혈당과 요당은 인슐린의 최대 작용시간, 흥분, 사료, 운동량 등에 의해 영향을 받는다⁴³. 따라서 이것들을 검사하여 치료 계획을 수정할 경우 중대한 오류를 범할 수 있다³⁹.

혈청 fructosamine은 1-amino-1-deoxyfructose의 통칭으로서 혈장단백질이 유전 정보에 의해 생성된 후 혈장 중의 당과 비효소적으로 결합하여 생성되는 것이다. 이것이 생성되는 정도는 장시간에 걸친 누적된 평균 혈당량에 정비례하고^{16,28,31}, 일시적인 혈당량 변화와는 상관관계가 미약한데^{2,3,29}, 이것은 혈액 단백질들이 장시간에 걸쳐서 혈당에 노출되면서 비효소적인 기전에 의해 서서히, 그리고 지속적으로 생성되는 것이기 때문이다. 또한 이러한 현상은 fructosamine 농도가 식후성 고혈당증이나 일시적인 glucagon, catecholamines, glucocorticoids, growth hormone 등의 분비에 영향을 받지 않는다는 것을 의미한다.

당뇨병 개에 대해서도 혈청 fructosamine을 측정하여 과거의 누적 평균혈당량을 평가하려는 시도가 이루어졌다^{5,19,20,27,36}. 혈청 fructosamine을 측정하여 과거 몇 주간 또는 몇 개월간의 혈당 제어 상태를 파악하고, 이것을 당뇨병 환축의 혈당 제어의 감시에 이용하려면 동물 중에 따라 혈청 fructosamine 이 과거 몇 주간 또는 몇 개월간의 평균혈당량을 반영해주는지를 파악해야 한다. 이러한 glycosylated protein들의 혈액내 농도는 어느 기간의 평균 혈당량에만 좌우되는 것이 아니고, 각종 혈액 단백질의 혈액내 수명(반감기)에도 좌우될 것으로 추정되고 있다²⁶. 아직까지 당뇨병 개에 대해서는 혈청 fructosamine이 과거 몇 주간 또는 몇 개월간의 누적 평균혈당량을 반영하는지 보고된 바가 없으며, 사람에서의 기간을 원용하여 유추하고 있다.

혈액내 다양한 단백질의 반감기는 동물의 종에 따라 다르기 때문에 혈청 fructosamine의 농도를 기준으로 과거 몇 주간 또는 몇 개월간의 혈당량 제어를 반영하는지를 파악하는 것은 동물 종별로 혈당량에 변이를 가하면서 fructosamine 농도의 변동을 추적하면 가능할 것으로 생각된다.

이 연구에서 저자들은 개에 streptozotocin과 alloxan을 투여하여 작제한 당뇨병 모델 개에서 혈당량과 혈청 fructosamine 농도의 변화를 관찰하고, 누적 평균혈당량과 혈청 fructosamine 농도의 상관관계를 조사함으로써 혈청 fructosamine 농도가 과거 몇 주간의 누적 평균혈당량을 반영하는지를 규명하여 보고한다.

재료 및 방법

체중이 8~30 kg인 잡종개 수컷 14두와 암컷 1두를 사용했으며, 실험 시작 1개월 전에 내부기생충 구충, 광견병 및 DHPPL 예방접종을 실시했다. 외부 기생충의 예방은 볼포분말(Bayer)을 월 2회 피부에 직접 살포하였다. 사료는 육성견용 extruding pellet형 사료(제일제당)를 1일 2회 급이했으며, 1일 급이량은 대사에너지로서 체중 kg당 70 Cal이었다. 물은 물그릇에 1일 2회 충분히 공급하였다.

실험동물은 당뇨병을 유발하기 전 3개월간 격일 간격으로 또는 주 3회(월, 수, 금) 공복시 혈당량을 측정하여 기록하였다.

당뇨병의 유발을 위해 24시간 절식한 후 acepromazine 0.25 mg/kg을 근육주사하여 진정시키고, mannitol 0.5 g/kg을 1시간에 걸쳐서 정맥주사하였다. 그 다음 streptozotocin(Sigma Chemical Co.) 30 mg/kg과 alloxan monohydrate(Sigma Chemical Co.) 50 mg/kg을 정맥주사하였다. 이때 사용한 streptozotocin은 pH 4.5의 citrate buffer(0.05 mol)에 120 mg/ml의 농도로 용해하여 즉시 사용하였고, alloxan monohydrate(alloxan)는 pH 3.0의 citrate buffer(0.05 mol)에 200 mg/ml의 농도로 용해하여 즉시 사용하였다. streptozotocin과 alloxan을 정맥주사한 후 즉시 생리식염수 300~1000 ml을 정맥주사하여 배뇨를 촉진하였다. 그리고 streptozotocin과 alloxan 주사 후 8, 11, 13, 16시간에 10% 포도당액 50-300 ml을 정맥주사하여 저혈당증 에피소드를 극복하였다.

당뇨병을 유발시킨 동물은 매일 임상증상을 관찰하고, 당뇨와 케톤뇨의 배설을 관찰하였으며, 격일간격 또는 주 3회(월, 수, 금) 아침 공복시의 혈당량과 혈청 fructosamine 농도를 측정하였다.

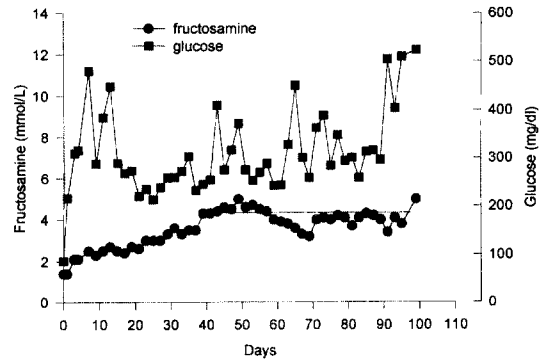
혈당당의 측정은 glucose oxidase법으로 측정하고, fructosamine 농도는 NBT를 기질로 사용한 Johnson 등²¹의 kinetic형 측정법에 준하여 측정하되 완충액의 pH를 10.35로 변경하여 측정하였다. 그리고 처치 후 혈청 fructosamine 농도의 변화와 혈당량의 변화가 어떤 시간적인 상관관계가 있는지 규명하기 위해 처치 후 인슐린을 주사하지 않고 9주 이상 생존했던 실험동물 1, 3, 6 및 12에 대해 개체별로 X축이 처치 후 경과 일수이고, Y축이 혈청 fructosamine 농도인 그래프를 작성하였다. 또한 개체별로 혈청 fructosamine 농도를 측정할 날을 기준으로 측정 당일, 과거 1주간, 2주간, 3주간, 4주간, 5주간, 6주간, 7주간 및 8주간의 누적 평균 혈당량을 계산하여 혈청 fructosamine 농도와 누적 평균혈당량과의 상관계수를 계산하였다. Streptozotocin과 alloxan 처치 후 폐사한 실험동물 1, 2, 3, 5는 부검하여 채장, 간장 및 신장조직을 완충 중성 포르말린에 고정한 후 일반적인 조직 처리 과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 6 µm로 절편을 만든 후 hematoxylin-cosin 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

당뇨병을 유발하기 위해 streptozotocin과 alloxan을 투여(처치)한 실험동물 15두 중 4두(실험동물 1, 3, 6, 12)는 지속적인 고혈당증을 동반한 진성당뇨병을 나타내었고, 인슐린 주사를 하지 않으면서 9주 이상 생존하여 계속 실험에 이용할 수 있었다. 15두 중 6두(실험동물 4, 5, 11, 13, 14, 15)는 처치 후 24시간에 공복시 혈당량(혈당량)이 약간 증가하다가 3일 내지 31일부터 정상 혈당량으로 회복되면서 당뇨를 배설하여 진성당뇨병이 유발된 것으로 판단되었으며, 실험에 적합하지 못해서 폐기하였다. 나머지 5두(2, 7, 8, 9, 10)는 처치 후 4일 이내에 폐사하였다.

당뇨병 유발 후 인슐린을 주사하지 않고 9주 이상 생존했던 실험동물 1, 3, 6, 12에 대해 개체별로 당뇨병 유발 후 2일 간격으로, 또는 주 3회(월, 수, 금) 측정된 혈당량과 혈청 fructosamine 농도를 이용하여 X축이 처치 후 경과일수이고, Y축이 혈청 fructosamine 농도인 그래프를 작성한 결과 각각 Text-Fig 1, 4, 7 및 10과 같았다.

실험동물 1은 처치 후 24시간부터 혈당량이 급속히 증가하여 3일에 309 mg/dl까지 상승한 후 213~523 mg/dl 범위에서 심한 파동을 나타내었다(Text-Fig 1). 혈청 fructosamine 농도(DMF로서)는 처치 전에 1.4 mmol/L이였으며, 처치 후 39일까지 꾸준히 증가하여



Text-Fig 1. Change over time in fructosamine and glucose for experimental animal 1 after treatment with streptozotocin and alloxan.

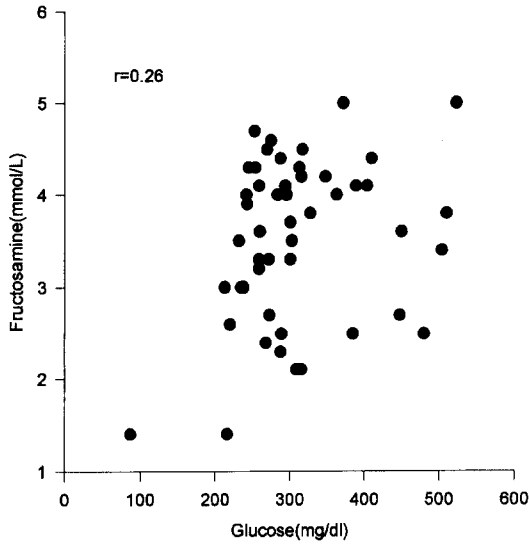
4.3 mmol/L를 나타내었으며, 그 후 약간의 파동을 보 이면서 plateau를 나타내었다(Text-Fig 1). 혈청 fructosamine 농도와 fructosamine 측정 당일의 공복시 혈당량과의 상관계수는 0.26으로서 상관관계가 미약하였으나(Table 1, Text-Fig 2), fructosamine 측정 전 평균 혈당량의 누적 기간이 길어질수록 상관계수가 증가하여 fructosamine 측정 전 6주간의 평균혈당량과의 상관 계수는 0.90으로서 상관관계가 가장 밀접하였다(Table 1, Text-Fig 3).

실험동물 3은 처치 후 24시간부터 혈당량이 급속히 증가하여 2일에 335 mg/dl까지 상승한 후 167~400 mg/dl 범위에서 심한 파동을 나타내었다(Text-Fig 4). 혈청

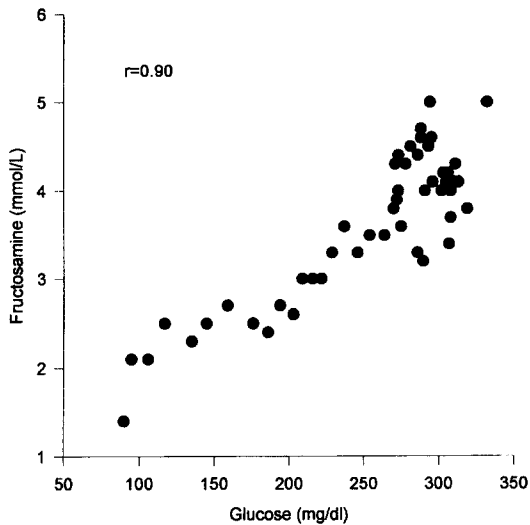
Table 1. Correlation coefficient between serum fructosamine concentration and cumulated mean serum glucose concentration of preceding 8 weeks in four diabetic dogs induced by intravenous injection with streptozotocin and alloxan

Weeks	Experimental animals			
	Dog 1	Dog 3	Dog 6	Dog 12
0	0.26*	0.43	0.75	0.43
1	0.52	0.54	0.87	0.77
2	0.60	0.68	0.92	0.89
3	0.70	0.78	0.95	0.97
4	0.77	0.81	0.96	0.98
5	0.86	0.87	0.96	0.97
6	0.90	0.92	0.97	0.94
7	0.89	0.92	0.96	0.90
8	0.85	0.91	0.94	0.87

*Correlation coefficient between serum fructosamine concentration and serum glucose concentration of the same day.

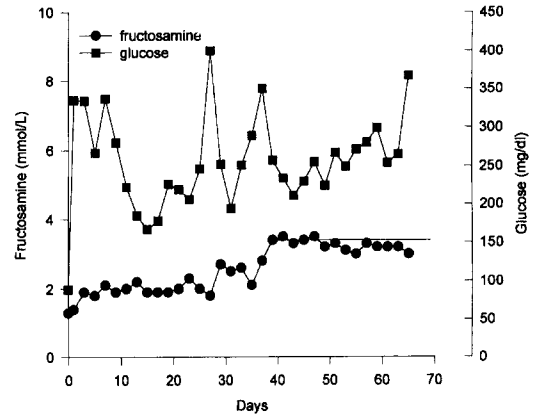


Text-Fig 2. Correlation of fructosamine concentration to fasting glucose concentration in experimental animal 1 treated with streptozotocin and alloxan.

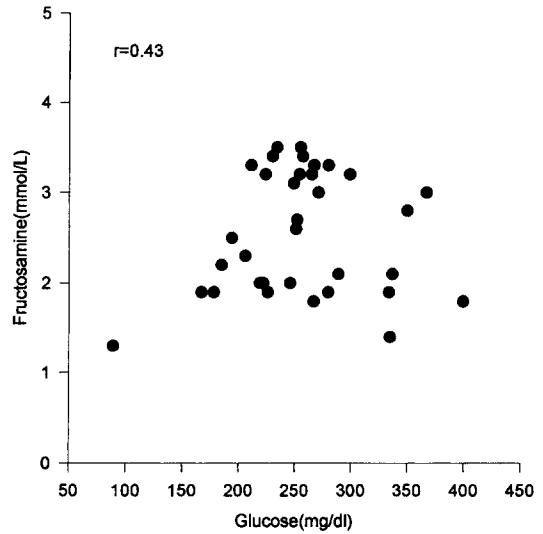


Text-Fig 3. Correlation of fructosamine concentration to mean fasting glucose concentration of preceding 6 weeks in experimental animal 1 treated with streptozotocin and alloxan.

fructosamine 농도는 처치 전에 1.3 mmol/L이었으며, 처치 후 39일까지 꾸준히 증가하여 3.4 mmol/L를 나타내었으며, 그 후 약간의 파동을 보이면서 plateau를 나타내었다(Text-Fig 4). 혈청 fructosamine 농도와 fructosamine 측정 당일의 공복시 혈당량과의 상관계수는 0.43



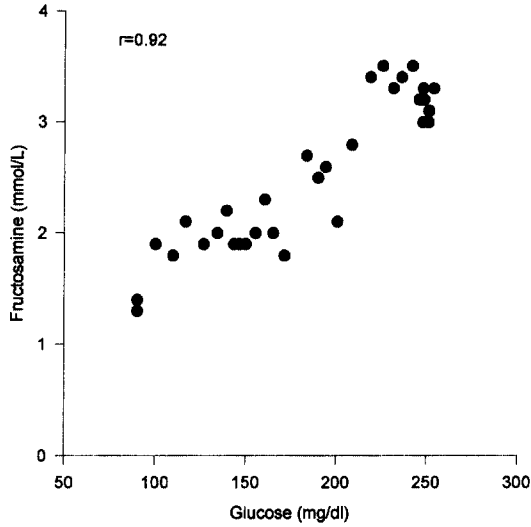
Text-Fig 4. Change over time in fructosamine and glucose for experimental animal 3 after treatment with streptozotocin and alloxan.



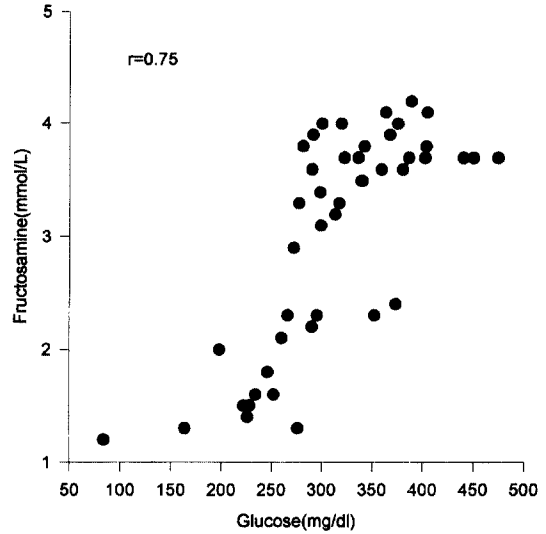
Text-Fig 5. Correlation of fructosamine concentration to fasting glucose concentration in experimental animal 3 treated with streptozotocin and alloxan.

으로서 상관관계가 미약하였으나(Table 1, Text-Fig 5) fructosamine 측정 전 평균혈당량의 누적 기간이 길어질수록 상관계수가 증가하여 fructosamine 측정 전 7주간의 평균혈당량과의 상관계수는 0.92로서 상관관계가 가장 밀접하였다(Table 1, Text-Fig 6).

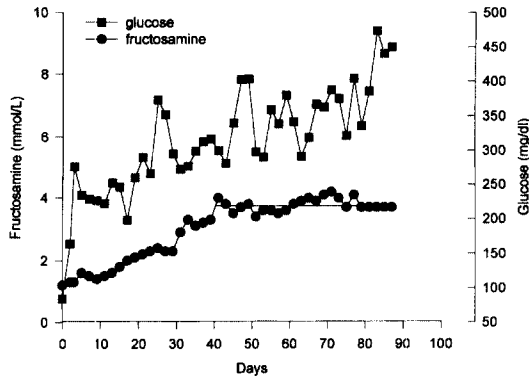
실험동물 6은 처치 후 24시간부터 혈당량이 급속히 증가하여 3일에 276 mg/dl까지 상승한 후 198-474 mg/dl 범위에서 심한 파동을 나타내었다(Text-Fig 7). 혈청 fructosamine 농도는 처치 전에 1.2 mmol/L이었으며, 처



Text-Fig 6. Correlation of fructosamine concentration to mean fasting glucose concentration of preceding 7 weeks in experimental animal 3 treated with streptozotocin and alloxan.



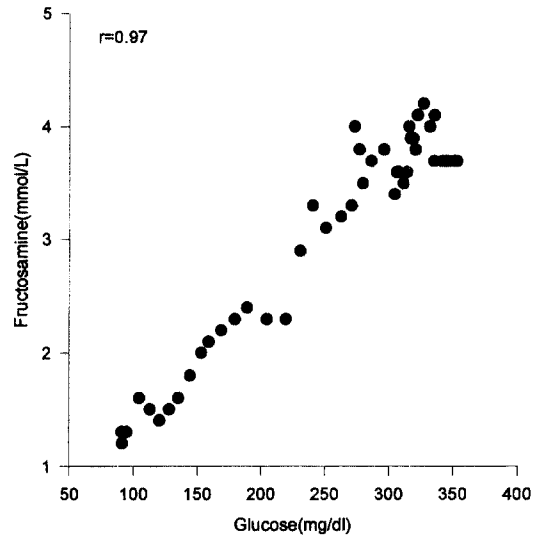
Text-Fig 8. Correlation of fructosamine concentration to fasting glucose concentration in experimental animal 6 treated with streptozotocin and alloxan.



Text-Fig 7. Change over time in fructosamine and glucose for experimental animal 6 after treatment with streptozotocin and alloxan.

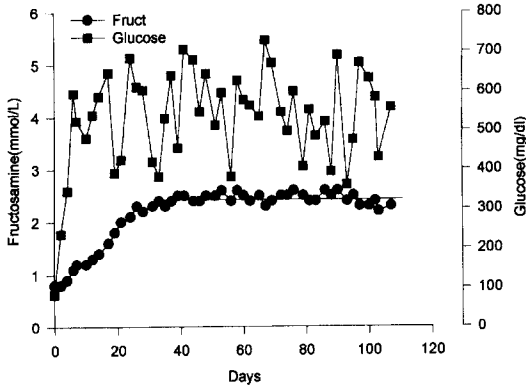
치 후 41일까지 꾸준히 증가하여 4.0 mmol/L를 나타내었으며, 그 후 약간의 파동을 보이면서 plateau를 나타내었다(Text-Fig 7). 혈청 fructosamine 농도와 fructosamine 측정 당일의 공복시 혈당량과의 상관계수는 0.75로서 상관관계가 비교적 미약하였으나(Table 1, Text-Fig 8), fructosamine 측정 전 평균혈당량의 누적 기간이 길어질수록 상관계수가 증가하여 fructosamine 측정 전 6주간의 평균혈당량과의 상관계수는 0.97로서 상관관계가 가장 밀접하였다(Table 1, Text-Fig 9).

실험동물 12는 처치 후 24시간부터 혈당량이 급속히

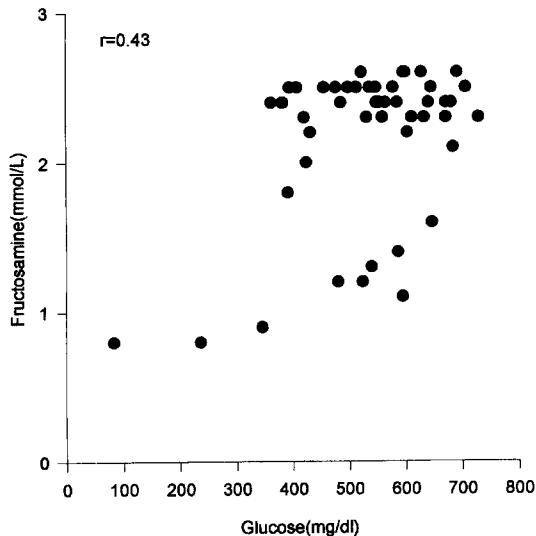


Text-Fig 9. Correlation of fructosamine concentration to mean fasting glucose concentration of preceding 6 weeks in experimental animal 6 treated with streptozotocin and alloxan.

증가하여 2일에 236 mg/dl까지 상승한 후 345~671 mg/dl 범위에서 심한 파동을 나타내었다(Text-Fig 10). 혈청 fructosamine 농도는 처치 전에 0.8 mmol/L이었으며, 처치 후 33일까지 꾸준히 증가하여 2.4 mmol/L를 나타내었으며, 그 후 약간의 파동을 보이면서 plateau를 나타



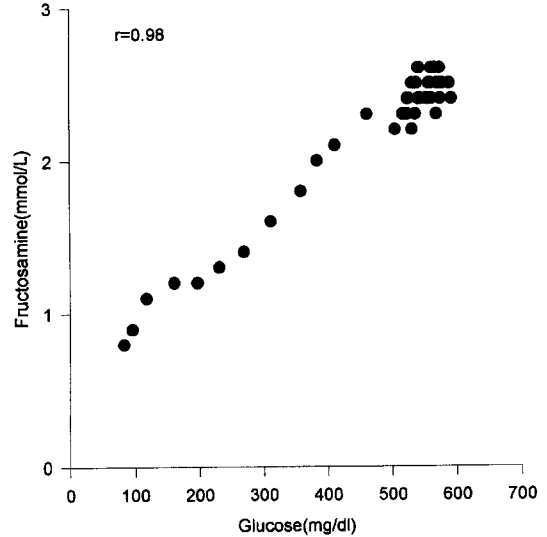
Text-Fig 10. Change over time in fructosamine and glucose for experimental animal 12 after treatment with streptozotocin and alloxan.



Text-Fig 11. Correlation of fructosamine concentration to fasting glucose concentration in experimental animal 12 treated with streptozotocin and alloxan.

내었다(Text-Fig 10). 혈청 fructosamine 농도와 fructosamine 측정 당일의 공복시 혈당량과의 상관계수는 0.43으로서 상관관계가 미약하였으나(Table 1, Text-Fig 11) fructosamine 측정 전 평균혈당량의 누적 기간이 길어질수록 상관계수가 증가하여 fructosamine 측정 전 4주간의 평균혈당량과의 상관계수는 0.98로서 상관관계가 가장 밀접하였다(Table 1, Text-Fig 12).

Streptozotocin과 alloxan 처치 후 폐사한 실험동물 1, 2, 3, 5의 조직병리학적 소견은 아래와 같았다. 실험동물 1, 2, 3, 5 모두에서 췌장 pancreatic islet의 islet cell



Text-Fig 12. Correlation of fructosamine concentration to mean fasting glucose concentration of preceding 4 weeks in experimental animal 12 treated with streptozotocin and alloxan.

이 관찰되지 않고 섬유아세포로 대체되었거나(Fig 1a, 2a, 3a) 무형질의 호산성물질이 침윤(4a)되어 있었다.

실험동물 1에서는 신사구체 주위의 곡세포관 상피세포의 괴사가 관찰되었다(Fig. 1b). 실험동물 2에서는 신사구체의 hypercellularity가 나타나고 주위 근위곡세포관 상피세포의 괴사가 관찰되며, 신사구체 주위에서 출혈이 관찰되었다(Fig. 2b). 실험동물 3에서는 신사구체 주위의 근위곡세포관 상피세포의 변성이 관찰되며, 호염성의 큰 핵을 가진 재생되는 근위곡세포관 상피세포도 관찰되었다(Fig 3b). 실험동물 5에서는 신사구체 주위의 곡세포관 상피세포의 괴사가 관찰되었으며, 간질에는 염증세포의 침윤이 관찰되었다(Fig 4b). 실험동물 1에서는 간세포에서 glycogen degeneration이 관찰되었다(Fig 1c). 실험동물 2에서는 간세포에서 경계가 뚜렷한 공포형태의 지방과립이 관찰되었다(Fig 2c). 실험동물 3에서는 간세포가 정상으로 관찰되었다(Fig 3c). 실험동물 5에서는 간세포의 배열이 불규칙하였으며, sinusoid에서 출혈이 관찰되었다(Fig 4c).

고 찰

성공적으로 당뇨병이 유발되었던 4두의 실험동물에서 streptozotocin과 alloxan 처치 후 공통적으로 아침의 공복시 혈당량이 급속히 증가한 후 심한 일간

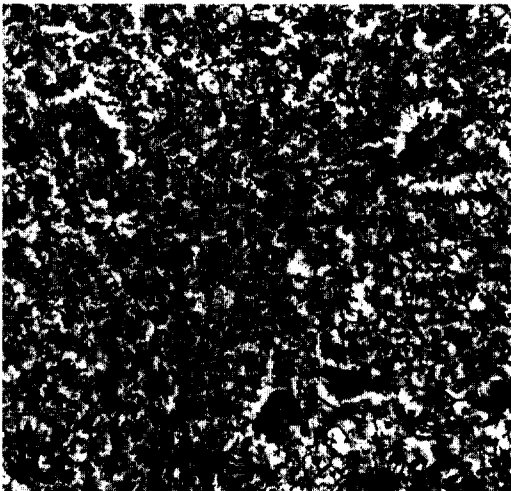
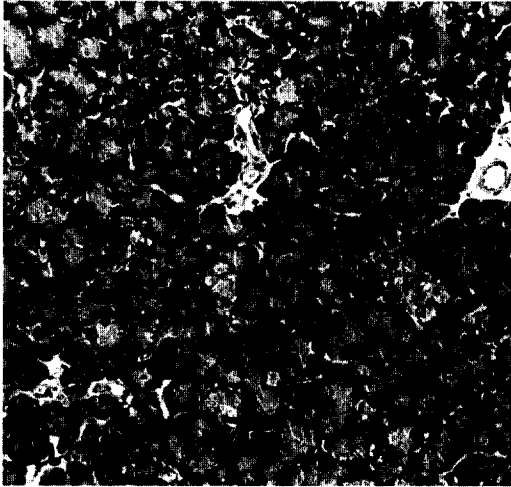


Fig 1a. Islet cell is not observed at pancreatic islet (P). The experimental animal survived 101 days without insulin injection after diabetes mellitus was induced with streptozotocin and alloxan. H & E stain, $\times 100$.

Fig 1b. Necrosis of epithelial cells (arrows) is observed in the convoluted tubules around glomerulus. The experimental animal is same as Fig 1a. H & E stain, $\times 200$.

Fig 1c. Glycogen degeneration (arrows) is observed in the hepatic cells. The experimental animal is same as Fig 1a. H & E stain, $\times 200$.

파동을 나타내었다. 이 연구에서는 당뇨병이 유발된 실험동물들의 식욕이 매일 일정한 양상을 나타내지 않았으며, 어떤 날은 저녁에 급식한 사료를 즉시 섭취하여 다음 날 아침 공복시 채혈을 할 때까지의 경과 시간이 10-12시간이 되고, 어떤 날은 저녁에 급식한 사료를 즉시 전부 섭취하지 않고 남겨두었다가 밤 늦게 또는 새벽에 섭취하여서 아침 사료 급식 전에 채혈할 때까지의 경과시간이 짧아서 공복시 혈당량의 일간 변동이 심한 것으로 생각된다. 이 결과는 당뇨병 환자²⁸와 정상인^{33,41}에서 공복시 혈당량의 일간 변동이 심하다는 보고와 일치하는 것이다. 자연 발생적인 당뇨병 개에서도 이러한 현상이 발생할 수 있다는 점을 고려하면 공복시 혈당량은 경증의 애매한 당뇨병을 감별진단하는데 적합하지 못할 것으로 사료

된다.

Baker 등³은 인슐린 의존성 당뇨병 환자에 인슐린을 투여하기 시작해서 20일만에 혈청 fructosamine 농도가 정상수준으로 회복되었다고 하였으며, 이것은 인슐린 투여에 의해 혈당량이 정상 수준으로 회복된 후 16일에 해당된다. 이것을 근거로 혈청 fructosamine 농도가 1-3주간의 혈당 제어의 지표가 된다고 하였다. 또한 Baker 등¹에 의하면 인슐린 비의존성 당뇨병 환자에 경구혈당강하제의 투여와 식이요법을 실시하다 중단하면 혈청 fructosamine 농도는 급격히 증가하기 시작하여 1-2주에 plateau에 도달했다. Hindle 등¹⁶은 당뇨병 어린이의 혈장 fructosamine 농도가 30일간의 평균혈당량과 상관관계가 있으며, 혈장 fructosamine 농도는 2-3주간의 평균혈당량을 반영하는 것으로 생

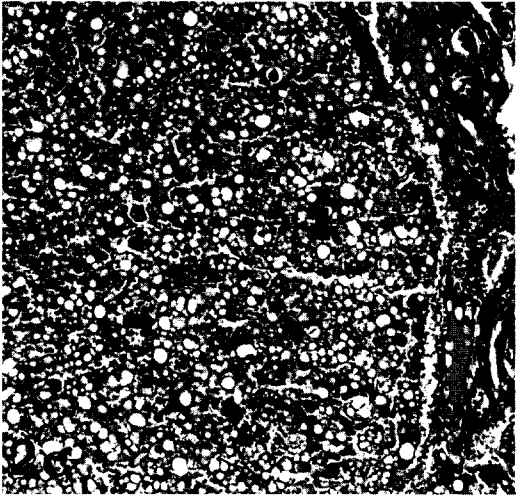
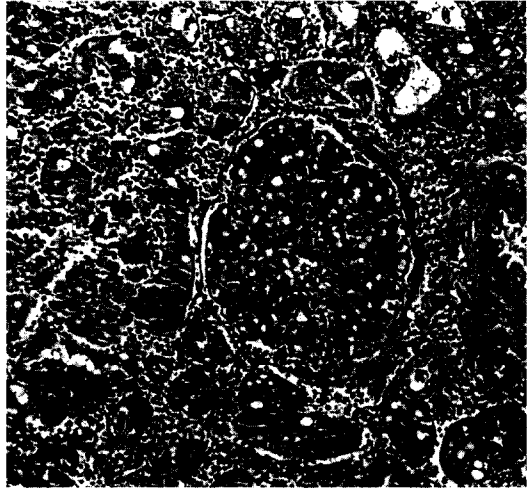
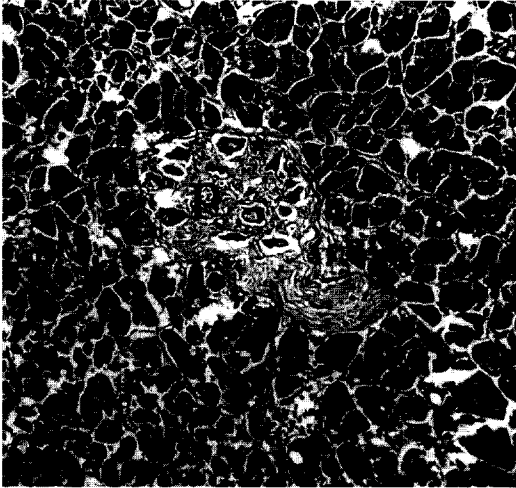


Fig 2a. Islet cell disappeared from the pancreatic islet (P). The experimental animal died 4 days after intravenous injection of streptozotocin and alloxan. H & E stain, $\times 200$.

Fig 2b. Increased hypercellularity in the glomerulus, necrosis of epithelial cells (arrows) in convoluted tubules around glomerulus, and hemorrhage (arrow head) were observed. The experimental animal is same as Fig 2a. H & E stain, $\times 200$.

Fig 2c. Fat granules (arrows) were observed in the hepatic cells. The experimental animal is same as Fig 2a. H & E stain, $\times 200$.

각된다고 하였다. 이러한 보고를 근거로 사람에게 있어서 혈청 fructosamine 농도는 1-3주간의 누적 평균혈당량을 반영하는 것으로 간주되고 있다.

Dixon⁹과 Kaneko²³는 개의 혈청알부민의 반감기는 8.2일이라고 하였으며, Jensen²⁰은 실험적 근거를 제시하지 않았지만 개의 혈청단백질의 반감기가 8-23일¹⁷로서 사람 혈청단백질의 반감기와 유사하기 때문에 사람에게서 처럼 혈청 fructosamine 농도가 1-3주간의 누적 평균혈당량을 평가하는 지표로 이용될 수 있다고 하였다. 이 연구에서는 alloxan과 streptozotocin을 투여하여 당뇨병이 유발된 개에서 혈청 fructosamine 농도가 투여 후 계속 증가하다가 33-41일부터 plateau를 나타내었다. 그리고 혈청 fructosamine 농도는 측정 당일의 공복시 혈당량과의 상관관계는 미약하고,

fructosamine 측정 전 4-7주간의 평균혈당량과의 상관관계는 밀접하였다. 이런 결과들은 약물에 의해 당뇨병이 유발된 개의 혈청 fructosamine 농도가 fructosamine 측정 전 4-7주간의 평균혈당량을 반영한다는 사실을 제시하는 것이라고 사료된다.

Streptozotocin과 alloxan을 투여한 실험동물 15두 중 부검을 실시한 4두 모두에서 췌장의 islet에 분포되어 있는 β 세포가 소실되어 관찰되지 않아서 인슐린 의존성 당뇨병과 매우 유사한 병리조직학적 병변이 유발된 것으로 판단되었다. 일반적으로 자발발생적인 당뇨병에 걸린 개에 있어서는 세포와 도관 상피세포의 공포화가 관찰되지만 약물을 이용해서 실험적으로 당뇨병을 유발한 개에서는 관찰되지 않는다. 이는 단시간에 많은 양을 투여하여 급성으로 islet에 분포되어

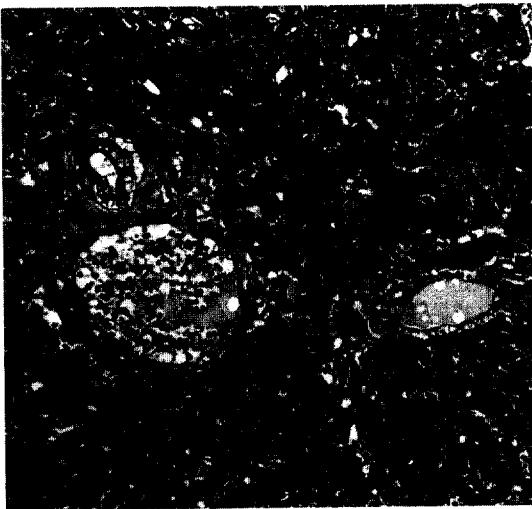
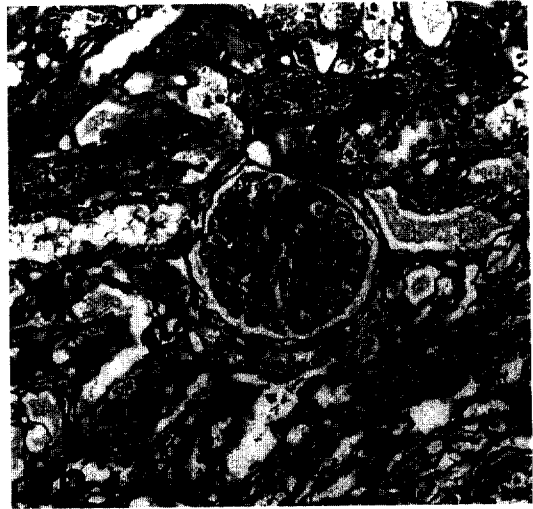
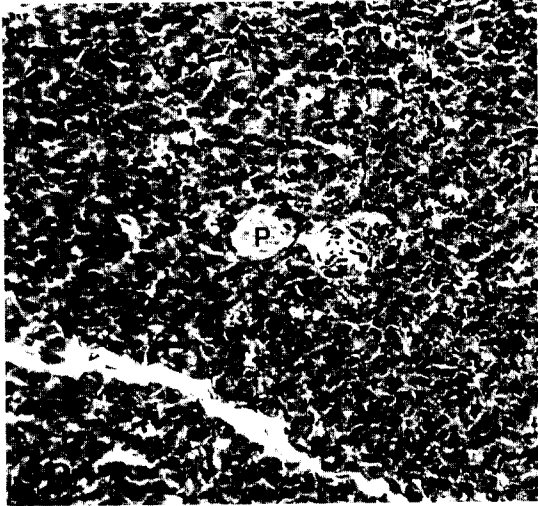


Fig 3a. Islet cell is not observed at pancreatic islet (P). The experimental animal survived 63 days without insulin injection after diabetes mellitus was induced with streptozotocin and alloxan. H & E stain, $\times 200$.

Fig 3b. Degeneration (arrows) as well as regeneration (arrow head) of epithelial cells in the convoluted tubules around glomerulus are observed. The experimental animal is same as Fig 3a. H & E stain, $\times 200$.

Fig 3c. Hepatic cells showed normal appearance. The experimental animal is same as Fig 3a. H & E stain, $\times 200$.

있는 세포가 괴사되어 소실되기 때문인 것으로 추정된다. 당뇨병 개에서 관찰되는 간장의 지방변화와 glycogen 변성도 관찰되었다. 당뇨병에 걸리면 지방조직에서의 지방분해작용이 증가되어 과다한 유리 지방산이 생성되고 이것이 간으로 유입된다. 유입된 유리 지방산이 간세포에 축적되어 지방변화를 일으키는 것으로 밝혀져 있다. 인슐린 의존성 당뇨병이 지속되면 신장 사구체에서 glomerulosclerosis가 유발되기도 한다. 이 연구에서는 사구체의 glomerulosclerosis는 관찰되지 않았지만 사구체에 세포수 증가가 관찰되어 glomerulosclerosis로 진행전의 병변으로 추정된다. 실험동물 4와 5는 streptozotocin과 alloxan 투여 후 24시간에 고혈당증을 나타내었지만 그후 혈당량은 정상 수준으로 회복되고, 당뇨는 계속 배설하였다. 정상 혈

당량을 나타내면서 당뇨를 배설하는 질병으로서는 원발성 신성 당뇨와 Fanconi 증후군이 있는데 이 실험동물들에서는 약물 투여 후 발생했다는 점에서 Fanconi 증후군이 유발된 것으로 사료된다. Sodikoff⁴⁰는 세뇨관의 질병이 신성 당뇨를 유발한다고 하였으며, Kaneko²⁴, Willard⁴², DiBartola⁸, Duncan 등¹¹는 Fanconi 증후군에서 신세뇨관에서의 흡수 실패로 인해 정상 혈당증이면서 당뇨를 배설한다고 하였다. Bark와 Park⁴는 amoxicillin을 투여한 개에서, Brown 등⁷은 gentamicin을 투여한 개에서 Fanconi 증후군이 발생한 것을 보고한 바 있다. 이 실험에서 췌장 islet의 세포가 완전히 소실되었으면 정상 혈당량을 나타낼 수가 없는데 두 마리에서 정상 혈당량을 나타내면서 당뇨를 배설했기 때문에 췌장 조직을 serial sectioning

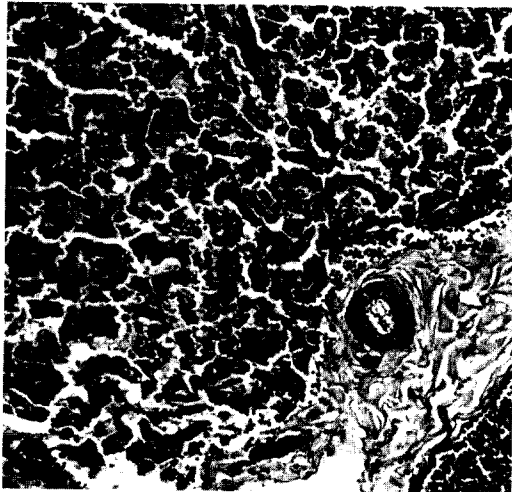
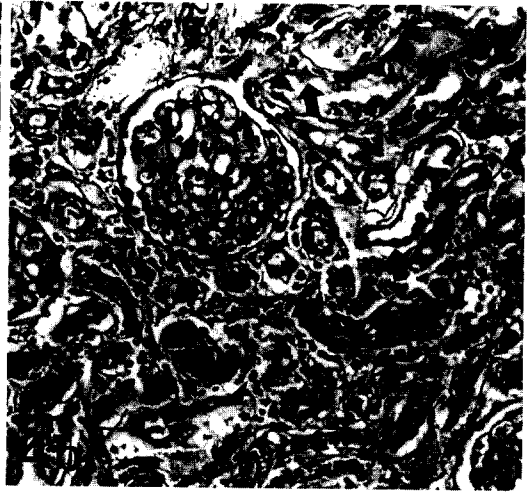
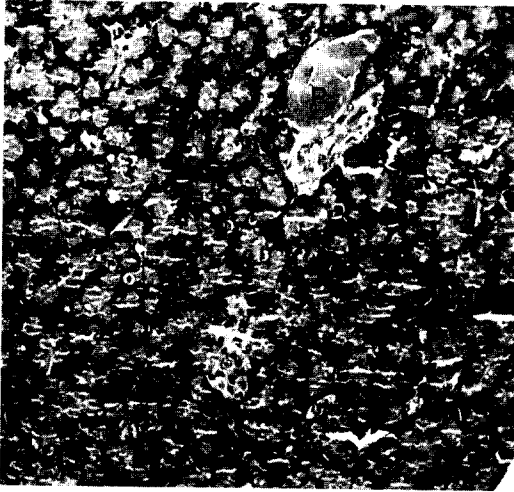


Fig 4a. Islet cell is not observed at pancreatic islet (P). The experimental animal revealed hyperglycemia 24 hours after injection with streptozotocin and alloxan, then its blood glucose level returned to normal range from day 3. But it showed glycosuria afterwards without hyperglycemia. H & E stain, $\times 200$.

Fig 4b. Necrosis of epithelial cells (arrows) and infiltration of inflammatory cells (arrow head) are observed in the convoluted tubules around glomerulus. The experimental animal is same as Fig 4a. H & E stain, $\times 200$.

Fig 4c. Hepatic cells are arranged irregularly and the sinusoid is congested. The experimental animal is same as Fig 4a. H & E stain, $\times 200$.

을 해서 남아있는 세포가 있는지 추적할 필요가 있을 것으로 생각된다. Black 등⁶, Forrat 등¹³, Sebbag 등³⁸은 개에서 체중 kg당 streptozotocin 30 mg과 alloxan 50 mg씩을 정맥주사하여 당뇨병을 유발하였다. Sebbag 등³⁸은 이와 동일한 용량을 10두의 개에 투여하여 9두에서 인슐린 투여가 필요 없는 수준의 당뇨병을 유발하는데 성공하였다고 했는데 그의 보고에서 인슐린 투여가 필요 없는 수준의 당뇨병이 어떤 기준에 의한 판단인지 밝히지 않았다. 그리고 Black 등⁶은 당뇨병 유발에 필요한 streptozotocin과 alloxan의 용량이 LD₅₀에 가깝거나 초과한다고 하였다. 이 실험 결과로 보아서는 개에서 체중 kg당 streptozotocin 30 mg과 alloxan 50 mg씩을 정맥주사하여 당뇨병을 유발시키고, 인슐린 투여없이 오래 생존시킬 수 있는 성공률은

낮을 것으로 생각된다.

결 론

체중 kg당 streptozotocin 30 mg과 alloxan monohydrate 50 mg씩을 정맥주사한 개 15두 중 4두에서 진성당뇨병이 발생되고 인슐린을 주사하지 않고 9주 이상 생존하였다. 진성당뇨병이 유발된 개에서 췌장의 islet cell이 소실되어 관찰되지 않았고, 신장 곡세뇨관 상피세포의 괴사, 변성, 염증세포의 침윤 등을 나타내었으며, 간세포는 glycogen degeneration, 지방 침윤 등을 나타내었다.

진성당뇨병이 유발된 4두의 개에서 혈청 fructosamine 농도는 투여 후 계속 증가하다가 33-41일

부터 plateau를 나타내었다. 혈청 fructosamine 농도는 이것의 측정 당일의 혈당량과는 상관관계가 미약하고, 측정 전 4-7주간의 평균혈당량과의 상관관계는 매우 밀접하였다. 약물에 의해 유발된 당뇨병 개에서 혈청 fructosamine 농도는 과거 약 4-7주간의 평균혈당량을 반영하였다. 당뇨병 모델 개에 있어서 혈청 fructosamine이 과거 몇 주간의 평균혈당량을 반영하는지 규명되어 당뇨병 치료계획에 대한 환측의 장기간의 반응과 성공 여부를 판단하는 근거로 이용할 수 있게 되었다.

참 고 문 헌

- Baker JR, Johnson RN, Scott DJ. Serum fructosamine concentrations in patients with type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus during changes in management. *Br Med J* 1984; 288: 1484-1486.
- Baker JR, Metcalf PA, Holdaway IM, Johnson RN. Serum fructosamine concentration as measure of blood glucose control in type I(insulin dependent) diabetes mellitus. *Br Med J* 1985; 290: 352-355.
- Baker JR, O'Connor JP, Metcalf PA, et al. Clinical usefulness of estimation of serum fructosamine concentration as a screening test for diabetes mellitus. *Br Med J* 1983; 287: 863-867.
- Bark H, Park R. Fanconi syndrome associated with amoxicillin therapy in the dog. *Canine Pract* 1995; 20: 19-22.
- Bergamini PF, Boari A, Impala A. Determination of fructosamine in dogs: Reference values and observations on animals with diabetes mellitus. *Veterinaria Cremona* 1992; 6: 67-70.
- Black HE, Rosenblum IY, Capen CC. Chemically induced(Streptozotocin-Alloxan) Diabetes mellitus in the dog. *Am J Pathol* 1980; 98: 295-310.
- Brown SA, Rakich PM, Barsanti JA, et al. Fanconi syndrome and acute renal failure associated with gentamicin therapy in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 1986; 22: 635-640.
- DiBartola SP. Renal tubular disorders. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 4th ed. edited by Ettinger, SJ, Feldman, EC. Philadelphia: WB Saunders Co. 1995: 1801-1832.
- Dixon FA, Maurer PH, Deichmiller MP. Half-lives of homologous serum albumins in several species. *Proc Soc Exp Biol Med* 1953; 83: 287-288.
- Duncan B, Heiss G. Nonenzymatic glycosylation of proteins-A new tool for assessment of cumulative hyperglycemia in epidemiologic studies, past and future. *Am J Epidem* 1984; 120: 169-189.
- Duncan JR, Prasse KW, Mahaffey EA. Urinary system. In: *Veterinary Laboratory Medicine*, 3rd ed. Ames: Iowa State University Press. 1995: 162-183.
- Entmacher PS, Root HF, Marks HH. Longevity of diabetic patients in recent years. *Diabetes* 1964; 13: 373-377.
- Forrat R, Sebbag L, Wiernsperger N, et al. Acute myocardial infarction in dogs with experimental diabetes. *Cardiovascular Research* 1993; 27: 1908-1912.
- Garcia MJ, McNamara PM, Gordon T, et al. Morbidity and mortality in diabetics in the Framingham population, sixteen year followup study. *Diabetes* 1974; 23: 105-111.
- Higgins PJ, Garlick RL, Bunn HF. Glycosylated hemoglobin in human and animal red cells: Role of glucose permeability. *Diabetes* 1982; 31: 743-748.
- Hindle EJ, Rostron GM, Clark SA, et al. Serum fructosamine and glycated haemoglobin measurements in diabetic control. *Archives of Disease in Childhood* 1986; 61: 113-117.
- Jain NC. The plasma proteins, dysproteinemias, and immune deficiency disorders. In: *Schalm's Veterinary Hematology*, 4th ed. edited by Jain NC. Philadelphia: Lea and Febiger: 940-989.
- Jenkins DJA. Lente carbohydrate: A newer approach to the dietary management of diabetes. *Diabetes Care* 1982; 5: 634-641.
- Jensen AL. Various protein and albumin corrections of the serum fructosamine concentration in the diagnosis of canine diabetes mellitus. *Vet Res Commun* 1993; 17: 13-23.
- Jensen AL. Serum fructosamine as a screening test for diabetes mellitus in non-healthy middle-aged to older dogs. *Zentralbl Veterinarmed B* 1994; 41: 480-484.
- Johnson RN, Metcalf PA, Baker JR. Fructosamine: a new approach to the estimation of serum glycosyl-protein. An index of diabetic control. *Clin Chim Acta* 1982; 127: 87-95.
- Kaneko JJ. Carbohydrate metabolism and its disorders. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. New York: Academic Press Inc, 1980: 1-51.
- Kaneko JJ. Serum proteins and the dysproteinemias. In: *Clinical biochemistry of Domestic Animals*, 4th ed. San Diego: Academic Press Inc. 1989: 142-165.
- Kaneko JJ. Glucosuria. In: *Clinical biochemistry of domestic animals*, 4th ed. San Diego: Academic Press Inc. 1989: 521.
- Kannel WB, Hjortland M, Castelli WP, et al. Role of diabetes in congestive heart failure: the Framingham study. *Am J Cardiol* 1974; 34: 29-34.
- Kaneko JJ, Kawamoto M, Heusner AA, et al. Evaluation of serum fructosamine concentration as a

- index of blood glucose control in cats with diabetes mellitus. *Am J Vet Res* 1992; 53: 1797-1801.
27. Kawamoto M, Kaneko JJ, Heusner AA, et al. Relation of fructosamine to serum protein, albumin, and glucose concentrations in healthy and diabetic dogs. *Am J Vet Res* 1992; 53: 851-855.
 28. Kennedy L, Mehl TD, Elder E, et al. Nonenzymatic glycosylation of serum and plasma proteins. *Diabetes* 1982; 31 suppl 3: 52-56.
 29. Kennedy AL, Merimee TJ. Glycosylated serum protein and hemoglobin A1 levels to measure control of glycemia. *Annals Internal Med* 1981; 95: 56-58.
 30. Mahaffey EA, Cornelius, L.M. Glycosylated hemoglobin in diabetic and nondiabetic dogs. *JAVMA* 1982; 180: 635-637.
 31. Mayer TK, Freedman ZR. Protein glycosylation in diabetes mellitus: A review of laboratory measurements and of their clinical utility. *Clin Chim Acta* 1983; 127: 147-184.
 32. Nelson RW. Diabetes mellitus. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 4th ed. edited by Ettinger SJ. Philadelphia: WB Saunders. 1995: 1510-1537
 33. Olefsky JM, Reaven GM. Insulin and glucose responses to identical oral glucose tolerance tests performed forty-eight hours apart. *Diabetes* 1974; 23: 449-453.
 34. Ostrander LD, Francis T, Hayner NS, et al. The relationship of cardiovascular disease to hyperglycemia. *Ann Intern Med* 1965; 62: 1188-1198.
 35. Owens DR, Wragg KG, Briggs PI, et al. Comparison of the metabolic response to a glucose tolerance test and a standardized test meal and the response to serial test meals in normal healthy subjects. *Diabetes Care* 1979; 2: 409-413.
 36. Reusch CE, Liehs MR, Hoyer M, Vochezer R. Fructosamine. A new parameter for diagnosis and metabolic control in diabetic dogs and cats. *J Vet Intern Med* 1993; 7: 177-182.
 37. Schimide MI, Hadji-Georgopoulos A, Rendell M, et al. The dawn phenomenon, an early morning glucose rise: implications for diabetic intraday blood glucose variation. *Diabetes Care* 1982; 4: 579-585.
 38. Sebbag L, Rorrat R, Canet E. Effect of experimental non-insulin requiring diabetes on myocardial microcirculation during ischaemia in dogs. *Europ J Clin Invest* 1994; 24: 686-690.
 39. Smith JE, Wood PA, Moore K. Evaluation of a colorimetric method for canine glycosylated hemoglobin. *Am J Vet Res* 1982; 43: 700-701.
 40. Sodikoff CH. Urine tests. in *Laboratory Profiles of Small Animal Diseases*, 2nd ed. St. Louis: Mosby. 1995: 43-52.
 41. Valleron A-J, Massari V. Assessment of the OGTT in asymptomatic subjects. In: *Advances in Diabetes Epidemiology*. edited by Eschwege E. New York: Elsevier Biomedical Press. 1982: 7-16.
 42. Willard MD. Urinary disorders. In: *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. edited by Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH. Philadelphia: Harcourt Brace Jovanovich, Inc. 1986: 121-153.
 43. Wood PA, Smith JE. Glycosylated hemoglobin and canine diabetes mellitus. *JAVMA* 1980; 176: 1267-1268.