

실험적으로 당뇨병을 유발시킨 개에 있어서 혈당량과 Hemoglobin A₁ 농도의 변화의 시간적인 상관관계

이 창우·김본원

서울대학교 수의과대학
(1998년 9월 10일 접수)

Time relationship between the change of blood glucose concentration and the change of hemoglobin A₁ concentration in experimentally induced diabetic dogs

Chang-woo Lee, Bonn-won Kim

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

(Received Sep 10, 1998)

Abstract : Fifteen mongrel dogs (14 male and 1 female) were injected intravenously with 30mg of streptozotocin and 50mg of alloxan monohydrate per kilogram of body weight to induce diabetes mellitus. Before treatment with streptozotocin and alloxan fasting serum glucose concentration was determined every other day or thrice a week (Monday, Wednesday, Friday) for 3 months. Among 15 dogs 4 dogs developed diabetes mellitus and survived more than 9 weeks without injection of insulin. After treatment fasting serum glucose and hemoglobin A₁ concentrations of the 4 dogs were determined every other day or thrice a week. Fasting serum glucose concentration increased acutely from 24 hours after treatment and then showed severe fluctuation. Hemoglobin A₁ concentration increased gradually until 7~9 weeks after treatment and then showed very slow increase afterwards. Correlation of hemoglobin A₁ to fasting glucose concentration was relatively weak ($r = 0.10\sim 0.80$). Hemoglobin A₁ and fasting glucose concentration of preceding 7 weeks showed very high correlation ($r = 0.98\sim 0.99$). It was indicated that hemoglobin A₁ concentration in chemically induced diabetic dogs reflects mean glucose concentration of preceding 7~9 weeks.

Key words : diabetes mellitus, hemoglobin A₁, streptozotocin, alloxan.

이 논문은 1997년 학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

Address reprint requests to Dr. Chang-woo Lee, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seodundong 103, Suwon, Republic of Korea.

서론

개와 고양이의 진성 당뇨병은 내분비성 질환중 가장 발생률이 높다¹. 스웨덴에서 조사한 보고에 의하면 27년간 부검한 결과 개 10,993마리중 167마리(1.5%)가 당뇨병으로 진단되었다고 한다².

진성 당뇨병은 사람에서도 발병률이 높을 뿐 아니라 특유의 다양한 병인론 때문에 이에 대한 많은 연구가 진행되었다. 당뇨병에 걸린 사람(당뇨병 환자) 중에서 고혈당증의 정도가 상한선에 있는 환자는 대혈관성 질환, 심혈관성 질환 및 미세혈관성 질환을 초래하며³, 심혈관성 질환은 관상동맥, 뇌 및 말초동맥 등과 같은 주요 혈관에 발생하여⁴⁻⁷ 생명을 위협한다. 한편 비교적 경증인 당뇨병의 병원성에 대해서는 아직 정립되어 있지 않으며 특히 심혈관계 질환에 대한 병원성이 정립되어 있지 않다. 임상적인 증상을 확실히 나타내지 않는 애매한 당뇨병을 경증의 포도당 불내증이라고 하며, 이것은 중증의 진성 당뇨병보다 보건학적 측면에서 중요성이 더 큰데 그것은 경증의 포도당 불내증을 나타내는 대부분의 환자에서 고혈당증이 증상을 나타내지 않기^{8,9} 때문에 이것이 장기간 지속될 경우 초래할 합병증에 대한 경각심을 갖지 않게 되기 때문이며 또한 종래의 진단방법으로는 오진할 가능성이 많기^{3,10} 때문이다.

당뇨병 진단을 위한 종래의 검사로서 공복시 혈당량, 수시 혈당량, 경구당 부하시험 등이 실시되어 왔다. 공복시 혈당량은 당뇨병 환자¹¹와 정상인^{9,12}에서 공히 일간변동이 상당하며, 일내변동¹³도 존재한다. 수시 혈당량은 식사상태를 무시한 혈당량으로서 정밀도가 낮다. 경구당 부하시험은 본래 포도당에 대한 개인의 불내증 가능성의 지표일 뿐이다. 이것은 실제의 불내증 지표로서 두가지 결함이 있다. 첫째는 일상생활에서 섭취하는 다양한 탄수화물에 대한 당혈증반응과 포도당에 대한 당혈증반응은 차이가 나며¹⁴, 포도당 부하에 대한 반응은 혼합된 탄수화물 식사에 의한 고혈당증의 대략적인 평가에 지나지 않는다¹⁵. 둘째로 이것은 표준화된 식사와 일정한 시간의 절식과 같은 표준화된 조건하에서 실시하는 것이기 때문에 환자의 실제의 생활 및 식사습성이 표준화된 조건과 어떤 상호반응을 나타낼지 예측할 수 없다³.

당뇨병의 병원성이 일과성 고혈당증에 의한 것이 아

니고 장기간에 걸친 고혈당증에 의한 것이기 때문에 누적혈당량이 만성당뇨병의 원인이라는 가설을 인정할 경우 큰폭의 일간변동과 일내변동에 영향을 받지 않으면서 장기간의 누적고혈당증을 증명할 수 있는 수단이 필요할 것이다. Hemoglobin의 비효소적 glycosylation이 이에 대한 가능성을 제공해주었으며, glycosylated hemoglobin 검사가 개발될 때까지 장기간에 걸친 혈당량 제어를 평가할 수 있는 객관적인 방법이 없었다¹⁶.

성인과 6개월령 이상된 유아의 hemoglobin 중 약 90%는 hemoglobin A이다. 1955년 Kunkel과 Wallenius¹⁷는 사람의 hemoglobin 중에는 전분 gel 전기영동에 의해 서서히 이동하는 hemoglobin A₂(HbA)와 빨리 이동하는 소량의 분획이 있다는 사실을 밝혔다. Allen *et al*¹⁸과 Huisman 및 Meyering¹⁹은 cation exchange chromatography에 의해 적혈구 용혈물중 세가지의 negatively charged minor hemoglobin이 있고, 이것들이 hemoglobin A 보다 먼저 용출되는 것을 밝혔으며, Allen *et al*¹⁸은 이것들이 용출되는 순서에 따라 각각 "HbA_{1a}, HbA_{1b} 및 HbA_{1c}"라고 명명하였다. 이들은 전기영동상 HbA보다 빨리 이동하고, chromatography상 빨리 용출되기 때문에 "fast hemoglobin"이라고도 한다. Holmquist와 Schroeder²⁰은 이 세가지 중 HbA_{1c}가 가장 많으며, 이것은 어떤 물질이 Schiff base에 의해 β -chain의 terminal amino acid에 결합된 점을 제외하면 HbA와 유사하다는 것을 밝혔다. Bookchin와 Gallop²¹은 결합된 이 물질이 육탄당이라는 사실을, 그리고 Bunn *et al*²²과 Bunn *et al*²³은 이 물질이 포도당이라는 것을 규명하였다. 사람에게 있어서 HbA의 생성은 δ -chain gene의 유전정보에 의해 제어되는 것으로 추정된다²³. HbA_{1c}의 생성은 전사후(轉寫後, posttranslational) 변경에 의해 HbA로부터 생성되며²³, 120일간의 적혈구 수명동안 서서히 생성되고^{23,24} 비효소적으로 생성된다^{23,25}. HbA_{1a}와 HbA_{1b}도 전사후 변경에 의해 이루어진다²³. 전사후 변경반응은 거의 비가역성이기 때문에 HbA_{1c}의 누적량은 일정기간의 적혈구내 포도당 농도와 비례할 것이다²⁶.

1968년까지는 빠르게 이동하는 hemoglobin의 임상적 의의가 알려지지 않았다. Rahbar²⁷는 어떤 당뇨병 환자들로부터 준비한 혈액 용혈물중에 특이한 hemoglobin이 존재하는 것을 밝혔으며, 이것은 citrate agar에서 hemoglobin F와 비슷한 이동성을 나타내지만 hemoglobin F와 달리 알칼리에 의해 변성되는 것을 발견하였다. 그후 Rah-

bar²⁸는 이 특이한 hemoglobin이 HbA_{1c}와 같은 특성을 나타내며 당뇨병 환자에서는 정상인의 2배로 증가한다는 사실을 밝혔다.

HbA₁은 단시간내의 혈당량 변화에 영향을 받지 않기^{29,30} 때문에 당뇨병 환자에 있어서 혈당 제어상태를 정밀하게 반영한다³⁰. 따라서 HbA₁을 측정하면 당불내증 환자 특히 애매한 환자에 있어서 당불내증의 정도를 정확하게 추정할 수 있다³⁰. Dods와 Bolmey³¹는 당뇨병 진단을 위해 HbA_{1c}의 측정이 경구당 부하시험과 같이 유용하다고 하였으며, Dix *et al*³²은 당부하시험이 공복시 혈당량 보다 당뇨병 진단에 있어서 예민한 지표이지만 애매한 당뇨병 환자에 있어서 위양성 판정을 내릴 위험성이 많다고 하였다.

Glycosylated hemoglobin은 당뇨병의 진단 뿐만 아니라 일단 당뇨병으로 진단되어 치료중인 환자에 있어서 당혈중의 제어가 얼마만큼 잘 되고 있는지 감시하는 수단으로서도 각광을 받고 있다. 임상적인 평가에 의해 당뇨병 관리가 잘 되고 있다고 판단되는 환자에서 HbA₁은 감소하는 경향을 나타낸다²⁹. Bunn *et al*³⁰은 glycosylated hemoglobin이 당뇨병 요법의 정확하고 객관적인 평가를 제공하기 때문에 당뇨병 환자의 혈당량 제어를 향상할 수 있다고 하였다.

개의 당뇨병 치료를 위해서 혈당, 요당, 인슐린 투여량, 에너지 소모 등을 감시할 필요가 있다. 인슐린에 대한 임상적인 반응을 감시하기 위해 전통적으로 혈당과 요당을 측정하였다^{33,34}. 그러나 혈당과 요당은 인슐린의 최대 작용시간, 흥분, 사료, 운동량 등에 의해 영향을 받는다³⁴. 따라서 이것들을 검사하여 치료계획을 수정할 경우 중대한 오류를 범할 수 있다³⁵.

Higgins *et al*³⁶은 개의 hemoglobin도 cation-exchange chromatography에 의해 major hemoglobin component와 minor hemoglobin component로 분리된다는 사실과 minor component가 glycosylated hemoglobin이라는 사실을 증명하였고, Wood와 Smith³⁴는 column chromatography에 의해 개 혈액중의 2개의 minor hemoglobin fraction을 hemoglobin A_{1a+b}와 hemoglobin A_{1c}로 분류하였으며, 개의 hemoglobin A_{1c}가 사람의 hemoglobin A_{1c}와 동일한 것을 확인하였다. 또한 Hooghuis *et al*³⁷은 개의 hemoglobin도 생리학적으로 적혈구내 포도당과 결합하여 glycated fraction을 생성한다는 사실을 증명하였다. 이러한 사실은 개에 있어서도 HbA_{1c}가 장기간의 혈당량에 대한 정보를

제공해주며, 인슐린 요법의 효과를 감시하는 수단으로 이용될 수 있다는 주장^{34,35,37}의 근거를 제시한다.

Glycosylated hemoglobin을 측정하여 당혈중 제어의 효과를 판단할 수 있는 것은 이것이 일과성의 혈당량 파동에 영향을 받지 않으면서 장기간에 걸친 누적혈당량(평균혈당량)을 제시하는데 근거를 두고 있다. 따라서 glycosylated hemoglobin을 측정하여 당뇨병의 진단과 당혈중 제어의 효과를 정확하게 판단할 수 있기 위해서는 glycosylated hemoglobin 농도가 시료채취전 몇주간 또는 몇개월간의 평균 혈당량을 반영하는지를 파악하는 것이 필수적이다.

Bunn *et al*^{23,24,30}은 사람에 있어서는 hemoglobin의 glycosylation은 적혈구의 수명이 지속되는 동안 계속되는 것이고 적혈구 수명은 약 120일이기 때문에 glycosylated hemoglobin은 측정전 약 60일간 즉, 적혈구의 반감기에 해당되는 기간의 평균 혈당량을 반영할 것이라고 추정하였으며, 연구자에 따라 약간의 차이는 있지만 측정전 5주간^{38,39} 내지 60일간⁴⁰의 평균 혈당량 또는 60일간의 평균 요당배설량²⁶을 반영한다는 사실을 실험적으로 증명하였다.

개에 있어서는 아직까지 glycosylated hemoglobin이 측정전 몇주간의 평균 혈당량을 반영하는지 규명되지 않았다. Smith *et al*³⁵은 개에 있어서 고혈당증이 급작히 발생하여 지속적으로 유지될 때 hemoglobin A_{1c}가 유의성 있는 증가를 나타내기 위해서 2주간이 소요된다고 기술하였으나 이것은 실험적 근거를 명시하지 않은 것이다.

한편 Wood와 Smith³⁴는 사람의 적혈구 수명이 약 120일이며, 개의 적혈구 수명이 이와 비슷하기 때문에 glycosylated hemoglobin은 과거 3~4주간의 혈당량을 반영할 것으로 추정하였고, 수의학 분야에서는 이 가설에 준해서 glycosylated hemoglobin의 측정을 당뇨병 진단과 혈당량 제어의 감시에 이용하고 있다.

이 연구에서 저자들은 streptozotocin과 alloxan을 투여하여 당뇨병을 유발한 개에서 혈당량과 glycosylated hemoglobin(HbA₁)을 연속적으로 측정하여 glycosylated hemoglobin이 과거 몇주간의 평균 혈당량을 반영하는지 규명하여 보고한다.

재료 및 방법

실험동물 : 체중이 8~30kg인 잠종개 수컷 14두와 암컷

1두를 사용했으며, 실험시작 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 급여했으며, 1일 급여량은 대사에너지를 기준으로 kg당 70 Cal이었다. 물은 실험기간에 1일 2회 충분히 공급하였다. 실험동물은 당뇨병을 유발하기전 3개월간 격일 간격으로 공복시 혈당량을 측정하여 기록하였다.

당뇨병 유발 : 당뇨병은 Black *et al*⁴¹, Forrat *et al*⁴² 및 Sebbag *et al*⁴³에 준해 아래와 같이 유발하였다. 실험동물을 24시간 절식한 후 acepromazine 0.25mg/kg을 근육주사하여 진정시키고, mannitol 0.5g/kg을 1시간에 걸쳐서 정맥주사하였다. 그 다음 streptozotocin(Sigma Chemical Co.) 30mg/kg과 alloxan monohydrate(Sigma Chemical Co.) 50mg/kg을 정맥주사하였다. 이때 사용한 streptozotocin은 pH 4.5의 citrate buffer(0.05 mol)에 120mg/ml의 농도로 용해하여 즉시 사용하였고, alloxan monohydrate(alloxan)는 pH 3.0의 citrate buffer(0.05 mol)에 200mg/ml의 농도로 용해하여 즉시 사용하였다. Streptozotocin과 alloxan을 정맥주사한 후 즉시 생리적 식염수 300~1000ml을 정맥주사하여 배뇨를 촉진하였다. 그리고 streptozotocin과 alloxan 주사후 8, 11, 13, 16시간에 10% 포도당액 50~300ml씩을 정맥주사하여 저혈당증 에피소드를 극복하였다.

혈당량 및 Hemoglobin A_{1c}의 측정 : 당뇨병을 유발시킨 동물은 매일 임상증상을 관찰하고, 당뇨와 케톤뇨의 배설을 관찰하였으며 격일 간격으로 또는 주 3회(월요일, 수요일, 금요일) 아침 공복시의 혈당량과 glycosylated hemoglobin(HbA_{1c})을 측정하였다.

혈당량의 측정은 glucose oxidase법으로 측정하고, HbA_{1c}은 Sigma Chemical Co.의 cation-exchange chromatography (Procedure No. 441) kit를 이용하여 측정하였다.

통계학적 처리 : HbA_{1c}이 과거 몇주간의 평균 혈당량과 상관관계가 있는가를 조사하기 위해 당뇨병 유발후 인슐린을 주사하지 않고 9주 이상 생존했던 실험동물 1, 3, 6 및 12의 HbA_{1c}과 혈당 측정치를 이용하여 X축이 streptozotocin과 alloxan 처치후 경과일수이고, 제1 Y축이 HbA_{1c}이며, 제2 Y축이 혈당량인 그래프를 작성하였다. 또한 개체별로 HbA_{1c}을 측정할 날을 기준으로 과거 1주간, 2주간, 3주간, 4주간, 5주간, 6주간, 7주간 및 8주간의 누적 평균 혈당량을 계산하고, HbA_{1c}과 평균 혈당량과의 상관계수를 산출하여 HbA_{1c}이 과거 몇주간의 평균 혈당

량과 상관관계가 제일 깊은지 조사하였다.

결 과

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

당뇨병 유발후 인슐린을 주사하지 않고 9주 이상 생존했던 실험동물 1, 3, 6, 12에 대해 개체별로 당뇨병 유발후 격일간격으로 또는 주 3회(월요일, 수요일, 금요일) 측정된 혈당량과 HbA_{1c} 농도로 X축이 경과일수이고, 제1 Y축이 HbA_{1c}이며, 제2 Y축이 혈당량인 그래프를 작성한 결과 각각 Fig 1, 4, 7, 및 10과 같았다.

실험동물 1은 처치후 24시간부터 혈당량이 급속히 증가하여 3일에 309mg/dl까지 상승한 후 213~523mg/dl 범위에서 심한 파동을 나타내었다. HbA_{1c}은 처치 전에 6.3%이었으며, 처치후 47일(약 7주간)까지 비교적 빠른 속도로 증가하여 처치 전에 비해 약 2배까지 상승했으며, 그후 증가 속도가 완만해졌다(Fig 1). HbA_{1c}과 HbA_{1c} 측

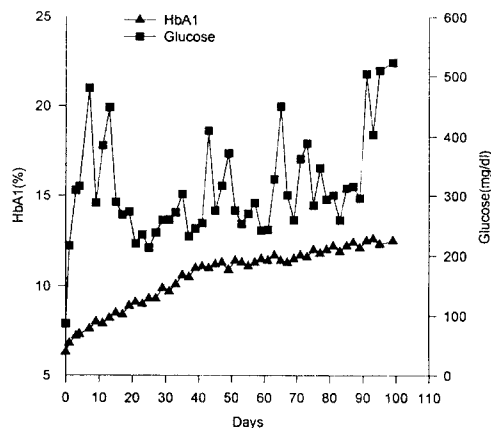


Fig 1. Change over time in hemoglobin A_{1c} and glucose concentration for experimental animal 1 after treatment with streptozotocin and alloxan.

정 당일의 공복시 혈당량과의 상관계수 $r = 0.31$ 로서 상관관계가 미약하였다(Table 1, Fig 2). HbA_{1c}을 측정할 날

Table 1. Correlation coefficient between hemoglobin A_{1c} 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	0.31*	0.10	0.80	0.36
1	0.52	0.52	0.88	0.63
2	0.66	0.71	0.92	0.74
3	0.82	0.87	0.95	0.85
4	0.90	0.93	0.96	0.91
5	0.96	0.97	0.98	0.95
6	0.98	0.99	0.99	0.97
7	0.99	0.99	0.99	0.98
8	0.98	0.99	0.99	0.98

* Correlation coefficient between hemoglobin A_{1c} concentration and serum glucose concentration of the same day.

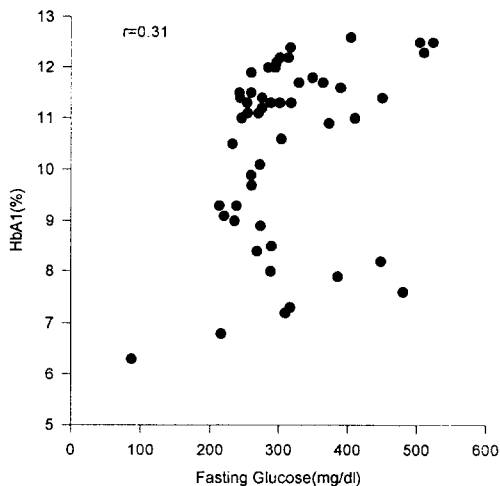


Fig 2. Correlation of hemoglobin A_{1c} concentration to fasting glucose concentration in experimental animal 1 treated with streptozotocin and alloxan.

을 기준으로 과거 1주간, 2주간, 3주간, 4주간, 5주간, 6주간, 7주간 및 8주간의 평균 혈당량을 계산하여 HbA_{1c}과 과거 몇주간의 평균 혈당량과의 상관계수를 계산한 결과 과거 1주간의 평균 혈당량과의 상관계수 $r = 0.52$ 이었고, 기간이 증가할수록 상관계수가 증가하여 과거 7주간의 평균 혈당량과의 상관계수가 0.99로서 제일 높았다(Table 1, Fig 3).

실험동물 3은 처치후 24시간부터 혈당량이 급속히 증가하여 2일에 335mg/dl까지 상승한 후 167~400mg/dl 범

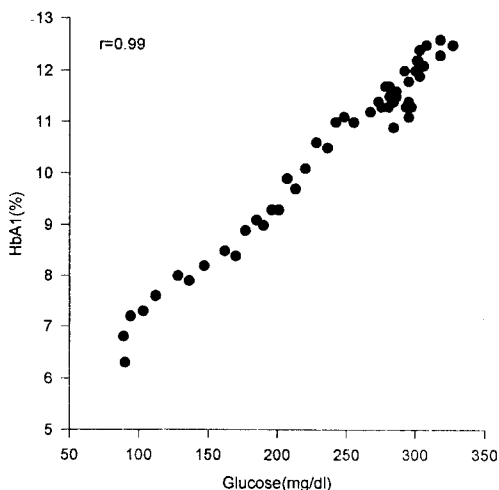


Fig 3. Correlation of hemoglobin A_{1c} concentration to mean fasting glucose concentration of preceding 7 weeks in experimental animal 1 treated with streptozotocin and alloxan.

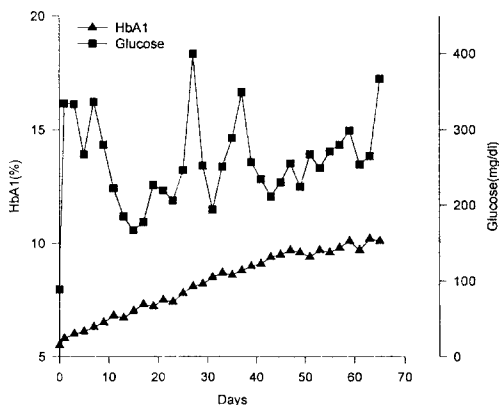


Fig 4. Change over time in hemoglobin A_{1c} and glucose concentration for experimental animal 3 after treatment with streptozotocin and alloxan.

위에서 심한 파동을 나타내었다. HbA_{1c}은 처치 전에 5.5%이었으며, 처치후 47일(약 7주간)까지 비교적 빠른 속도로 증가하여 처치전의 약 2배까지 상승하였으며, 그후 증가속도가 완만해졌다(Fig 4). HbA_{1c}과 HbA₁ 측정당일의 공복시 혈당량과의 상관계수 $r=0.10$ 이어서 상관관계가 미약하였다(Table 1, Fig 5). HbA_{1c}과 과거 1주간의 평균 혈당량과의 상관계수 $r=0.52$ 이었고, 기간이 증가할

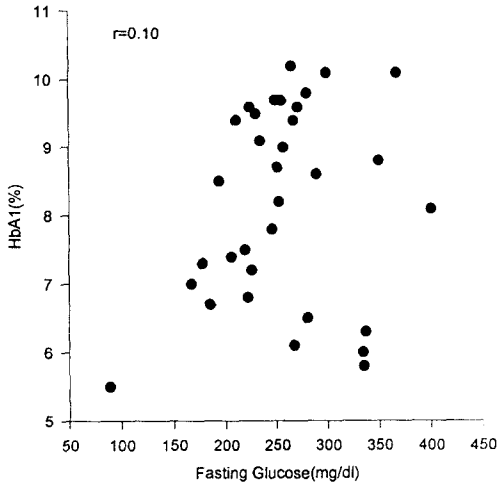


Fig 5. Correlation of hemoglobin A_{1c} concentration to fasting glucose concentration in experimental animal 3 treated with streptozotocin and alloxan.

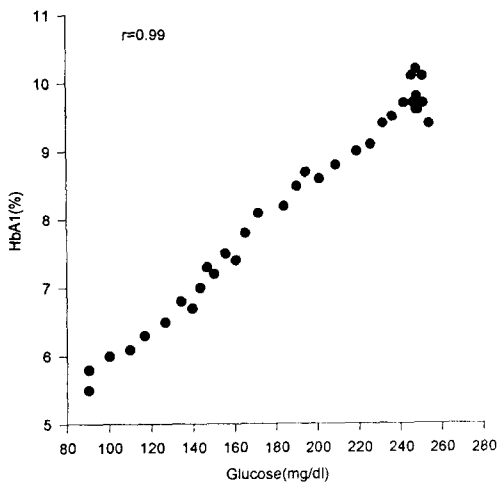


Fig 6. Correlation of hemoglobin A_{1c} concentration to mean fasting glucose concentration of preceding 7 weeks in experimental animal 3 treated with streptozotocin and alloxan.

수록 상관계수가 증가하여 과거 6, 7, 8주간의 평균 혈당량과의 상관계수는 공히 0.99이었다(Table 1, Fig 6).

실험동물 6은 처치후 24시간부터 혈당량이 급속히 증가하여 3일에 276mg/dl까지 상승한 후 198-474mg/dl 범위에서 심한 파동을 나타내었다. HbA_{1c}은 처치 전에 7.4%이었고 처치후 57일(약 8주간)까지 비교적 빠른 속도로 증가하여 처치전 수준의 약 1.5배까지 상승하고, 그후 증가속도가 완만해졌다(Fig 7). HbA_{1c}과 HbA₁ 측정당일

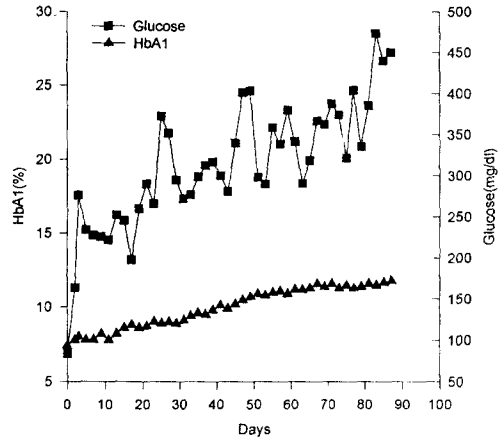


Fig 7. Change over time in hemoglobin A_{1c} and glucose concentration for experimental animal 6 after treatment with streptozotocin and alloxan.

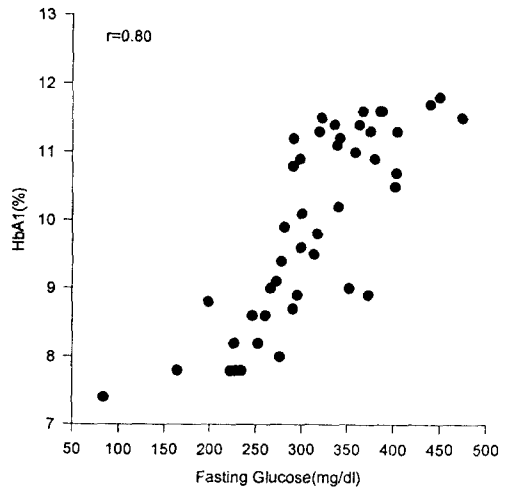


Fig 8. Correlation of hemoglobin A_{1c} concentration to fasting glucose concentration in experimental animal 6 treated with streptozotocin and alloxan.

의 공복시 혈당량과의 상관계수 $r=0.80$ 으로서 상관관계가 비교적 미약하였다(Table 1, Fig 8). HbA₁과 과거 1주간의 평균 혈당량과의 상관계수 $r=0.88$ 이었으며, 기간이 증가할수록 상관계수가 증가하여 과거 6, 7, 8주간의 평균 혈당량과의 상관계수가 공히 0.99이었다(Table 1, Fig 9).

실험동물 12는 처치후 24시간부터 혈당량이 급속히 증가하여 2일에 236mg/dl까지 상승한 후 345-671mg/dl

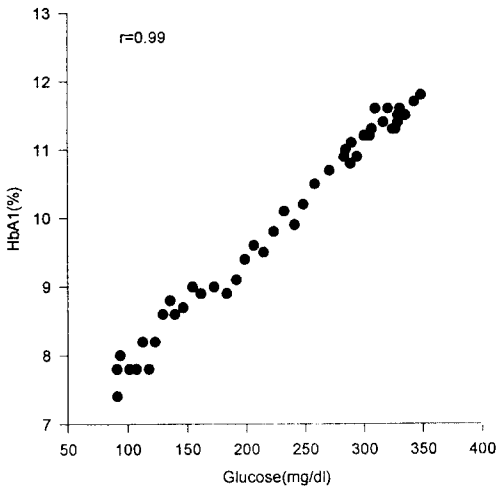


Fig 9. Correlation of hemoglobin A₁ concentration to mean fasting glucose concentration of preceding 7 weeks in experimental animal 6 treated with streptozotocin and alloxan.

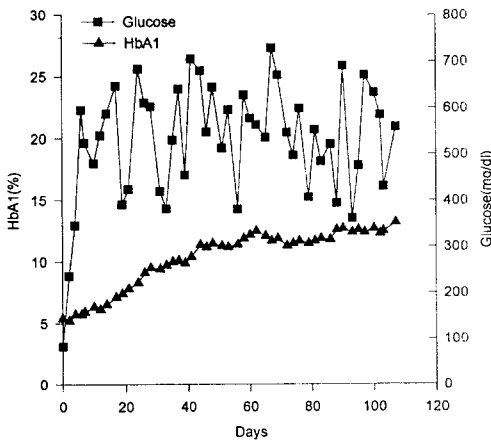


Fig 10. Change over time in hemoglobin A₁ and glucose concentration for experimental animal 12 after treatment with streptozotocin and alloxan.

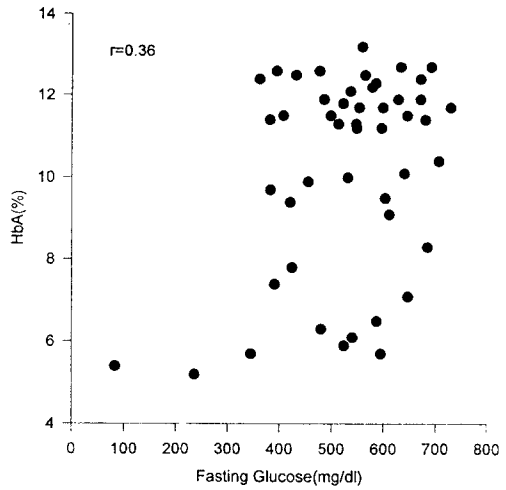


Fig 11. Correlation of hemoglobin A₁ concentration to fasting glucose concentration in experimental animal 12 treated with streptozotocin and alloxan.

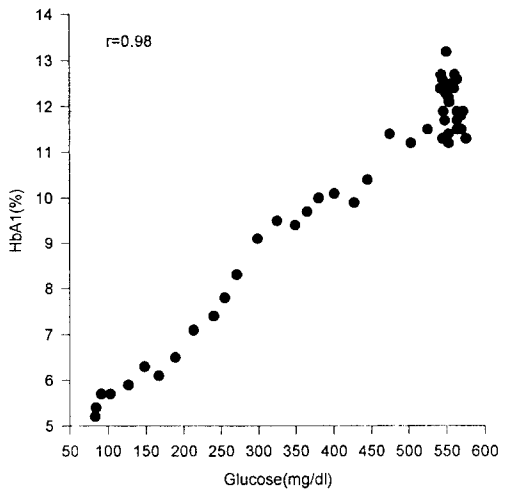


Fig 12. Correlation of hemoglobin A₁ concentration to mean fasting glucose concentration of preceding 7 weeks in experimental animal 12 treated with streptozotocin and alloxan.

범위에서 심한 변화를 나타내었다. HbA₁은 처치전에 5.4%이었고, 처치후 62일(약 9주간)까지 비교적 빠른 속도로 증가하여 처치전 수준의 약 2.3배까지 상승하다가 그 후 증가속도가 완만해졌다(Fig 10). HbA₁과 HbA_{1c} 측정당일의 공복시 혈당량과의 상관계수 $r=0.36$ 으로서 상관관계가 미약하였다(Table 1, Fig 11). HbA₁과 과거 1주간의 평균 혈당량과의 상관계수 $r=0.63$ 이었으며, 기간이 증

가할수록 상관계수가 증가하여 과거 7, 8주간의 평균 혈당량과의 상관계수가 공히 0.98이었다(Table 1, Fig 12).

고 찰

이 연구에서는 시판되는 kit를 이용하여 HbA₁(HbA_{1a}+HbA_{1b}+HbA_{1c})을 측정하였다. 시판되는 kit는 HbA_{1c}만을 독립적으로 측정하지 않고 HbA₁을 측정하도록 개발된 것인데 이렇게 개발한 이유는 HbA_{1c}를 HbA_{1a+b}로부터 분리하는 작업이 복잡하기 때문이다¹. Gabbay *et al*²⁶은 당뇨병 환자에 있어서 HbA_{1a+b}가 HbA_{1c}와 같이 정상인에 비해 현저히 증가한다고 하였으며, Dunn *et al*⁴⁴은 HbA₁과 HbA_{1c}의 상관관계가 0.997로서 지극히 밀접하기 때문에 glycosylated hemoglobin의 primary index로서 HbA₁을 측정할 수 있다고 하였다. Gonen *et al*⁴⁵과 Nelson¹은 HbA_{1c} 대신 HbA₁(HbA_{1a+b+c})을 측정해도 당혈증을 판단하는데 정당성이 인정된다고 하였다.

성공적으로 당뇨병이 유발되었던 4두의 실험동물에서 streptozotocin과 alloxan 처치후 공통적으로 아침의 공복시 혈당량이 급속히 증가한 후 심한 일간 파동을 나타내었다. 이 결과는 Kennedy *et al*²⁹이 당뇨병 환자의 공복시 혈당량은 일간 변동이 상당하다고 한 것과 일치하는 것이었다. 당뇨병이 유발된 4두의 실험동물에 있어서 streptozotocin과 alloxan 처치전 HbA₁은 5.4~7.4%이었는데 처치후 6~9주간이 경과된 후에는 처치전 수준의 1.5~2.3배까지 증가하였다. 이것은 자연발생적인 당뇨병 환자의 glycosylated hemoglobin은 정상인의 2배로 증가한다는 보고^{27,46-48} 및 자연발생적인 당뇨병 개에서 정상개의 1.5~1.7배로 증가한다는 보고^{16,34}와 비슷한 결과라고 생각된다.

HbA₁과 이것의 측정당일의 혈당량과의 상관관계는 비교적 미약하였는데 이것은 Abraham *et al*²⁹과 Dix *et al*³²이 사람에게 있어서 상관관계가 미약하다고 보고한 것과 일치하며, Bunn *et al*³⁰이 HbA₁은 단시간내의 혈당량 파동에 영향을 받지 않는다고 보고한 것과 상통하는 결과라고 사료된다. 또 이와같은 현상은 HbA₁의 생성이 비효소적으로^{23,25} 서서히 이루어지기 때문으로 생각된다.

Streptozotocin과 alloxan 처치후 당뇨병이 유발된 실험동물의 혈당량은 급속히 증가한 후 파동을 나타내고, HbA₁은 처치후 7주 내지 9주까지 꾸준한 증가를 나타내다가 그후 증가속도가 둔화되었다. 이 결과는 처치후

7주 내지 9주까지 이미 혈액내에 존재하던 적혈구와 골수에서 새로 생성되어 혈액으로 유입되는 적혈구내의 hemoglobin이 빠른 속도로 glycosylation 되어 급속히 증가하다가 7주 내지 9주부터 일부의 적혈구들이 수명이 끝나 용혈 또는 탐식되면서 glycosylated hemoglobin이 오줌으로 배설되기 시작하기 때문으로 생각된다. 한편 계속 생성되는 glycosylated hemoglobin의 생성속도가 배설속도 보다 약간 빠르기 때문에 7 내지 9주 이후에도 완만하지만 증가경향을 나타낸 것으로 추정된다. 또한 HbA₁은 과거 1주간의 평균 혈당량과의 상관계수가 0.52-0.88로서 비교적 낮았으나 기간이 길어질수록 상관계수가 증가하여 과거 7주간의 평균 혈당량과의 상관계수가 0.98-0.99로서 제일 컸다. 이상의 두 결과는 실험적으로 당뇨병이 유발된 개에 있어서 HbA₁이 과거 7-9주간의 평균 혈당량을 반영한다는 사실을 제시하는 것이라고 사료된다.

당뇨병 환자에 있어서 glycosylated hemoglobin과 이것의 측정전 5주간의 평균 혈당량은 밀접한 상관관계가 있으며, Svendsen *et al*³⁸ Nathan³⁹은 이들의 상관계수가 각각 0.98과 0.96이라고 하였다. 아직까지 개에 있어서 HbA₁이 과거 몇주간 또는 몇개월간의 평균 혈당량을 반영하는지 밝혀지지 않았으며, Wood와 Smith³⁴는 단지 개와 사람의 적혈구 수명이 비슷하고, HbA₁의 생성이 적혈구의 수명이 계속되는 동안 지속된다는 것에 근거하여 HbA₁이 아마도 3-4주간의 평균 혈당량을 반영할 것이라고 추정하였다. 사람의 적혈구 수명은 약 120일이며⁴⁹, 개의 적혈구 수명은 연구자에 따라 약간의 차이를 나타내어 86-106일 또는 평균 115일이라고 보고된 바 있다⁵⁰.

이 연구에서는 약물에 의한 당뇨병 개에서 HbA₁이 과거 7-9주간의 평균 혈당량을 반영한다는 사실을 밝혔는데 이런 내용이 자연발생적인 당뇨병 개에서도 확인되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

당뇨병을 유발하기 위해 15두의 잡종개에 체중 kg당 streptozotocin 30mg과 alloxan monohydrate 50mg씩을 정맥 주사하였다. 처치전 3개월부터 격일 간격 또는 주 3회(월요일, 수요일, 금요일) 아침 공복시 혈당량을 측정하였으며, 처치 후에는 같은 간격으로 혈당량과 HbA₁을 측정하였다. 15두중 4두는 진성 당뇨병이 발생하였으며,

인슐린을 주사하지 않고 9주 이상 생존하였다. 나머지 4두는 처치후 폐사하거나 3~31일간 고혈당증을 나타내다가 회복하여 실험에서 제외하였다.

진성 당뇨병이 유발된 4두의 개에서 아침 공복시 혈당량은 처치후 24시간부터 급격히 증가한 후 심한 파동을 나타내었다. HbA_{1c} 농도는 처치후 약 7~9주까지 점진적으로 꾸준히 증가하여 처치전 수준의 1.5~2.3배까지 달하였으며, 그후 증가속도가 완만해졌다.

진성 당뇨병이 유발된 4두의 개에서 HbA_{1c}은 측정 당일의 혈당량과의 상관계수가 0.10~0.80으로서 상관관계가 비교적 미약했으며, 과거 7주간의 평균 혈당량과의 상관계수는 0.98~0.99로서 매우 밀접한 상관관계를 나타내었다.

약물에 의해 유발된 당뇨병 개에서 HbA_{1c}은 과거 7~9주간의 평균 혈당량을 반영하는 것으로 제시되었다.

참 고 문 헌

- Nelson RW. Diabetes mellitus. In Ettinger SJ, ed *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 4th ed, WB Saunders, Philadelphia:1510-1537, 1995.
- Krook L, Larsson S, Rooney JR. The interrelationship of diabetes mellitus, obesity, and pyometra in the dog. *Am J Vet Res*, 21:120-124, 1960.
- 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*, 120:169-189, 1984.
- Entmacher PS, Root HF, Marks HH. Longevity of diabetic patients in recent years. *Diabetes*, 13:373-377, 1964.
- Garcia MJ, McNamara PM, Gordon T, et al. Morbidity and mortality in diabetics in the Framingham population, sixteen year followup study. *Diabetes*, 23:105-111, 1974.
- Kannel WB, Hjortland M, Castelli WP, et al. Role of diabetes in congestive heart failure: the Framingham study. *Am J Cardiol*, 34:29-34, 1974.
- Ostrander LD, Francis T, Hayner NS, et al. The relationship of cardiovascular disease to hyperglycemia. *Ann Intern Med*, 62:1188-1198, 1965.
- O'Sullivan JQ. Quarter century study of glucose intolerance: incidence of diabetes mellitus by USPHS, HHH, and WHO criteria. In Eschwege E, ed *Advances in diabetes epidemiology*, Elsevier Biomedical Press, New York:123-131, 1982.
- Valleron AJ, Massari V. Assessment of the OGTT in asymptomatic subjects. in Eschwege E, ed *Advances in diabetes epidemiology*, Elsevier Biomedical Press, New York:7-16, 1982.
- Tsuji I, Nakamoto K, Hasegawa T, et al. Receiver operating characteristic analysis of fasting plasma glucose, HbA_{1c}, and fructosamine on diabetes screening. *Diabetes Care*, 14:1075-1077, 1991.
- Kennedy L, Mehl TD, Elder E. Non-enzymatic glycosylation of serum and plasma proteins. *Diabetes*, 31:52-56: 1982.
- Olefsky JM, Reaven GM. Insulin and glucose responses to identical oral glucose tolerance tests performed forty-eight hours apart. *Diabetes*, 23:449-453, 1974.
- Schmid 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*, 4:579-585, 1982.
- Jenkins DJA. Lente carbohydrate: a newer approach to the dietary management of diabetes. *Diabetes Care*, 5:634-641, 1982.
- 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*, 2:409-413, 1979.
- Mahaffey EA, Cornelius LM. Glycosylated hemoglobin in diabetic and nondiabetic dogs. *JAVMA*, 180:635-637, 1982.
- Kunkel HG, Wallenius G. New hemoglobins in normal adult blood. *Science*, 122:288, 1955.
- Allen DW, Schroeder WA, Balog J. Observation on the chromatographic heterogeneity of normal adult and fetal human hemoglobin: A study of the effects of crystallization and chromatography on the hetero-

- geneity and isoleucine content. *J Am Chem Soc* , 80: 1628-1632, 1958.
19. Huisman THJ, Meyering CA. Studies on the heterogeneity of hemoglobin. I. The heterogeneity of different human hemoglobin types in carboxymethylcellulose and in Amberlite IRC-50 chromatography : Qualitative aspects. *Clin Chim Acta* , 5:103-123, 1960.
 20. Holmquist WR, Schroeder WA. A new N-terminal blocking group involving a Schiff base in hemoglobin A_{1c}. *Biochemistry* , 5:2489-2503, 1966.
 21. Bookchin RM, Gallop PM. Structure of hemoglobin A_{1c}: nature of the N-terminal β chain blocking group. *Biochem Biophys Res Commun* , 32:86-93, 1968.
 22. Bunn HF, Haney DN, Gabbay KH, *et al* . Further identification of the nature and linkage of the carbohydrate in hemoglobin A_{1c}. *Biochem Biophys Res Commun* , 67:103-109, 1975.
 23. Bunn HF, Haney DN, Kamin S, *et al* . The biosynthesis of human hemoglobin A_{1c}: Slow glycosylation of hemoglobin *in vivo* . *J Clin Invest* , 57:1652-1659, 1976.
 24. Bunn HF. Nonenzymatic glycosylation of protein: relevance to diabetes. *Am J Med* , 70:325-330, 1981.
 25. Fluckiger R, Winterhalter KH. *In vitro* synthesis of hemoglobin A_{1c}. *FEBS Letters* , 71:356-360, 1976.
 26. Gabbay KH, Hasty K, Breslow JL, *et al* . Glycosylated hemoglobins and long-term blood glucose control in diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* , 44:859-864, 1977.
 27. Rahbar S. An abnormal hemoglobin in red cells of diabetics. *Clin Chim Acta* , 22:296-298, 1968.
 28. Rahbar S, Blumenfeld O, Ranney HM. Studies of an unusual hemoglobin in patients with diabetes mellitus. *Biochem Biophys Res Commun* , 36:838-843, 1969.
 29. Abraham EC, Huff TA, Cope ND, *et al* . Determination of the glycosylated hemoglobin(HbA_{1c}) with a new microcolumn procedure. *Diabetes* , 27:931-937, 1978.
 30. Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science* , 200:21-27, 1978.
 31. Dods RF, Bolmey C. Glycosylated hemoglobin assay and oral glucose tolerance test compared for detection of diabetes mellitus. *Clin Chem* , 25:764-768, 1979.
 32. Dix D, Cohen P, Kingsley S, *et al* . Glycohemoglobin and glucose tolerance tests compared as indicators of borderline diabetes. *Clin Chem* , 25:877-879, 1979.
 33. Kaneko JJ. Carbohydrate metabolism and its disorders. in *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* . Academic Press Inc, New York:1-51, 1980.
 34. Wood PA, Smith JE. Glycosylated hemoglobin and canine diabetes mellitus. *JAVMA* , 176:1267-1268, 1980.
 35. Smith JE, Wood PA, Moore K. Evaluation of a colorimetric method for canine glycosylated hemoglobin. *Am J Vet Res* , 43:700-701, 1982.
 36. Higgins PJ, Garlick RL, Bunn HF. Glycosylated hemoglobin in human and animal red cells: Role of glucose permeability. *Diabetes* , 31:743-748, 1982.
 37. Hooghuis H, Godriguez M, Castano M. Ion-exchange microchromatography and thiobarbituric acid colorimetry for the measurement of canine glycated hemoglobins. *Vet Clin Pathol* , 23:110-116, 1994.
 38. Svendsen PA, Lauritzen T, Soegaard U, *et al* . Glycosylated hemoglobin and steady-state mean blood glucose concentration in type I(insulin dependent) diabetes. *Diabetologia* , 23:403-405, 1982.
 39. Nathan DM. Glycosylated hemoglobin: what it is and how to use it. *Clin Dia* , 1:1-7, 1983.
 40. Hindle EJ, Rostron GM, Clark SA, *et al* . Serum fructosamine and glycated haemoglobin measurements in diabetic control. *Arch Dis Child* , 61:113-117, 1986.
 41. Black HE, Roseblum IY, Capen CC. Chemically induced (streptozotocin-alloxan) diabetes mellitus in the dog. *Am J Pathol* , 98:295-305, 1980.
 42. Forrat R, Sebbag L, Wiernsperger N, *et al* . Acute myocardial infarction in dogs with experimental diabetes. *Cardio Res* , 27:1908-1912, 1993.
 43. Sebbag L, Forrat R, Canet E, *et al* . Effect of experimental non-insulin requiring diabetes on myocardial microcirculation during ischaemia in dogs. *Eur J Clin Invest* , 24:686-690, 1994.
 44. Dunn PJ, Cole RA, Soeldner JS, *et al* . Temporal relationship of glycosylated haemoglobin concentrations

- to glucose control in diabetics. *Diabetologia*, 17:213-220, 1979.
45. Gonen B, Rubenstein AH, Rochman H, *et al*. Hemoglobin A₁: An indicator of the metabolic control of diabetic patients. *Lancet*, 2:734-737, 1977.
46. Koenig RG, Peterson CM, Jones RL, *et al*. Correlation of glucose regulation and hemoglobin A_{1c} in diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 295:417-420, 1976.
47. Paulsen EP. Hemoglobin A_{1c} in childhood diabetes. *Metabolism*, 22:269-271, 1973.
48. Trivelli LA, Ranney HM, Lai HT. Hemoglobin components in patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 284:353-357, 1971.
49. Berlin NI. Erythrokinetics. In Williams WJ, ed *Hematology*, 3rd ed, McGraw-Hill Book Co, New York: 395-429, 1983.
50. 鄭淳東. 가축과 실험동물의 생리자료. 광일문화사, 서울:468-528, 1996.