

스트렙토조토신 - 당뇨의 유병기간에 따른 혈중지질패턴의 경시적 변화

이 수자 · 이혜성

경북대학교 식품영양학과

Changes in Plasma Lipid Pattern in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats: A Time Course Study

Lee, Su-Za · Lee, Hye-Sung

Department of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

ABSTRACT

This study was carried out to examine a part of the mechanism for the etiology of diabetic complications. Thirty normal and forty streptozotocin(STZ)-induced diabetic rats were used as the animal models. Animals were sacrificed at the time points of 3 days, 1, 2, 4 and 6 weeks after STZ-injection and a time course changes in body weight and organ weight, the levels of blood glucose, plasma lipid patterns, and atherogenic index were measured during 6 weeks. The STZ-diabetic animals showed 63% survival rate and fasting blood glucose levels of the diabetic animals maintained in the range of 230~410mg/dL during the experimental period. The body weight of diabetic animals decreased significantly throughout the experimental period and the relative weights of organs to body weight were significantly higher than the normal control ones. The enlargement of the kidney in the diabetic animals was especially remarkable. Plasma triglyceride concentration in diabetic rats substantially increased from the first week of onset of diabetes mellitus and maintained higher levels than the control ones throughout the whole experimental period. The plasma total-cholesterol level and atherogenic index in the diabetic rats were significantly higher than the normal ones from the third day after STZ injection and showed a gradual increase with the duration of the disease. Throughout the experiment, the diabetic rats consistently showed a slightly lower HDL-cholesterol level compared to the normal animals. From the results of this study, it appears that the significant changes in blood lipid pattern in STZ-diabetic animals start from the first week after STZ injection. (Korean J Nutrition 32(7) : 767~774, 1999)

KEY WORDS: diabetes mellitus, streptozotocin, plasma lipid pattern.

서 론

당뇨병은 고혈당(hyperglycemia)과 이상지혈증(dyslipidemia)을 특징으로 하는 만성대사질환으로서¹⁾ 혈당조절이 잘되지 않는 당뇨병의 경우 평균 20여년의 유병기간 후 동맥경화, 고혈압등의 관상 및 말초동맥의 대혈관병변(macroangiopathy)과 당뇨성 망막증, 신증 등의 미세혈관병변(microangiopathy)의 만성합병증을 초래하며 특히 대혈관 합병증은 당뇨병환자의 주요 사인이 된다.²⁾

당뇨병에서 가장 흔한 지질대사의 비정상성은 혈중 중성지방의 증가와 고밀도지단백 콜레스테롤의 감소이며^{3,4)} 이들은 당뇨병의 주요 합병증인 관상동맥질환의 위험인자로

체택일 : 1999년 9월 27일

알려져 있다.⁵⁾ 당뇨병으로 인한 지질대사 이상의 발생빈도나 정도는 당뇨병의 형태, 혈당조절 정도, 영양상태, 연령등에 따라 다양하나 일반적으로 당뇨병 환자들의 약 20~70%에서 고지혈증이 관찰되고 있다.⁶⁾

당뇨병 합병증의 발병기전으로는 고지혈증과 관련된 저밀도지단백(LDL)의 증가와 이들의 당화와 산화로 인한 지단백의 변화(modified lipoprotein)⁷⁾ 그리고 변화된 지단백의 기능적 비정상화⁸⁾와 관련된 거품세포의 형성⁹⁾과 혈소판 응집의 증가¹⁰⁾ 또는 당화-LDL의 유리기생성과 산화적 손상에 대한 감수성 증가¹¹⁾등으로 인한 혈관병변의 가속화등이 제안되고 있다. 이처럼 당뇨병 합병증의 발병은 인슐린 부족 및 저항성이 원인이 되어 나타나는 지질대사 이상과 지질과산화의 급격한 진전, 항산화 방어계의 변화등으로 인해 야기되는 것으로 추정되고 있으나 이러한 당뇨병의

진행과 합병증의 발병이 시간경과에 따라 어떠한 경향과 기전을 통해 경시적으로 변화해 가는가에 대한 체계적인 연구 보고는 드문 상태이다.

따라서 당뇨병 합병증 발생과정과 그 기전의 일부를 규명하고 그 예방방안을 모색하고자 하는 연구로서 스트렙토조토신(streptozotocin: STZ)으로 유발시킨 당뇨쥐를 모델로 하여 당뇨병의 유병기간에 따른 혈중지질 패턴과 조직과 혈중 지질과산화물의 생성, 효소적 비효소적 항산화 방어계의 경시적 변화등을 측정, 관찰하고자 하였다. 본 논문에서는 이와 같은 일련의 연구내용의 첫번째 부분으로서 당뇨병의 유병기간에 따른 혈중지질성상의 변화를 측정하여 그 결과를 보고하고자 한다. 또한 본 연구를 통해 동물모델을 사용한 당뇨병의 실험적 연구계획의 수립에 도움이 될 수 있는 기초자료를 얻고자 하였다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 동물 및 식이

3주령된 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐 70마리를 화학연구소(대전시 유성구 장동 100번지)로부터 입수하여 3주일간 pellet형 고형 사료로 체중 300g 정도의 성숙쥐로 성장할 때까지 사육한 다음 실험식으로 1주일간 적응시켰다. 평균 체중이 유사하도록 2개의 군으로 임의로 나눈 후 그중 한 군은 실험적으로 당뇨를 유발시켜 당뇨군(40마리)으로 하고 다른 한 군은 정상 대조군(30마리)으로 하였다. 당뇨군은 평균 체중과 혈당이 유사하도록 각 군당 8마리씩 다시 5군으로 나누고 정상 대조군은 평균 체중이 유사하도록 각 군당 6마리씩 5군으로 나누었다. 실험 기간은 당뇨 유발 후 6주간이었고 당뇨군과 대조군은 당뇨 유발 후 3일째, 1, 2, 4, 6주째에 각 1군씩 회생하였으며 실험 전기간 동안 식이와 물은 제한없이 섭취하도록 하였다. 본 실험에 사용한 기본식이의 구성은 AIN-76 정제사료 조성에 의거하였으며 (Table 1) 식이는 매주마다 신선하게 제조하여 냉장보관함으로서 식이성분의 지질과산화로 인한 영향을 배제하였다.

2. 실험방법

1) 당뇨병의 유도 및 혈당측정

당뇨군의 동물들에 streptozotocin(STZ: Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)을 체중kg당 50mg량으로 대퇴부 근육에 1회 주사함으로써 실험적으로 중등도 당뇨병을 유발시켰다. STZ은 citric acid buffer(0.1M, pH 4.5)용액에 용해시켜 사용하고 정상군은 동량의 citric acid buffer 용액을 동일부위에 주사하였다. 당뇨병의 확인은 STZ 주사

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	Composition(%)
Sugar	50.0
Corn starch	12.0
Casein	20.0
Corn oil	8.00
Cellulose	5.00
AIN-76 Mineral mix ¹⁾	3.50
AIN-76 Vitamin mix ²⁾	1.00
DL-methionine	0.30
Choline chloride	0.20
Total	100.0

1) AIN-76 Mineral mix(g/kg mix): CaHPO₄ 500, NaCl 74, K citrate monohydrate 220, K₂SO₄ 52, MgO 24, Mn carbohydrate 3.5, Fe citrate 6.0, Zn carbonate 1.6, Cu carbonate 0.3, KIO₃ 0.01, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.01, CrK(SO₄)₂ · 12H₂O 0.55, sucrose 118

2) AIN-76 Vitamin mix(g/kg mix): thiamin · HCl 0.6, riboflavin 0.6, pyridoxine · HCl 0.7, nicotinic acid 3, D-calcium pantothenate 1.6, folic acid 0.2, D-biotin 0.02, cyanocobalamin 0.001, retinyl palmitate 0.8(500,000IU/g), DL- α -tocopheryl acetate 20(250IU/g), cholecalciferol 0.00025, menaquinone 0.005

24시간 후 공복상태에서 꼬리 정맥으로부터 채혈하여 혈당이 180mg/dL 이상일 때 당뇨병이 유발된 것으로 간주하였다. 혈당은 당뇨유발 3일째, 1, 2, 4, 6주째에 공복 상태에서 꼬리정맥으로부터 채혈하여 혈당계(Accutrend GC, Boehringer Mannheim, Germany)를 이용하여 측정함으로서 당뇨 상태의 유지여부를 관찰하였다.

2) 체중 변화 측정

당뇨병 유발일을 0 day로 하여 3일과 1주일째, 이후 1주일째마다 동물 저울로 체중을 날아 실험 종료일까지 동물의 체중 변화 상태를 측정하였다.

3) 채혈 및 조직의 채취

희생전날 밤 실험 동물을 12시간 절식시킨 후 다음날 아침 1% ketamin hydrochloride 용액을 체중 100g당 0.2 mL량으로 복강내 주사하여 마취시킨 후 개복하였다. Heparin(100 units/mL) 처리가 된 주사기로 복부 하대정맥(inferior vena cava)에서 혈액을 채취하고 3000rpm에서 20분간 원심분리해서 혈장을 분리하여 분석시까지 -70°C에 보관하였다. 혈액 채취 후 즉시 간, 신장, 심장 및 폐조직을 적출하여 냉장 생리 식염수로 2회 세척 후 가아제로 수분을 제거하고 무게를 측정한 후 액체질소에 급속냉동하여 -70°C에 분석시까지 보관하였다.

4) 혈장 중 지질 농도의 측정

혈중 중성지방(triglyceride, TG)은 Bucolo방법¹²⁾에 준한 효소kit(신양화학약품)를 사용하여 생성된 쿠논형 색소

의 흡광도를 505nm에서 측정하였으며 혈청 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC)은 효소법¹³⁾에 의한 kit(신양화학약품)를 사용하여 500nm에서 흡광도를 측정함으로서 정량하였다. HDL-콜레스테롤(HDL-cholesterol, HDL-C)은 효소법¹⁴⁾에 의한 kit(신양화학약품)를 사용하여 혈장내 HDL-콜레스테롤분획을 제외한 콜레스테롤을 침전시킨 후 상층액을 검체로 하여 혈청 총콜레스테롤과 같은 방법으로 측정하였다.

Table 2. Body weight changes in normal and STZ¹⁾-induced diabetic rats (g)

Time points after STZ injection	Group	Normal	Diabetic
0 day		313.8 ²⁾ ± 4.6 ^{a3)}	316.7 ± 2.9 ^a
3rd day		329.5 ± 4.4 ^a	291.0 ± 3.6 ^{b*}
1st wk		351.0 ± 5.1 ^b	283.3 ± 4.3 ^{bc*}
2nd wk		368.4 ± 5.5 ^b	275.1 ± 8.4 ^{bc*}
3rd wk		401.4 ± 6.9 ^c	268.3 ± 9.4 ^{cd*}
4th wk		441.0 ± 8.5 ^d	251.5 ± 7.2 ^{dc*}
5th wk		463.6 ± 10.3 ^c	246.4 ± 9.4 ^{cd*}
6th wk		486.6 ± 12.3 ^f	222.4 ± 12.1 ^{f*}

1) STZ: streptozotocin

2) Each value represents the Mean ± S.E of each group(normal = 6, diabetic = 5~8)

3) Different superscripts in the same column indicate significant difference($p < 0.05$) between time points after STZ injection by Duncan's multiple comparison test

4) *Significantly different from normal group at $p < 0.05$ by Student's t-test

Table 3. Relative weight of organs in normal and STZ¹⁾-induced diabetic rats

Time points after STZ injection	Liver		Kidney		(g/100 g BW)
Group ¹⁾	N	D	N	D	
3rd day	3.51 ± 0.60 ^{2a3)}	3.12 ± 0.14 ^{a4)}	0.71 ± 0.29 ^a	0.78 ± 0.02 ^a	
1st wk	3.45 ± 0.14 ^a	3.37 ± 0.09 ^{ab}	0.61 ± 0.02 ^b	0.79 ± 0.02 ^{a*}	
2nd wk	3.40 ± 0.06 ^a	3.75 ± 0.12 ^{bc*}	0.59 ± 0.01 ^{bc}	0.89 ± 0.02 ^{b*}	
4th wk	3.08 ± 0.13 ^b	3.86 ± 0.27 ^{c*}	0.57 ± 0.03 ^{bc}	1.00 ± 0.03 ^{c*}	
6th wk	2.84 ± 0.07 ^b	3.97 ± 0.07 ^{c*}	0.53 ± 0.01 ^c	1.10 ± 0.05 ^{d*}	
Time points after STZ injection	Heart		Lung		
Group	N	D	N	D	
3rd day	0.31 ± 0.09 ^b	0.33 ± 0.10 ^b	0.46 ± 0.01 ^a	0.44 ± 0.10 ^a	
1st wk	0.30 ± 0.01 ^b	0.33 ± 0.02 ^b	0.41 ± 0.01 ^b	0.46 ± 0.01 ^{a*}	
2nd wk	0.31 ± 0.01 ^b	0.31 ± 0.01 ^{ab}	0.42 ± 0.02 ^{ab}	0.51 ± 0.03 ^{ab*}	
4th wk	0.25 ± 0.01 ^a	0.30 ± 0.01 ^{ab*}	0.31 ± 0.01 ^c	0.51 ± 0.01 ^{ab*}	
6th wk	0.24 ± 0.01 ^a	0.29 ± 0.01 ^{ab*}	0.30 ± 0.01 ^c	0.47 ± 0.04 ^{ab*}	

1) N: normal, D: diabetic, STZ: streptozotocin

2) Each value represents the Mean ± S.E of each group(normal = 6, diabetic = 5~8)

3) Different superscripts in the same column indicate significant difference($p < 0.05$) between time points after STZ injection by Duncan's multiple comparison test

4) *Significantly different from normal group at $p < 0.05$ by Student's t-test

5) 동맥경화지수(Atherogenic index, AI)의 산출

효소법에 의하여 측정된 혈청 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤치로부터 다음식에 의해 산출하였다.

$$\text{Atherogenic index} = (\text{total cholesterol} - \text{HDL-cholesterol})/\text{HDL-cholesterol}$$

3. 자료의 통계 처리

실험 결과는 SPSS 통계 프로그램을 이용하여 평균치와 표준 오차를 구하고, 정상군과 당뇨군간의 차이는 Student's t-test에 의해, 당뇨유발 후 유병기간에 따른 차이는 one-way ANOVA와 Duncan's multiple comparison test¹⁵⁾에 의해 $p < 0.05$ 수준에서 그 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 당뇨쥐의 생존율과 체중 및 조직 중량의 변화

1) 생존율

전 실험기간 동안, 정상동물의 생존율은 100%였으나 당뇨동물의 경우 STZ에 의한 당뇨병 유발후 1주 이내에 63%의 생존율을 보였고 1주까지 생존한 당뇨동물들은 나머지 실험기간동안 생존이 유지되었다.

2) 체중 변화

실험동물의 체중 변화(Table 2)를 관찰한 결과, 당뇨군이 실험 전기간에 걸쳐 정상군에 비해 유의적으로 낮은 체중을

보였다. 정상군의 경우 실험기간 동안 지속적인 체중의 증가 경향을 보여 6주 동안 평균 172g의 증가를 나타낸 반면, 당뇨군은 당뇨 유발 후 체중이 현저하게 감소되는 경향을 보였으며 6주 동안 평균 94g의 감소를 나타내어 당뇨 유발 6주 후 당뇨군의 체중은 정상군의 45% 수준에 불과하였다.

3) 조직 중량의 변화

간과 신장, 심장 및 폐조직의 체중 100g당의 상대적 중량은 Table 3과 같다. 실험 전기간에 걸쳐 모든 조직의 체중에 대한 상대적 중량이 당뇨군에서 정상군에 비해 높은 경향을 나타내었다. 특히 신장의 경우, 다른 조직에 비해 당뇨군에서 현저한 비대경향을 보였으며 유병기간에 따라 유의적으로 증가하였다. 당뇨 유발 6주 후 당뇨군의 체중 100g당 간, 심장, 폐의 상대적 중량은 정상군에 비해 각각 40%, 21%, 57%씩 더 높았으며 신장의 무게는 108%나 더 높았다.

2. 혈당 수준의 변화

실험 기간 6주 동안의 혈당수준 변화는 Fig. 1과 같다. 공복시 혈당수준은 정상군의 경우 115~137mg/dL의 범위를 유지하였으나 당뇨군에서는 당뇨유발 3일째에 평균 324mg/dL, 2주째에 302mg/dL, 4주째에 293mg/dL, 그리고 6주째에 416mg/dL로 높게 유지되었으며 실험 전기간동안 실험동물의 당뇨병의 판정기준인 180mg/dL 이상을 나타내었다.

3. 혈장 지질 수준과 동맥경화지수의 변화

혈장 중 지질농도 변화의 측정 결과는 Fig. 2와 같다. 혈중 중성지방 함량은 실험 전기간동안 정상군(1.53~1.84mmol/L)에 비해 당뇨군(1.68~2.50mmol/L)에서 높은 수준을 나타내었으며 당뇨 유발 4주째부터는 2군간에 유의

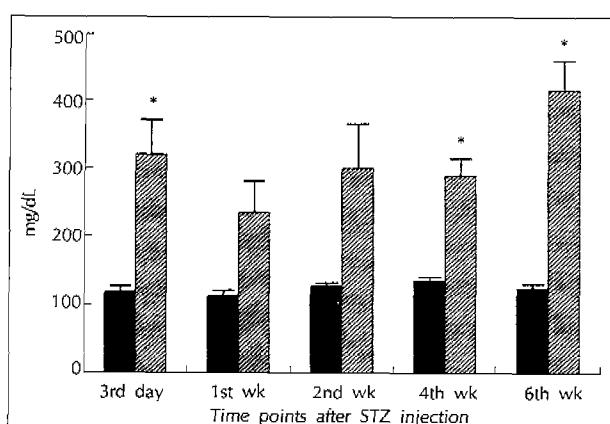


Fig. 1. Blood glucose levels in nomal and STZ-induced diabetic rats. Each bar represents the mean \pm S.E of each group(■: normal n = 6, ▨: diabetic n = 5~8). *Significantly different from normal group at p < 0.05 by Student's t-test.

적인 차이를 나타내었다. 당뇨군에서는 당뇨 유발 1주째에 혈중 중성지방의 수준이 크게 상승하였으며 이후 6주까지 높은 수준이 그대로 유지되었다. 당뇨 유발 6주 후의 혈중 중성지방 함량은 정상군에 비해 당뇨쥐에서 48% 정도 더 높았다. 혈중 총 콜레스테롤 함량은 당뇨군(2.11~2.57 mmol/L)에서 실험 전기간에 걸쳐 정상군(1.63~1.83

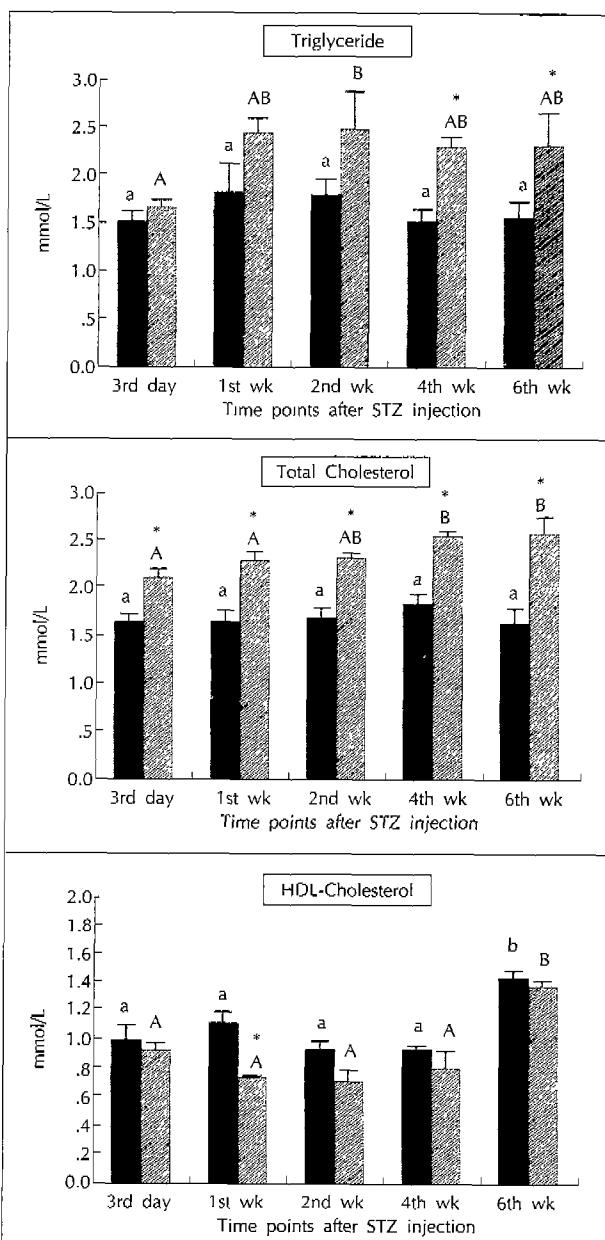


Fig. 2. Plasma levels of triglyceride, total cholesterol and HDL-cholesterol in normal and STZ-induced diabetic rats. Each bar represents the mean \pm S.E of each group(■: normal n = 6, ▨: diabetic n = 5~8). Different letters in the same group indicate significant difference(p < 0.05) between time points after STZ injection by multiple comparison test. *Significantly different from normal group at p < 0.05 by Student's t-test.

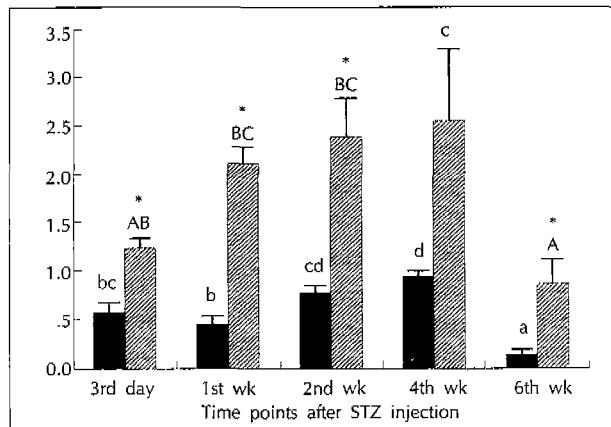


Fig. 3. Atherogenic index in normal and STZ-induced diabetic rats
Each bar represents the mean \pm S.E. of each group (■: normal n = 6, ▨: diabetic n = 5-8). Different letters in the same group indicate significant difference ($p < 0.05$) between time points after STZ injection by multiple comparison test. *Significantly different from normal group at $p < 0.05$ by Student's t-test.

mmol/L)에 비해 유의적으로 높은 수준을 나타내었으며 당뇨 유발 6주 후에는 정상군에 비해 58%의 증가를 보였다. 정상군에서는 성장기간에 따른 혈중 총 콜레스테롤 수준의 변화가 관찰되지 않은 반면에, 당뇨군의 경우 유병기간에 따라 점진적으로 높아지는 경향을 보였다. HDL-콜레스테롤의 함량은 실험 전기간에 걸쳐 당뇨군이 정상군에 비해 다소 낮은 수준을 나타내었으나 당뇨 유발 1주째를 제외하고는 그 차이가 유의적이지는 않았다. 동맥경화지수(Fig. 3)는 전 실험기간에 걸쳐 당뇨군(0.87~2.56)이 정상군(0.14~0.95)에 비해 2~6배 정도의 유의적으로 높은 수준을 보였다. 유병기간에 따른 변화는 정상군에서는 2~4주에 높아졌다가 6주째에 큰 감소를 보였다. 당뇨군에서는 당뇨유발 3일째부터 4주까지 지수가 크게 상승하다가 6주째에 현저하게 낮아졌다.

고 칠

1. 당뇨병의 유병기간에 따른 생존율과 체중, 조직 중량 및 혈당의 변화

STZ에 의해 실험적으로 당뇨병을 유발한 흰쥐를 사용한 당뇨병 관련 연구들의 실험기간은 13일에서 10주까지 다양하나^[6-23] 가장 많이 선택되는 기간은 6주 정도이므로 본 실험의 기간을 6주로 하였다. 당뇨쥐를 사용하는 실험에서 자주 경험하는 어려움중의 하나가 실험동물의 높은 치사율이다. 따라서 실험종료시에 통계처리에 유의한 동물의 수가 잔존되도록 실험계획시에 당뇨군에 할당할 동물의 수를 예측할 필요가 있다. 당뇨의 유발에 사용되는 STZ의 양은 동

물의 대퇴부 근육주사를 통해 체중 kg당 40~75mg^[20] 정도가 흔히 사용되는데 낮은 치사율과 당뇨상태의 지속적인 유지를 위해 STZ의 주사량을 정확하게 설정할 필요가 있다. 본 실험에서 사용한 STZ 양은 체중 kg당 50mg으로서 시행 연구들^[24,25]에서 중등도 당뇨상태를 유발시키는데 적절한 양으로 판단되었다. 당뇨동물의 치사는 주사후 4일에서 6일 사이에 거의 전적으로 일어났고 이 기간중 생존율은 63%였다. 1주일까지 생존한 동물은 6주까지 생존이 유지되었다. 생존한 동물에 대해서는 당뇨상태의 지속여부를 확인하기 위해 일정기간마다 공복시 혈당을 측정할 필요가 있으므로 본실험에서는 당뇨유발 24시간, 3일, 1, 2, 4, 6주째에 혈당을 검사하였으며 그 결과 당뇨병 상태가 전 실험기간동안 지속되고 있음을 확인할 수 있었다.

당뇨동물들은 당뇨 유발 직후부터 체중이 현저하게 감소되기 시작하여 정상군에 비해 유의적으로 낮은 체중을 보였고 유병기간 6주째에는 평균체중이 정상군의 50% 이하로 떨어졌다(Table 2). 이는 Preston 등,^[26] Odaka와 Matsuo,^[27] Furuse 등^[28]의 실험에서 STZ으로 유발시킨 당뇨쥐는 성장율이 급속히 떨어지고 체중 감소가 일어난다는 보고 결과들과 일치한다. 당뇨군의 이와 같은 체중 감소 현상은 당뇨병 상태에서 인슐린의 결핍으로 인한 대사이상이 동물의 전반적인 성장에 크게 영향을 미친다는 것을 나타낸다.

간과 신장, 심장 및 폐조직들의 체중에 대한 상대적 중량(Table 3)은 실험 전기간에 걸쳐 정상동물에서는 체중의 증가에 따라 작아지는 경향을 보였으나 당뇨군의 경우는 유병기간에 따라 커지는 경향을 보여 정상군에 비해 모든 기관의 상대적 중량이 유의적으로 높게 나타났다. 당뇨동물의 장기조직증 특히 신장의 경우 유병기간에 따라 체중비 상대적 중량이 유의적으로 증가하였으며 다른 장기에 비해 현저한 비대화 경향을 보였다. 당뇨 유발 6주 후 당뇨군의 체중 100g당 신장의 중량은 1.1g으로서 정상군의 0.53g에 비해 2배이상 높은 크기를 보였다. 이것은 Gallaher 등^[29]의 연구에서 실험기간 12주 후 당뇨쥐의 체중 100g당 신장의 무게가 1.33g으로 정상쥐의 0.67g에 비해 유의적으로 높았다는 결과와 일치하였다. Hong 등^[30]도 STZ에 의해 당뇨병이 유발된 흰쥐에서 급속한 신장 무게의 증가가 있었음을 보고한 바 있다. Morgensen^[31]은 제 1형 당뇨병에서 초기에 관찰되는 신사구체 여과율의 증가는 신장크기의 증가를 유도할 것이라고 주장하여 당뇨병 초기단계에서 이미 신장의 형태학적 변화가 일어남을 제시한 바 있다. Seyer-Hansen^[32]도 당뇨쥐에서 신장의 비대는 당뇨 유발 후 수일 내에 시작되는 것으로 보고하였으며 비대 정도는 혈당 조절 정도와 상관관계가 있는 것으로 밝혔다. 따라서 당뇨병의 발병 초기

에 신사구체 여과율의 증가로 나타나는 신장의 기능항진과 신장크기의 증가는 당뇨병의 일반적인 병태적 특징중의 하나임을 확인할 수 있었다.

당뇨 유발 3일, 1, 2, 4, 6주째 측정한 공복시 혈당수준 (Fig. 1)은 정상군의 경우 115~137mg/dL의 범위내에서 정상수준을 보인 반면 당뇨군에서는 230~410mg/dL의 범위에서 증감을 보이며 유의적으로 높은 수준을 나타냈다. 실험 전기간 동안 당뇨동물들은 실험동물의 당뇨병 판정기준인 공복시 정맥혈당치 180mg/dL 이상을 유지하여 지속적인 고혈당 현상을 보임으로서 본실험에서 사용한 STZ의 주사량이 흰쥐에서 실험적인 당뇨병을 유지하기에 적절하였음을 알수 있었다. STZ으로 유도한 당뇨쥐에서 고혈당이 발생하는 이유는 STZ이 혀장 Langerhan's섬의 β -세포를 손상시킴으로써 인슐린 분비가 감소되며 이로 인해 당질대사가 비정상화되어 당이용은 줄어드는 대신 당신생이 증가되어 발생하는 것으로 알려져 있다.³³⁾

2. 당뇨병의 유병기간에 따른 혈장 지질 수준의 변화

당뇨병에서 가장 빈번하게 관찰되는 지질대사 이상은 혈중 중성지방과 콜레스테롤의 증가, HDL-콜레스테롤 농도의 감소, LDL-콜레스테롤의 조직으로의 이동 속도의 감소 등을 들 수 있으며,⁴⁾ 이와 같은 지질대사 이상으로 인해 당뇨병 환자에 있어 혈관계 합병질환의 발병률은 정상인에 비해 2~4배 이상 높으며³⁴⁾ 이들 질환은 당뇨로 인한 사망의 75~80%를 차지한다고 보고되고 있다.³⁵⁾

본 실험에서 당뇨군은 당뇨병 유발 3일째부터 혈중 중성지방 수준(Fig. 2)이 정상군에 비해 높은 경향을 나타내었으며 이와 같은 결과는 당뇨쥐의 혈중 중성지방의 수준에 대해 보고한 Goswamy 등³⁶⁾과 Steiner 등³⁷⁾의 연구 결과와 일치한다. 당뇨동물에서의 고증성지방혈증(hypertriglyceridemia)과 같은 지질대사 이상은 인슐린의 결핍 및 말초조직의 저항성으로 인해 혈중 유리 지방산의 수준이 증가하게 되고 간에서의 당신생과 VLDL-TG의 합성 및 분비가 증가되는 한편 지방조직의 lipoprotein lipase의 활성이 떨어져 VLDL-TG의 제거가 저연됨으로서 초래되는 것으로 설명될 수 있다. 본 실험에서 당뇨동물의 혈중 중성지질의 증가는 당뇨 유발후 1주일째부터 현저해져서 6주까지 비슷하게 높은 수준이 유지되는 것으로 나타났다.

본 실험에서 당뇨동물의 혈중 총 콜레스테롤 함량(Fig. 2)은 당뇨병 유발 3일째부터 정상군에 비해 유의적으로 높은 수준을 보이기 시작하여 유병기간에 따라 점차 증가하였으며 실험 전기간에 걸쳐 유의적인 차이를 보였다. 당뇨동물에서의 혈중 총 콜레스테롤의 증가는 다른 선행 연구들^{38),39)}

에서도 보고된 바 있다. 당뇨병 상태에서 혈중 총 콜레스테롤이 증가되는 기전으로서는 여러 가지 설들이 제시되고 있다. Chait 등³⁸⁾은 인슐린이 말초조직의 LDL 수용체의 활성도를 촉진시켜 혈중 LDL의 제거속도를 증가시킴을 관찰하고 인슐린 의존형 당뇨병에서는 인슐린 부족에 의해 LDL 수용체 활성이 저하되기 때문에 혈중 LDL의 제거가 자연되어 혈중 콜레스테롤이 증가된다고 주장하였다. 또 한편으로는 당뇨병에서 관찰되는 당화-LDL의 생성도 LDL의 분해감소의 원인이 될 수 있으며 동시에 고콜레스테롤혈증 발생의 한 기전으로 제안되고 있다.⁴⁰⁾ 또한 당뇨병상태에서 VLDL의 합성과 VLDL의 대사산물인 LDL의 생성 증가도 혈중 콜레스테롤을 높이는 원인중의 하나라고 지적된바 있다.⁴¹⁾

당뇨군의 혈중 HDL-콜레스테롤의 함량은 실험 전기간에 걸쳐 정상군에 비해 다소 낮은 수준을 나타내었으나 1주째를 제외하고는 유의적인 차이는 없었다. 일반적으로 당뇨병 상태에서 혈중 HDL-콜레스테롤 수준이 감소하는 것으로 알려져 있으나 정상군과의 유의적인 차이가 나타나지 않는 것은 흰쥐의 경우 혈중 콜레스테롤의 대부분이 HDL 분획에 존재하기 때문인 것으로 추정된다.⁴²⁾

동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 관상동맥질환의 예전지표로서 LDL 콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤의 비율로부터 산출되며 이 지수가 높을수록 발병위험이 높아지는 것으로 보고 있다. 본 실험에서는 당뇨동물이 당뇨병 유발 후 3일째부터 실험 전기간에 걸쳐 이 지수가 정상군에 비해 유의적으로 높게 나타났다(Fig. 3). 당뇨상태로 인한 동맥경화지수의 증가가 매우 초기단계부터 일어났다는 사실은 혈관계 합병증의 진행이 당뇨병의 발병과 거의 동시에 시작될 수 있음을 시사한다고 볼 수 있다. 당뇨군의 경우 동맥경화지수가 6주째에 낮아진 것은 4주에 비해 6주째에 총 콜레스테롤 수준이 더 이상 증가되지 않았으나 HDL 콜레스테롤 수준은 상승(Fig. 2)한데 따른 결과이다. 그 이유로는 아마도 4주경부터 총 콜레스테롤수준은 포화상태에 달한 것으로 보이며 따라서 이의 저하를 위한 일종의 생리적 항상성 유지기전에 의해 간으로의 콜레스테롤의 역수송을 담당하는 HDL분획의 콜레스테롤이 높아진 것이 아닌가 추정된다.

본 실험에서 STZ으로 유도된 당뇨병이 흰쥐의 혈중 중성지방과 콜레스테롤의 함량을 유의적으로 증가시키고 HDL-콜레스테롤은 유의적이지는 않지만 정상동물이 비해 감소시키는 것으로 나타난 것은 당뇨병과 고지혈증간의 상호관련성을 잘 나타낸 PROCAM Study⁴³⁾에서 당뇨병 환자들이 정상인에 비해 혈중 중성지방 농도는 높고 혈중 HDL-콜레스테롤 농도는 낮았다는 결과를 동물실험에서도 확인

된 것으로 생각한다. 더욱이 STZ에 의해 실험적으로 유발한 당뇨동물에서 혈중지질성상의 변화는 적어도 발병 후 1주일 이내의 매우 초기단계에서 시작됨을 알수 있다.

요약 및 결론

본 연구는 당뇨병의 진전에 따른 합병증 발생기전의 일부를 규명하고 그 예방책을 강구하고자 하는 목적으로 행하여지는 연구의 일환으로서 일차적으로 STZ에 의해 실험적으로 유발시킨 당뇨쥐를 모델로 하여 6주간의 당뇨병의 유병기간에 따른 당뇨동물의 신체상태 및 혈당과 혈중지질 패턴의 경시적 변화를 측정하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 스트렙토조토신의 대퇴부 근육주사(50mg/kg BW)에 의해 유발된 당뇨동물들은 1주일후 63%의 생존율을 보였으며 이후 6주까지 공복시 혈당수준 230~410mg/dL 범위의 당뇨병 상태를 유지하였다. 당뇨병 유발 3일째부터 유병기간에 따라 점차적인 체중감소를 보였으며 실험 전기간에 걸쳐 정상동물에 비해 유의적으로 낮은 체중을 보였다. 체중대비 장기 조직들의 상대적 중량은 당뇨군이 정상군에 비해 유의적으로 높은 경향을 보였고 특히 신장은 현저한 비대현상을 나타냈다.

2) 당뇨동물의 혈중 중성지질은 당뇨유발후 1주일째부터 현저히 높아져서 6주까지 비슷한 수준이 유지되었고 실험 전기간동안 정상군에 비해 높았으며 당뇨 유발 4주째부터 유의적인 차이를 나타내었다. 당뇨동물의 혈중 총 콜레스테롤 함량은 당뇨병 유발 3일째부터 정상군에 비해 유의적으로 높아지기 시작하여 유병기간에 따라 점차 증가하였으며 실험 전기간에 걸쳐 정상동물과 유의적인 차이를 보였다. 당뇨군의 혈중 HDL-콜레스테롤의 함량은 실험 전기간에 걸쳐 정상군에 비해 다소 낮은 수준을 나타내었으나 유의적인 차이는 없었다. 당뇨동물의 동맥경화지수는 당뇨병 유발 후 3일째부터 실험 전기간에 걸쳐 정상군에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 이상의 결과로부터 스트렙토조토신에 의해 유발된 당뇨동물의 혈중지질 패턴의 변화는 당뇨유발 1주 이내의 초기에 시작됨을 알 수 있다.

Literature cited

- 1) Coulston AM, Hollenbeck CB. Source and amount of dietary carbohydrate in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Top Clin Nutr* 3: 17-24, 1988
- 2) Kennedy L, Baynes JW. Non-enzymatic glycosylation and the chronic complications of diabetes. *Diabetologia* 26: 93-98, 1984
- 3) Goldberg RB. Lipid disorders in diabetes. *Diabetes Care* 4: 561-572, 1981
- 4) Reaven KM. Abnormal lipoprotein metabolism in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Am J Med* 83: 31-40, 1987
- 5) West KM, Ahuja MM, Bennet PH. The role of circulating glucose and triglyceride concentrations and their interaction with other risk factors as determinants of arterial disease in nine diabetic population samples from the WHO multinational study. *Diabetes Care* 6: 361-369, 1983
- 6) Ganda OP. Pathogenesis of macrovascular disease including the influence of lipids. In: Joslin's Diabetes Mellitus, 12th edition, pp.217 Lea & Febiger, Philadelphia, 1985
- 7) Laakso M, Pyorala K, Sarlund H, Voutilainen E. Lipid and lipoprotein abnormalities associated with coronary heart disease in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Arteriosclerosis* 6(6): 679-684, 1986
- 8) Witztum JL, Mahoney EM, Branks MJ, Fisher M, Elam R, Steinberg D. Nonenzymatic glycosylation of low-density lipoprotein alters its biological activity. *Diabetes* 31: 283-291, 1982
- 9) Lopes-Virella MF, Klein RL, Lyons TJ, Stevenson HC, Witztum JL. Glycosylation of low-density lipoprotein enhances cholesterol ester synthesis in human monocyte-derived macrophages. *Diabetes* 37: 550-557, 1988
- 10) Klein RL, Lopes-Virella MF, Colwell JA. Enhancement of platelet aggregation by the glycosylated subfraction of low-density lipoprotein isolated from patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 39(suppl. 1): 173A, 1990
- 11) Wolff SP, Dean RT. Glucose autoxidation and protein modification: The potential role "autoxidative glycosylation" in diabetes mellitus. *Biochem J* 245: 243-250, 1987
- 12) Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *Clin Chem* 19: 476-482, 1973
- 13) Allain CC, Poon LS, Chen CSG, Richmond W. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 20: 470-475, 1974
- 14) Finley PR, Schifman RB, William J, Lichti DA. Cholesterol in high-density lipoprotein: Use of Mg²⁺/dextran sulfate in its measurement. *Clin Chem* 24: 931-933, 1978
- 15) Hair JF, Anderson RE, Tatham RL, Black WC. Multivariate data analysis with readings. 4th edition. Prentice-Hall International Editions, USA, 1995
- 16) Asayama K, Nakane T, Uchida N, Hayashibe H, Dobashi K. Serum antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rat. *Horm Metab Res* 26: 313-315, 1994
- 17) Mukherjee B, Mukherjee JR, Chatterjee M. Lipid peroxidation, glutathione levels and changes in glutathione-related enzyme activities in streptozotocin-induced diabetes rats. *Immunol & Cell Biol* 72: 109-114, 1994
- 18) Morel DW, Chisolm GM. Antioxidant treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity. *J Lipid Res* 30: 1827-1834, 1989
- 19) Yang J, Cherian MG. Protective effects of metallothionein on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life Sci* 55(1): 43-51, 1994
- 20) Garg MC, Ojha S, Bansal DD. Antioxidant status of streptozotocin diabetic rats. *Indian J Exp Biol* 34(2): 264-266, 1996
- 21) Jain SK, Levine SN. Elevated lipid peroxidation and vitamin E-quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free radical Biol Med* 18(2): 337-341, 1995
- 22) Willatgamuwa SA, Platel K, Saraswathi G, Srinivasan K. Antidiabetic influence of dietary cumin seeds in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr Res* 18(1): 131-142, 1998
- 23) Kakkar R, Kalra J, Mantha SV, Prasad K. Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 151(2): 113-119, 1995
- 24) Park SH, Lee YK, Lee HS. The effect of dietary fiber feeding on gastrointestinal functions and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 27(4): 311-322, 1994

- 25) Lee HS, Choi MS, Lee YK, Park SH, Kim YJ. A study on the development of high-fiber supplements for the diabetic patients(I) Effect of seaweed supplementation on the gastrointestinal function and diabetic symptom control in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 29(3): 286-295, 1996
- 26) Preston AM, Tome J, Morales JJ, Milan L, Cuevas AA, Medina J, Santiago JA. Diabetic parameters 58 weeks after injection with streptozotocin in rats fed basal diets or diets supplemented with fiber, minerals and vitamins. *Nutr Res* 11: 895-906, 1991
- 27) Odaka H, Matsuo T. Ameliorating effects of an intestinal disaccharidase inhibitor, AO-128, in streptozotocin-diabetic rats. *J Jpn Soc Nutr and Food Sci* 45(1): 33-38, 1992
- 28) Furuse M, Kimura C, Mabayo RT, Takahashi H, Okumura J. Dietary sorbose prevents and improves hyperglycemia in genetically diabetic mice. *J Nutr* 123: 59-65, 1993
- 29) Gallaher DD, Csallany AS, Shoeman DW, Olson JM. Diabetes increase excretion of urinary malondialdehyde conjugates in rats. *Lipids* 28: 663-666, 1993
- 30) Hong SK, Koh KS, Kim SY, Cho BY, Lee HK, Koh CS, Min HK, Lee BD, Jang HC. Early renal hypertrophy and kidney tissue IGF-I in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 14(1): 29-34, 1990
- 31) Mogensen CE. Glomerular filtration rate and renal plasma flow in short term and long term juvenile diabetes. *Scan J Clin Invest* 28: 91-100, 1971
- 32) Seyer-Hansen K. Renal hypertrophy in experimental diabetes: Relation to severity of diabetes. *Diabetologia* 13: 141-143, 1977
- 33) Kahn CR. The molecular mechanism of insulin action. *Ann Rev Med* 36: 249-251, 1985
- 34) Goldberg RB. Lipid disorders in diabetes. *Diabetes Care* 4: 561-572, 1981
- 35) Choi YG, Lee TH. Diabetes mellitus and hyperlipidemia, pp.111-134, Medical Pub, Seoul, 1995
- 36) Goswamy S, Many I, Many UV. Effects of wheat bran fibre on tissue lipids in diabetic rats. *Indian J Biochem Biophys* 22: 240-243, 1985
- 37) Steiner G, Chow A, Little JA. Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II. *N Eng J Med* 298: 1256-1273, 1978
- 38) Chait A, Foster D, Mazzone T. In vivo stimulation of low-density lipoprotein degradation by insulin. *Diabetes* 33: 333-338, 1984
- 39) Saudek CD, Yong NL. Cholesterol metabolism in diabetes mellitus. *Diabetes* 30(supple.2): 76-81, 1981
- 40) Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complication. *Ann Intern Med* 101: 527-537, 1984
- 41) Goldstein JL, Brown MS. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 46: 897-930, 1977
- 42) Overton PD, Furlonger N, Beety JM, Chakraborty J, Tredger JA, Morgan LM. The effects of dietary sugarbeet fibre and guar gum on lipid metabolism in Wistar rats. *Bri J Nutr* 72: 385-395, 1994
- 43) Assmann G. Diabetic dyslipidemia:Results from the Prospective Cardiovascular Muenster(PROCAM) Study. *Clinician* 8(1): 3-11, 1990