

N-3계 지방산이 나이가 다른 흰쥐의 신장 기능에 미치는 영향*

김화영[§] · 황선영 · 이현숙 · 정현주*

이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과, 연세대학교 의과대학 병리학교실*

Effects of N-3 Fatty Acids on Renal Function in Rats of Different Ages*

Kim, Wha Young[§] · Hwang, Sun Young · Lee, Hyun Sook · Jeong, Heyon Joo*

Department of Food & Nutrition, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

Department of Pathology,* College of Medicine, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effects of n-3 fatty acids on renal function in male Sprague-Dawley rats of different ages 5-, 15- and 19-months old. The rats were fed a 20% (w/w) lipid diet containing 10% fish oil, compared with control animals fed a 20% lipid diet without fish oil for 4 weeks. The results were as follows: kidney weights were significantly higher in fish oil-fed rats compared to control rats. Plasma levels of total lipid, total cholesterol, and triglyceride markedly increased, with aging and LDL-cholesterol showing a significantly lower level in fish oil-fed rats than control rats. The urinary protein and glomerular filtration rate (GFR) increased with aging. GFR was higher in fish oil-fed rats. However, urinary protein was the same in the two groups. Renal medulla thromboxane B₂ (TXB₂) tended to be lower in fish oil-fed 19-month-old rats. Urinary TXB₂ and PGE₂ were found to be higher in 19-month-old rats with higher proteinuria. Light microscopic examination showed interstitial inflammation, tubular atrophy, interstitial fibrosis and glomerular mesangium increase. Although glomerular sclerosis increased with aging, fish oil in the diet had no effect on histological changes. In conclusion, plasma lipid, urinary protein excretion and renal histological change showed a significant increase with aging. The reduction of TXB₂ in the medulla and increase of GFR caused by fish oil indicated n-3 fatty acid could affect renal function in line with the hypolipidemic effect. (*Korean J Nutrition* 33(2) : 134~140, 2000)

KEY WORDS: n-3 fatty acid, renal function, TXB₂, PGE₂, hypolipidemic effect.

서 론

신장 기능은 체내 지질대사 변화의 영향을 받는 것으로 생각된다. 혈중 지질 함량이 높으면 지질 성분이 신장에 축적되어 사구체의 손상을 촉진한다. 실제로 신장염을 가진 쥐의 사구체에서 콜레스테롤이 많이 발견되었고, 혈중 콜레스테롤과 사구체 경화 사이에 밀접한 상관 관계가 있는 것으로 보고되고 있다.¹⁾ 또한 혈중 지방을 낮추었을 때 쥐의 사구체 경화 및 신부전이 억제되었다는 결과²⁾로 보아 혈중 지질이 신장 기능에 중요한 작용을 하는 것으로 보인다.

신장에서 분비되는 eicosanoid 또한 혈액 동력학(hemodynamics)의 관점에서 신장 기능과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. Thromboxane A₂(TXA₂)는 혈소판 응집을 촉진하는 혈관 수축 작용을 하여 신장 사구체 내

의 압력을 증가시킴으로써 사구체 여과율과 신혈류를 감소시키고 신장 조직의 변화를 초래하며 결국 사구체 기저막의 투과도 변화를 유발하여 노단백 배설량을 증가시킨다는 보고가 있다.³⁾ 반면에 prostaglandin E₂(PGE₂)는 맥관막 세포(mesangial cell)에서 형성되어 혈관이완 기능을 하며 TXA₂를 비롯한 혈관 수축 물질들로 인해 저하된 신장 기능을 정상으로 유지하고자 하는 작용을 한다. 그러므로 혈중 지질이 신장 기능에 미치는 영향은 이와 같은 지질 대사 산물의 상호 작용에 의한 결과인 것으로 사료된다.

최근 노화에 따른 신장 기능의 저하를 지연시킬 수 있는 요인들에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다. 특히 n-3계 지방산은 혈액 응고 작용을 촉진하는 TXA₂를 억제함으로써 항혈전 효과를 나타내고 중성 지방 합성에 필요한 지방산의 생성을 억제하여 중성 지방의 합성을 감소시킨다고 한다.⁴⁾ 즉 TXA₂가 지질대사에 영향을 미침으로써 신장의 구조적 퇴화를 촉진하는 요인이 될 수 있음을 생각해 볼 때, n-3계 지방산과 지질대사, 그리고 신장 기능과의 복합적인 관계에 대한 연구가 필요하다고 생각된다. 따라서 본 연구에서는

채택일 : 2000년 3월 14일

*This research was supported by grants(981-0610-051-1) from Korea Science and Engineering Foundation.

[§]To whom correspondence should be addressed.

n-3계 지방산이 풍부한 어유를 첨가시킨 식이를 나이가 다른 쥐들에게 4주간 공급하여 n-3계 지방산이 노화에 따른 지질 대사 및 신장 기능에 미치는 영향을 살펴보았다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 동물 및 식이

실험 동물은 4개월, 12개월, 14개월령의 Sprague-Dawley종의 수컷 흰쥐를 구입하여, 고품배합사료(삼양사료)로 각각 5개월, 15개월, 19개월이 될 때까지 사육하여 해당 되는 나이가 되었을 때 각 나이에서 체중에 따른 난괴법(Randomized-block design)에 의해 어유 함량이 높은 군(F)과 대조군(C)으로 나누어 4주간 사육하였다.

실험군은 n-3계 지방산을 함유한 어유첨가군과 대조군으로 나누었다. 실험 식이의 지방 함량은 식이 무게의 20%로 하였는데, 대조군은 우지(beef tallow, 롯데 삼강)와 옥수수 기름(corn oil, 동원)을 동량으로 섞어 공급하였고, 어유첨가군은 대조군 식이의 지방 50%(우지 : 옥수수유 = 1 : 1)와 어유(fish oil, 풀무원 제공) 50%를 섞어 사용하였다. 탄수화물과 단백질 함량은 60%와 15%로 하였으며, 각각 옥수수 전분(corn starch, 동방 유량)과 casein(edible acid casein, Murray Gouldburn Co-operative Co., Australia)을 사용하였고, 무기질과 비타민은 American Institute of Nutrition의 식이 조성⁵⁾을 참고하였다(Table 1). 실험 동물은 한 마리씩 분리하여 사육하였고, 물과 식이는 제한 없이 공급하였다.

2. 시료의 채취

4주간 실험식이로 사육후 이미 보고된 방법⁶⁾으로 24시간 동안의 뇨를 채취하여 단백질, 크레아티닌 및 eicosanoid 분석에 사용하였다. 혈액 채취는 사육 기간이 끝난 뒤 12시간을 굶기고 에틸에테르로 마취한 다음 개복하여 3.8% sodium citrate로 처리한 주사기로 심장에서 채취하여 혈장을 얻어 분석에 사용하였다.

혈액을 채취한 후 즉시 신장을 떼어내어 신장 조직내 eicosanoid 분석용과 조직 검사용으로 나누어 처리하였다. 신장 조직내 eicosanoid 분석을 위해서 김 등의 방법대로⁷⁾ 신장 수질을 처리하여 시료를 냉동 보관하였다.

신장조직검사는 각 실험군에서 무작위로 5마리씩 선택하여 흰쥐의 오른쪽 신장 1/3지점을 잘라 10% 포르말린 용액에 보관하였다. 이것을 파라핀에 포매하여 microtome으로 4µm 두께로 연속 절편한 뒤 hematoxylin-eosin과 periodic acid-Schiff stain을 시켜 광학현미경으로 관찰하였다.

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

	Control diet	Fish oil diet
Corn starch	600	600
Casein	150	150
Fat		
Beef tallow	100	50
Corn oil	100	50
Fish oil ¹⁾	0	100
Salt mixture ²⁾	35	35
Vitamin mixture ³⁾	10	10
Choline chloride	2	2
DL-methionine	3	3

1) EPA-rich fish oil <EPA 30.83%(30.83g/kg diet), DHA 11.72%(11.72g/kg diet)>

2) AIN salt mixture²⁸⁾(g/kg)

Calcium phosphate, dibasic(CaHPO₄ · 2H₂O), 500; Sodium chloride(NaCl), 74; Potassium citrate, monohydrate(K₂C₆H₅O₇ · H₂O), 220; Potassium sulfate(K₂SO₄), 52; Magnesium oxide(MgO), 24; Manganous carbonate(43 - 48% Mn), 3.5; Ferric citrate(16 - 17% Fe), 6; Zinc carbonate(70% ZnO), 1.6; Cupric carbonate, 0.3; Potassium iodate, 0.01; Sodium selenite, 0.01; Chromium potassium sulfate, 0.55; Sucrose, finely powdered, to make 1000.

3) AIN vitamin mixture²⁹⁾(g/kg mixture)

Thiamin · HCl, 600mg; Riboflavin, 600mg; Pyridoxine · HCl, 700mg; Nicotinic acid(nicotinamide is equivalent), 3g; D-Calcium pantothenate, 1.6g; Folic acid, 200mg; D-Biotin, 20mg; Cyanocobalamin(Vitamin B12), 1mg; Retinyl palmitate or acetate(Vitamin A), 400000 IU vitamin activity as stabilized powder; DL-α-Tocopherol acetate(Vitamin E), 5000 IU vitamin E activity as stabilized powder; Cholecalciferol, 2.5mg(100000 IU); Menadione, 5mg; Sucrose, finely powdered, to make 1000g.

조직의 처리 및 판독은 blind study로 같은 병리학자에 의해 행해졌다.

3. 생화학적 분석

혈장의 총 지방량은 Frings법⁸⁾으로, 총 콜레스테롤은 Zak법⁹⁾으로, 중성지방은 Biggs의 방법¹⁰⁾으로 측정하였다. 혈장 HDL-콜레스테롤은 kit를 이용하여(HDL-콜레스테롤 측정용 kit, 아산제약) apo-lipoprotein B를 가지고 있는 LDL과 VLDL을 침전시킨 후 상층액에 있는 HDL 중의 콜레스테롤을 효소법에 의해 측정하였다. 혈장의 LDL-콜레스테롤은 Friedwald등의 산출식을 이용하여 구하였다.¹¹⁾

사구체 여과율은 크레아티닌 제거율(creatinine clearance)을 측정하여 구하였다. 뇨의 크레아티닌 함량은 Foline 방법¹²⁾으로, 혈장의 크레아티닌 농도는 Foline과 Wu의 방법¹³⁾으로 520nm에서 비색정량 하였다. 뇨단백질 함량은 Lowry의 방법¹⁴⁾을 이용하여 측정하였다.

신장 기능과 관련이 있는 eicosanoid 중에서 TXA₂는 반감기가 짧아 측정하기 어려우므로 생리적으로 안정된 대사물질인 thromboxane B₂(TXB₂)를 측정하여 TXA₂ 생성량

의 지표로 사용하였다. TXB₂와 PGE₂의 농도는 enzyme immunoassay(EIA) kit(Amersham)로 측정하였으며, 신장 조직 내의 TXB₂와 PGE₂를 나타내기 위한 pellet의 단백질을 Lowry¹⁴⁾법을 이용하여 정량하였다.

4. 자료의 처리

본 연구의 모든 실험 분석 결과는 각 실험군의 평균값과 표준오차로 나타내었고, 각 실험군의 평균치 간의 유의성은 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였으며 나이와 식이에 의한 영향은 $\alpha = 0.05$ 수준에서 two-way ANOVA를 실시하여 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 혈장 지질 농도

사육기간 4주후에 측정된 혈장 지질 농도를 Table 2에 제시하였다. 혈장 총 지방, 총 콜레스테롤, 중성 지방 농도는 모두 나이와 식이에 의해 유의적인 영향을 받아 나이가

많을수록 높았고 어느 나이에서든 어유군이 대조군보다 낮은 값을 보였다. LDL-콜레스테롤은 식이 지방의 영향을 받아 어유군이 대조군에 비해 낮게 나타났으나 HDL-콜레스테롤은 식이 지방의 영향을 받지 않았다. N-3계 지방산은 간에서 중성지방의 합성은 억제하고 분해를 촉진하여 VLDL의 중성 지방량을 감소시키므로써 혈중 중성지방의 농도를 낮춘다.¹⁵⁾ 또한 고도불포화지방산인 n-3계 지방산은 acetyl-CoA cholesterol acyltransferase(ACAT)가 선호하는 기질이므로 ACAT 작용에 의하여 간의 콜레스테롤 에스테르의 농도를 증가시키고 유리 콜레스테롤을 감소시킴으로써 세포막의 LDL 수용체의 활성을 상승시켜 혈액 LDL이 간으로 많이 흡수되게 함으로써 혈중 LDL-콜레스테롤을 감소시키는 것으로 생각된다.¹⁶⁾

2. 신장 기능

신장의 무게와 뇨단백질 배설량 및 사구체 여과율을 Table 3에 나타내었다. 신장 무게는 식이의 영향을 받아 어유군이 대조군보다 유의적으로 높았다. 뇨단백질 배설량은

Table 2. Plasma lipid concentrations¹⁾

Age(month)	Diet	Total lipid	Total cholesterol	Triglyceride	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol ⁴⁾
5	C ⁵⁾	243.7 ± 20.5 ^{c2)}	150.2 ± 11.4 ^b	62.4 ± 6.2 ^c	17.61 ± 2.80 ^{ns}	120.1 ± 11.7 ^{ab}
	F	209.5 ± 9.7 ^c	110.6 ± 7.1 ^c	41.7 ± 6.7 ^c	17.31 ± 2.79	84.9 ± 7.2 ^c
15	C	347.6 ± 21.4 ^b	141.0 ± 8.0 ^{bc}	137.8 ± 19.9 ^b	18.47 ± 1.79	97.9 ± 8.6 ^{bc}
	F	209.0 ± 18.3 ^c	118.3 ± 7.7 ^{bc}	63.8 ± 5.7 ^c	14.87 ± 1.82	90.7 ± 8.1 ^{bc}
19	C	445.6 ± 55.3 ^a	190.1 ± 17.3 ^a	202.8 ± 39.9 ^a	11.06 ± 1.03	138.4 ± 14.9 ^a
	F	342.0 ± 37.3 ^b	136.6 ± 12.0 ^b	140.0 ± 24.1 ^b	14.54 ± 1.78	94.2 ± 10.3 ^{bc}
SF ³⁾		A,B	A,B	A,B	NS	B

1) Mean ± S.E.
 2) Values with different alphabet among groups were significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.
 3) Significant factor A: Effect of age was significant at p < 0.05 by F-test. B: Effect of diet was significant at p < 0.05 by F-test.
 4) LDL-C = total cholesterol - (HDL-C + TG/5)
 5) C: Control diet F: Fish oil diet

Table 3. Kidney weight, urinary protein, urinary creatinine excretion, plasma creatinine concentration, and creatinine clearance rate(GFR)¹⁾

Age (month)	Diet	Kidney weight (g)	Urinary protein (mg/day)	Urinary creatinine (mg/day)	Plasma creatinine (mg/dl)	Creatinine clearance ⁴⁾ (ml/min,GFR)
5	C	2.91 ± 0.09 ^b	1.79 ± 0.26 ^{1,2)}	10.64 ± 0.52 ^c	0.87 ± 0.02 ^{ns}	0.85 ± 0.04 ^b
	F	3.16 ± 0.16 ^{ab}	2.33 ± 0.26 ^{bc}	13.69 ± 0.87 ^{ab}	0.90 ± 0.02	1.06 ± 0.06 ^{ab}
15	C	3.01 ± 0.09 ^b	1.67 ± 0.27 ^c	13.22 ± 0.94 ^{bc}	0.90 ± 0.02	1.03 ± 0.07 ^{ab}
	F	3.21 ± 0.09 ^{ab}	1.52 ± 0.27 ^c	14.05 ± 0.84 ^{ab}	0.88 ± 0.02	1.10 ± 0.05 ^a
19	C	3.17 ± 0.17 ^{ab}	5.57 ± 2.45 ^a	14.81 ± 1.35 ^{ab}	0.91 ± 0.01	1.14 ± 0.11 ^a
	F	3.47 ± 0.15 ^a	5.14 ± 1.79 ^{ab}	16.33 ± 1.30 ^a	0.91 ± 0.01	1.25 ± 0.10 ^a
SF ³⁾		B	A	A,B	NS	A,B

1) Mean ± S.E.
 2) Values with different alphabet among groups were significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.
 ns: Not significant p < 0.05 by Duncan's multiple range test
 3) Significant factor A: Effect of age was significant at p < 0.05 by F-test. B: Effect of diet was significant at p < 0.05 by F-test.
 4) $Ccr(ml/min) = \frac{Ucr(mg/day)}{Scr(mg/ml) \times 1440(min/day)}$
 단, Ccr: Creatinine clearance(ml/min) Ucr: urinary creatinine excretion(mg/day)
 Scr: serum creatinine(mg/ml) 1440 = 24hr × 60min(min/day)

5개월과 15개월 된 쥐 사이에는 차이가 없었으나 19개월 된 쥐에서는 유의적으로 증가하였다. 이는 신장이 노화하기 시작하면서 사구체의 기저막이 두꺼워져 단백질과 같은 고분자 물질에 대한 투과성이 커짐에 따라 노단백질 배설이 증가하기 때문이다.¹⁷⁾²⁴⁾ 노 크레아티닌 배설량과 크레아티닌 제거율(사구체여과율)도 나이가 많아질수록 증가하였고 어유군에서 높았다. 위의 결과에서 19개월된 쥐의 노단백질 배설량이 유의적으로 증가하는 것으로 보아 이들 쥐의 신장 기능이 손상되었음을 짐작해 볼 수 있으나 사구체여과율은 여전히 유지되는 것을 볼 수 있다. 이것은 선행 연구⁷⁾에서도 보고한 바와 같이 노단백질 배설량과 조직변화가 심해도 사구체여과율은 가능한 오래 정상수준을 유지한 것과 같은 결과이다. 즉 신장기능의 지표로서 사구체여과율은 노단백질 배설량보다 덜 예민한 지표로 볼 수 있다.

본 연구에서 어유 섭취시 대조군에 비해 사구체 여과율이 높은 경향을 보여 N-3계 지방산의 섭취시 신장기능을 향상시키는 효과가 있는 것으로 사료된다. N-3계 지방산은 혈

관 수축 작용을 하는 TXB₂를 감소시킴으로써 사구체여과율을 증가시키는 것으로 보고된 바 있다.¹⁸⁾ 반면 어유가 노단백질을 감소시킨다는 보고¹⁹⁾와는 달리 본 연구에서 노단백질 배설량은 어유의 영향을 받지 않았는데, 이는 식이 무게 20%인 높은 비율의 어유만을 4개월 동안 공급한 선행 실험에 비해 본 연구에서는 10%의 어유와 다른 지방 공급을 섞어서 4주동안만 사육하였으므로 어유 함유량의 차이 때문인 것으로 생각되며, 어느 수준의 어유 섭취비율부터 이런 효과를 나타내는 지는 더 연구해볼 필요가 있다.

Eicosanoid가 신장 기능에 미치는 영향을 조사하기 위해 뇨와 신장 수질에서의 TXB₂와 PGE₂ 함량을 측정하였다. TXB₂와 PGE₂는 노단백질 배설량에서 차이를 보였던 5개월과 19개월 된 쥐에서만 측정하여 Table 4에 나타내었다. 뇨로 배설된 TXB₂와 PGE₂는 나이와 식이 지방의 영향을 받지 않았다. 신장 수질에서의 TXB₂의 농도는 나이와 식이 지방의 영향을 받아 19개월된 어유군에서 낮은 값을 보였다. 그러나 수질의 PGE₂는 실험군간에 차이가 없었다. 많

Table 4. Urinary excretion and renal medulla concentration of TXB₂ and PGE₂ in 5, 19 month-old rats¹⁾

Age (month)	Diet	Urine(ng/day)		Renal medulla(ng/g tissue protein)	
		TXB ₂	PGE ₂	TXB ₂	PGE ₂
5	C	17.40 ± 1.53 ^{ns2)}	7.41 ± 0.72 ^{ns}	177.76 ± 10.0 ^a	19.45 ± 1.98 ^{ns}
	F	14.80 ± 1.84	6.48 ± 0.75	128.92 ± 25.09 ^a	14.84 ± 1.28
19	C	17.89 ± 2.15	5.70 ± 0.52	136.56 ± 24.49 ^a	18.51 ± 2.56
	F	17.89 ± 1.69	6.50 ± 0.78	54.19 ± 9.86 ^b	18.59 ± 2.63
SF		NS	NS	A,B	NS

- 1) Mean ± S.E.
- 2) Values with different alphabet among groups were significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.
ns: Not significant p < 0.05 by Duncan's multiple range test.
- 3) Significant factor
A: Effect of age was significant at p < 0.05 by F-test.
B: Effect of diet was significant at p < 0.05 by F-test.
NS: Not significant p < 0.05 by F-test.

Table 5. Urinary excretion and renal medulla concentration of TXB₂ and PGE₂ of 5, 19 month-old rats grouped by urinary protein concentration¹⁾(ng/day)

Age (month)	Diet	Class ³⁾	Urinary protein (mg/day)	Urine(ng/day)		Medulla(ng/g tissue protein)	
				TXB ₂	PGE ₂	TXB ₂	PGE ₂
5	C	High(n = 5)	2.44 ± 0.34 ^{*2)}	19.25 ± 1.36	8.71 ± 1.22	175.97 ± 14.56	18.12 ± 2.87
		Low(n = 5)	1.14 ± 0.61	15.57 ± 2.63	6.11 ± 0.14	180.15 ± 16.44	21.24 ± 2.86
	F	High(n = 5)	2.88 ± 0.18 [*]	15.76 ± 1.84	6.45 ± 0.75	174.72 ± 19.72	15.93 ± 2.37
		Low(n = 4)	1.63 ± 0.24	13.6 ± 1.44	6.52 ± 0.71	98.39 ± 28.34	14.01 ± 1.56
19	C	High(n = 3)	13.33 ± 2.72 [*]	22.37 ± 0.69	7.04 ± 0.28 [*]	108.54 ± 27.82	14.53 ± 3.1
		Low(n = 5)	0.92 ± 0.32	15.2 ± 2.82	4.90 ± 0.56	164.58 ± 35.42	20.49 ± 3.29
	F	High(n = 3)	10.08 ± 5.54 [*]	22.83 ± 1.66 [*]	8.69 ± 1.12 [*]	36.04 ± 15.78	22.65 ± 6.23
		Low(n = 5)	2.18 ± 0.67	14.93 ± 1.14	5.18 ± 0.41	61.45 ± 11.55	16.14 ± 1.95

- 1) Mean ± S.E.
- 2) Values with star within the column are significantly different at α = 0.05 by Student t-test
- 3) High: high proteinuria group, Low: low proteinuria group

은 연구들에서 어유 섭취에 따른 TXB₂의 감소를 보고하고 있는데 이는 어유의 EPA가 cyclooxygenase에 대해 arachidonic acid와 경쟁하여 arachidonic acid로부터 TXA₂와 PGE₂의 합성을 억제하는 반면 생리적으로 활성이 약한 TXA₃나 PGI₃를 합성하기 때문이며²⁰⁾ 이에 의해 본 실험에서와 같은 사구체 여과율의 증가도 유도하는 것으로 생각된다. 어유 공급이 신장의 eicosanoid 대사에 미치는 영향에 대해 발표된 보고를 보면, Kelly 등은 흰쥐에게 어유 식이를 10개월간 공급하였을 때 TXB₂와 PGE₂가 모두 감소했다고 하였고,²¹⁾ 신장 이식 환자들에게 4개월동안 어유를 제공한 결과 TXB₂는 낮아졌으나, PGE₂는 영향을 받지 않았다는 보고²²⁾와, 쥐에서 사구체 신염 유발시에 TXB₂가 PGE₂보다 먼저 증가했다²³⁾는 보고도 있다. 즉 혈관 수축 작용을 하는 TXB₂의 작용으로 사구체 여과율이나 신혈류등이 감소하면 이에 대한 보상 기전으로 혈관 이완 작용이 있는 PGE₂의 함량이 증가하므로 PGE₂는 TXB₂보다 나중에 변화하는 것으로 생각된다.²⁴⁾ 이러한 결과들을 종합하면 어유는 신장의 eicosanoid 대사에 영향을 미치나, TXB₂의 변화가 PGE₂보다 선행되는 것으로 보인다. 또한 본 연구에서 TXB₂의 함량은 감소하였으나 PGE₂는 차이가 없었던 것은 본 연구의 실험 기간이 PGE₂의 변화를 유도하기에는 짧았던 것으로 생각된다.

신장 수질과 뇌에서의 TXB₂, PGE₂ 함량과 신장 기능과의 관계를 살펴보기 위해 뇨단백 배설량에 따른 TXB₂와 PGE₂를 조사하였다. 즉 5개월과 19개월 나이군에서 어유 첨가군과 대조군의 쥐들을 각각 뇨단백 배설량이 높은 쥐와 낮은 쥐로 나누어 이들의 TXB₂와 PGE₂를 살펴보았다. 19개월 쥐의 경우 뇨단백질 배설량이 높은 쥐들에서 뇨TXB₂와 PGE₂ 배설량이 높은 경향을 나타내었다. 이것은 TXB₂ 증가에 따른 사구체의 손상으로 고단백뇨를 초래하였고 이에 대한 보상 작용으로 PGE₂의 배설량이 증가하는 적응 기전이 작용한 것으로 생각된다. 신장 절제를 한 흰쥐에서 뇨중 단백질, TXB₂, PGE₂의 농도가 높았다는 보고도 있어⁷⁾ 뇨

화나 신장 절제와 같은 신장 기능 저하가 있을 때 뇨단백질, TXB₂와 PGE₂의 배설이 증가함을 알 수 있다. 그러나 신장 수질에서의 TXB₂와 PGE₂ 농도는 이와 일관된 결과를 보이지 않았다. 따라서 이 결과만으로는 TXB₂와 PGE₂ 농도가 신장 기능과 직접적인 관련이 있다고 단정짓기는 어렵다. 신장 수질뿐만 아니라 본 실험에서 측정하지 않았던 신장 피질, 혈액, 그리고 뇌에서 TXB₂, PGE₂, 6-ketoprostaglandin F_{1α} 등의 농도를 측정한 선행연구에서도 eicosanoid와 신장 기능과의 관계 규명이 어려웠던 점으로 미루어보아 식이나 노화로 인한 신장기능의 변화가 지질대사 변화를 수반하는 것은 사실이나 지질 대사 변화로 인해 eicosanoid 대사가 변화하여 이것이 신장기능에 영향을 미친다는 가설은 더 신중히 검토해 볼 필요가 있다. 즉 신장기능에 영향 줄 수 있는 모든 조직의 eicosanoid 대사의 변화와 본 연구 등에서 측정된 것들 이외의 eicosanoid 농도를 조사할 필요가 있는 것으로 사료된다.

3. 신장의 조직학적 변화

광학 현미경으로 신장의 조직학적 변화를 관찰하여 Table 6에 제시하였다. 200배 배율하에서 신피질 20 시야를 검색하고 간질 염증(interstitial inflammation), 세뇨관 위축(tubular atrophy), 간질 섬유증(interstitial fibrosis)이 나타나는 빈도를 측정하여 1-2 시야는 +, 3-4 시야는 ++, 5-6 시야는 +++, 그 이상은 ++++로 나누어 각각 신장 구조적 손상의 mild, moderate, marked, severe한 정도로 구분하였다. 또한 사구체의 맥관막 세포 및 기질의 증가 유무를 관찰하여 같은 방법으로 구분하였으며, 50개의 사구체를 세어 분절성 경화 또는 전구성 경화의 비율을 나타내었다. 그 결과 나이가 많을수록 간질 염증, 세뇨관의 위축과 섬유증, 맥관막 기질의 증가, 사구체 경화 등의 구조적 이상이 많이 발견되어, 나이가 신장의 조직학적 변화에 영향을 미침을 알 수 있었다. 이러한 구조적 손상은 기능적 이상과 밀접한 관련을 갖는다. 즉, 나이가 들면

Table 6. Light microscopy findings

Age	Diet	Interstitial inflammation				Tubular atrophy and interstitial fibrosis					Glomerular mesangial cell and matrix increase					Glomerular global or segmental sclerosis(%)						
		- ¹⁾	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	0	2	4	6	8	
5	C(n = 5)	2 ²⁾	2	1	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	
	F(n = 5)		1	3	1	0	0	1	4	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
15	C(n = 5)		2	2	0	1	0	4	1	0	0	0	2	3	0	0	0	5	0	0	0	0
	F(n = 5)		2	3	0	0	0	3	2	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
19	C(n = 5)		0	1	1	3	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	3	1	1	0	0
	F(n = 5)		1	1	1	2	0	1	2	2	0	0	0	5	0	0	0	3	2	0	0	0

1) Degree of histological change(- : normal, + : mild, ++ : moderate, +++ : marked, ++++ : severe)

2) Values are number of rats.

혈압 상승으로 인해 사구체의 압력이 높아져 여과 작용이 과잉되고, 사구체의 투과성도 변하여 결국 사구체 경화를 유발하게 되어 네프론의 기능적 손상을 심화한다.²⁶⁾ 본 실험에서 어유 공급은 신장의 구조적 변화에는 영향을 미치지 않았다.

요약 및 결론

본 연구에서는 n-3계 지방산이 나이가 다른 흰쥐의 신장 기능에 미치는 영향을 알아보기 위해 각각 5, 15, 19개월된 쥐에게 n-3계 지방산이 풍부한 참치유를 4주간 제공하여 혈중 지질 농도 및 신장 기능의 변화를 살펴보았으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 혈장 총지방, 총콜레스테롤, 중성지방 농도는 나이에 따라 증가하였으며, 어유군에서 대조군에 비해 낮았고 이것은 15, 19개월 쥐에서 더 뚜렷하게 나타났다. 혈장 LDL-콜레스테롤의 농도 역시 어유군에서 낮았으나 HDL-콜레스테롤의 농도는 식이에 의한 영향을 받지 않았다.

2) 노단백질 배설량은 19개월 된 쥐에서 높게 나타났으나, 식이에 의한 영향은 없었다. 사구체 여과율은 나이가 증가함에 따라 증가하였고, 어유군에서 더 높았다. Eicosanoid 중 TXB₂의 뇨 배설량은 나이와 식이에 의한 영향을 받지 않았으나, 신장 수질내 농도는 어유군에서 유의적으로 낮았다. PGE₂는 뇨와 수질에서 모두 나이와 식이에 의한 영향을 보이지 않았다. 또한 5개월과 19개월의 나이군에서 모두 노단백이 많을수록 뇨의 TXB₂와 PGE₂의 배설량이 유의적으로 증가하였다.

3) 신장의 조직학적 검사를 통해 나이가 많아질수록 간질 염증, 세뇨관의 위축과 섬유증, 맥관막 기질의 증가, 사구체 경화 등의 구조적 변화가 증가하는 것을 관찰하였으나, 식이에 의한 영향은 보이지 않았다.

본 실험 결과 19개월 된 늙은 쥐에서 5개월 된 어린 쥐에 비하여 신장 기능 및 구조적 손상이 발견되었으며 혈중의 지질 농도가 상승함을 관찰할 수 있었다. 어유 첨가 식이를 공급하였을 때 사구체여과율이 증가하였고, 혈중 지질 농도는 뚜렷하게 감소하였으며, 신장 수질 조직의 TXB₂이 낮아졌다. 따라서 n-3계 지방산을 섭취하면 사구체여과율이 증가하여 신장기능이 향상되는 효과가 있으며 신장 기능에 손상을 입힐 수 있는 혈중 지질 농도를 낮추는 효과가 있다. 이러한 혈중 지질과 신장 기능의 관련성은 eicosanoid와 같은 지질 대사산물이 일부 영향을 미치는 것으로 보이나 본 연구 결과로는 그 상관관계를 정확히 규명할 수 없었다.

따라서 이에 대해서는 더 지속적인 연구가 필요하다고 사료된다.

Literature cited

- 1) Grond J, Van Goor H, Erkelens DW, Elema JD. Glomerular sclerotic lesions in the rat. *Virchowa Arch(Cell Pathol)* 51: 521-534, 1986
- 2) Joles JA, van Goor H, van Tol A, Weening JJ, Koomans HA. Ovariectomy decrease plasma triglyceride levels and both prevents and alleviates glomerular disease in uninephrectomized female albuminemic rats. *J Am Soc Nephrol* 7(8): 1189-97, 1996
- 3) Schonorff D, Neuwirth R. Platelet-activating factor and the kidney. *Am J Physiol* 251: F1-F11, 1986
- 4) Chung HL. The effect of tuna and perilla oil on lipid metabolism and production of thrombus of rat. Doctoral thesis in Ewha womans university, 1995
- 5) Report of the American Institute of Nutrition. Ad Hoc committee on standard for nutritional studies. *J Nutr* 107: 1340-1348, 1977
- 6) Lee JA, Jang YA, Kim WY. The effects of age and dietary protein level on Ca metabolism in rats. *Korean J Nutr* 25: 569-577, 1992
- 7) Kim WY, Lee HS. Effect of dietary protein level on renal function: Lipid and eicosanoids metabolism in uninephrectomized aging model in rats. *Korean J Nutr* 29(10): 1072-1079, 1996
- 8) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfophospho-vanillin reaction. *Am J Clin Pathol* 53: 89-91, 1970
- 9) Zak B. Total and free cholesterol. In standard method of clinical chemistry. pp. 79-89, N.Y. Acad Press Inc. 1968
- 10) Biggs Hg, Erickson JM, Moorehead WR. A manual colorimetric assay of triglyceride in serum. *Clin Chem* 21: 437-447, 1975
- 11) Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502, 1972
- 12) Oser BL, Hawk's physiological chemistry 4th edition. New York, McGraw-Hill Book. pp.1040-1231, 1965
- 13) Lee KN, Kim JK. Clinical medicine. Seoul medical Book. pp.72, 1988
- 14) Lowry OH, Resebrouh NJ, Randal RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
- 15) Connor SL, Connor WE. Are fish oils beneficial in the prevention and treatment of coronary artery disease? *Am J Clin Nutr* 66(suppl): 1020S-31S, 1997
- 16) Dietschy JM. Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. *J Nutr* 128: 444S-448S, 1998
- 17) Masoro EJ, Iwasaki K, Gleiser CA, McMahan CA, Yu BP. Dietary modulation of the progression of nephropathy in aging rats: an evaluation of the importance of protein. *Am J Nutr* 49: 1217, 1989
- 18) Badalamenti S, Salerno F, Ponticelli C et al. Renal effects of dietary supplementation with fish oil in cyclosporine-treated liver transplant recipients. *Hepatology* 22(1): 1695-1701, 1995
- 19) Kim WY, Lee SJ, Jeong HJ. Effect of different types of dietary fat on renal functions in aged rats. *Korean J Nutr* 31(3): 253-262, 1998
- 20) Boudreau MD, Channugam PS, Hart SB, Lee SH, Hwang DH. Lack of dose response by dietary n-3 fatty acids at a constant ratio of n-3 to n-6 fatty acids in suppressing eicosanoid biosynthesis from arachidonic acid. *Am J Clin Nutr* 53: 111-117, 1991
- 21) Kelley VE. A fish oil diet rich in eicosapentaenoic acid reduces cyclooxygenase metabolites, and suppresses lupus in MRL-1pr mice. *J Immunol* 134(3): 1914-1919, 1985

- 22) Rogers TS, Elzinga L, Bennett Wm, Kelley VE. Selective enhancement of thromboxane in macrophages and kidneys in cyclosporine-induced nephrotoxicity. *Transplantation* 45(1): 153-156, 1988
- 23) Quelley J, McGiff JC. Arachidonic acid metabolism and urinary excretion of prostaglandins and thromboxane in rats with experimental diabetes mellitus. *J Pharmacol Exp Ther* 234: 211-216, 1985
- 24) Nagao T, Nagamatsu T, Suzuki Y. Effect of DP-1904, a thromboxane A₂ synthase inhibitor, on passive Heymann nephritis in rats. *Euro-pean J Pharmacol* 316(1): 73-80, 1996
- 25) Zambraski EJ. The effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on renal function : experimental studies in animals. *Seminars in Nephrol* 15: 205-213, 1995
- 26) Jung FF, Kennefick TM, Anderson S. Down-regulation of the intrarenal renin-angiotensin system in the aging rat. *J Am Soc Nephrol* 5(8): 1573-80, 1995