

1형과 2형 당뇨병모델 흰쥐에서 Chromium Picolinate의 당내성과 인슐린 감수성에 대한 영향

신현진^{1,3} · 홍정희¹ · 고현철¹ · 신인철¹ · 최호순² · 김태화² · 김동선² · 엄애선³ · 강주섭^{1*}
¹한양대학교 의과대학 약리학교실 및 의과학연구소 임상약리부,
²내과학교실, ³생활과학대학 식품영양학과

Effect of Chromium Picolinate on Glucose Tolerance and Insulin Sensitivity in the Type I and II Diabetic Rats

Hyun-Jin SHIN^{1,3}, Jeong-Hee HONG¹, Hyun-Chul KOH¹, In-Chul SHIN¹, Ho-Soon CHOI²,
Tae-Hwa KIM², Dong-Sun KIM², Ae-Son OM³ and Ju-Seop KANG^{1*}

¹Department of Pharmacology & Division of Clinical Pharmacology, Institute of Biomedical Science and

²Department of Internal Medicine, College of Medicine, Hanyang University, Seoul 133-791

³Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Hanyang University, Seoul 133-791

(Received October 31, 2001; accepted December 14, 2001)

Abstract – Chromium is an essential nutrient and participates in glucose and lipid metabolism in human beings and animals. The present study was conducted to assess the effects of chromium picolinate (Cr-pic) on glucose tolerance and insulin sensitivity in type I and II diabetic rats. The experimental groups were type I diabetic (streptozotocin-induced: 40 mg/kg, i.p.) and type II diabetic (Goto-Kakizaki rats) models. Each group was subdivided into control, low-dose and high-dose of Cr-pic treated groups. The Cr-pic was orally administered with Cr-pic (100 mg/kg for low dose group and 200 mg/kg for high dose group) for 4 weeks. And then we performed intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) and insulin sensitivity test (ITT). The glucose tolerance test was carried out by injection of glucose (2 g/kg, i.p.). The peripheral insulin sensitivity test was conducted by injection of insulin (5 units/kg, s.c.) and glucose. We performed determining of blood glucose concentration at 0, 10, 30, 60, 90, and 120 min using automated glucose analyzer. The plasma insulin concentration was determined by rat insulin EIA kit. Administration of Cr-pic improved weight gain in all groups with higher significant in the low-dose group. There was no significance between the control and the Cr-pic treated groups in the area under the blood glucose curve and serum insulin concentration plots of IPGTT and peripheral ITT in type I diabetic rats. But Cr-pic treated groups showed significantly lower levels of the area under the blood glucose curve during IPGTT and ITT and the high-dose group showed less effects compared with the low-dose group in the type II diabetic rats. The plasma insulin concentration of both diabetic groups was not influenced by Cr-pic supplementation. We can conclude that chromium picolinate may improve the endogenous and exogenous insulin action and peripheral insulin sensitivity in type II diabetic rats.

Keywords □ Chromium picolinate (Cr-pic), Type I and II diabetic rat, Streptozotocin, Goto-Kakizaki rat, Glucose tolerance test (GTT), insulin sensitivity test (ITT)

Chromium(Cr)은 glucose tolerance factor로 알려진 필수 미량 원소로서 지질과 당질대사에 관여하고(Offenbacher, 1980) 말초조직에서 인슐린 감수성 및 활성을 증가시킨다고 하였다(Anderson, 1998). 1959년에 Merz와 Schwarz에 의하여 Cr과 포도당 내성 발현 사이의 관련성이 최초로 알려진 이후에 포도당 불내성에 대한 연구가 진행되고 있다. 한편 Cr

결핍 증상인 포도당 내성 변화와 췌장 베타세포의 손상은 제 2형 당뇨병의 증상과 유사하고 Cr을 보충해주면 이러한 증상들이 완화된다고 알려져 있다. 제2형 당뇨병인 인슐린 비의존성 당뇨병환자에게 Cr을 보충하여 포도당 내성이 향상(Offenbacher와 Pi-Sunyer, 1980; Elias 등, 1984)되었고, 인슐린 의존성인 제1형 당뇨병 동물 모델에서도 Cr의 투여가 당뇨 증상 및 포도당 불내성을 완화시키는 것으로 나타났다(Sachiko 등, 1992)고 하였다. 이와 같이 Cr이 포도당 내성을

*To whom correspondence should be addressed.

향상시키는 것은 말초조직에서 인슐린 민감성이 향상되기 때문으로 생각된다고 하였다(Anderson 등, 1987). 그러므로 본 연구는 Cr의 여러 형태 중에서 흡수율이 가장 우수하다는 Cr-pic를 제1형과 제2형 당뇨병 흰쥐모델을 이용하여 인슐린 감수성과 혈당에 미치는 Cr-pic 작용에 대한 연구를 통하여 그 효과를 검증하고 1형과 2형 당뇨병에 대한 치료보조제로서의 이용가능성에 대한 지견을 제공하고자 실시하였다.

실험 방법

실험동물 및 시약

실험동물은 제1형과 제2형 당뇨병 흰쥐모델을 이용하였고 제1형 당뇨병 모델은 streptozotocin(STZ: 40 mg/kg i.p., Sigma co., USA)-유발 당뇨병 흰쥐로 STZ는 5 mM citrate 완충액(pH 4.5)에 녹여 단 회 투여하고 48 시간 후의 평균 혈당치가 200 mg/dl 이상인 것을 이용하였고, 제2형 당뇨병 모델은 유전적 제2형 당뇨병 모델이면서 비만형이 아닌 Goto-Kakizaki 계 흰쥐(GKR)로써 공복 기초혈당치가 평균 140 mg/dl 이상인 것을 사용하였다. 제1형 및 제2형 당뇨병 군은 각각 생리식염수를 투여한 대조군과 Cr-pic를 각각 저용량과 고용량을 투여한 저용량군과 고용량군으로 나누었다. Cr-pic는 생리 식염수에 부유시켜 각각 100 mg/kg, 200 mg/kg으로 1일 1 회로 4주간 경구 투여하였다(n=6). 물과 먹이는 자유롭게 섭취시켰고, 매일 일반상태의 변화, 증독 증상, 운동성, 외관, 자율신경 및 폐사 유무를 관찰하였으며 체중은 1주일에 한번씩 측정하였다.

실험 방법

인슐린 감수성 검사(Insulin Tolerance Test, ITT)는 기초 혈당치를 측정된 뒤 5 units/kg의 인슐린(Regluar Insulin, 인간 인슐린, 대웅필리제약(주))을 피하로 일회 투여하고, 30 분 후에 50% 포도당 용액(2 g/kg, i.p.)을 투여한 후 10분, 30분, 60분, 90분, 120분에 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하여 혈당 전용측정기(GLUCOSCOT, GT-4310, 제일화학(주), 일본)로 혈당을 측정하였다.

포도당 내성검사(Intraperitoneal Glucose Tolerance Test)는 경구 또는 정맥 포도당 부하실험(OGTT or IVGTT; oral or Intravenous glucose tolerance test)을 변형시킨 Kang 등(1999)의 방법에 준하여 실시하였다. 혈액의 일부는 원심 분리 하여 얻은 혈청에서 흰쥐 인슐린 RIA 키트(Rat Insulin RIA Kit, Linco Co. USA)로 혈청 인슐린의 농도를 면역형광법(EL3401 Microplate Reader, Fischer Scientific, USA)에 따라 측정하였다.

혈중 농도-시간 곡선하 면적(area under the time-concentration curve, AUC)는 포도당 부하 전, 부하 후 10 분, 30분, 60분, 90분, 120분에 얻은 혈당치를 기초로 하여

혈중 포도당농도-시간 곡선을 작성하였고 AUC는 Trapezoidal 법칙인 $AUC_{0 \rightarrow 120\text{분}} = \int_{120} C \times dt$ 식으로 계산하여 각 구간 면적을 비교하였다. 인슐린 농도 변화에 대한 계산도 위와 동일하게 시행하였다.

본 실험에서 얻은 측정치(mean \pm S.D., N=6)에 대한 통계학적 분석은 one way ANOVA를 실시하였고 유의성 있는 검사항목은 각 군에서 대조군과 실험군간 유의성 검정을 Newman-Keuls 법에 따라 수행하였다.

결 과

Chromium picolinate가 체중 변화에 미치는 영향

제1형 당뇨병 모델에서 대조군의 흰쥐는 4주 동안 심한 당뇨병 증세로 인하여 체중이 감소한 반면, Cr-pic를 투여한 실험군에서는 체중이 증가하였으나 개체간 차이가 심하여 유의성을 확인할 수가 없었다. 제2형 당뇨병 모델에서는 대조군의 4주간 체중 증가에 비하여 저용량군과 고용량군의 체중이 모두 유의하게 ($p < 0.01$) 증가하였다(Table I).

Chromium picolinate가 인슐린 감수성에 미치는 영향

제1형 당뇨병 모델에서 대조군과 저용량군의 혈당-시간 곡선하 면적은 비슷하고 고용량군의 혈당-시간 곡선하 면적은 대조군과 저용량군에 비해 3배 이상 높았으나, 고용량군의 개체간 혈당치 차이때문에 유의성을 확인할 수 없었다. 제2형 당뇨병 모델에서는 대조군과 고용량군의 혈당-시간 곡선하 면적은 비슷하였으나 저용량군에서는 혈당-시간 곡선하 면적이 유의하게 ($p < 0.05$) 감소하였다(Fig. 1).

Chromium picolinate가 포도당 내성에 미치는 영향

제1형 당뇨병 모델에서는 대조군과 실험군간 혈당-시간 곡선하 면적의 변동이 거의 없었다. 제2형 당뇨병 모델에서는 저용량군과 고용량군의 혈당-시간 곡선하 면적이 대조군의

Table I. Effect of chromium picolinate on weight gain of rats

	Group	Weight gain (g)	Significance ⁵⁾
Type I	control ¹⁾	-28.0 \pm 13.0 ⁴⁾	
	low dose ²⁾	82.0 \pm 34.0	ns ⁶⁾
	high dose ³⁾	32.4 \pm 32.7	ns
Type II	control	55.6 \pm 6.9	
	low dose	93.6 \pm 11.3	$p < 0.01$
	high dose	89.2 \pm 16.9	$p < 0.01$

¹⁾Saline-treated group

²⁾100 mg/kg chromium picolinate-treated group

³⁾200 mg/kg chromium picolinate-treated group

⁴⁾Each value is the mean \pm S.D. (n=6)

⁵⁾Statistical significance was calculated by one-way ANOVA.

⁶⁾Not significant

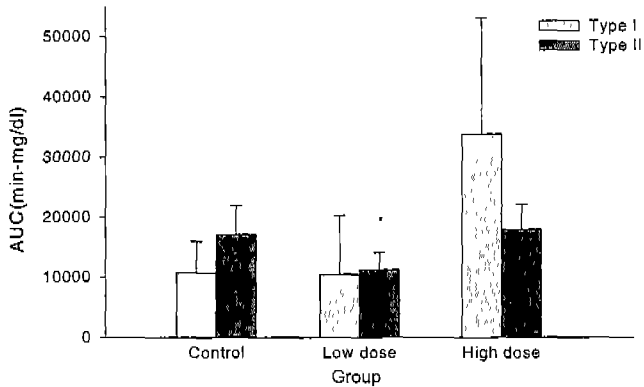


Fig. 1. Changes of AUC (area under the blood glucose concentration-time curve) followed by chromium picolinate intubation during ITT in type I and II diabetic rats. Each value is the mean \pm S.D. (n=6). Statistical significance was calculated by one-way ANOVA. * p <0.05 vs control

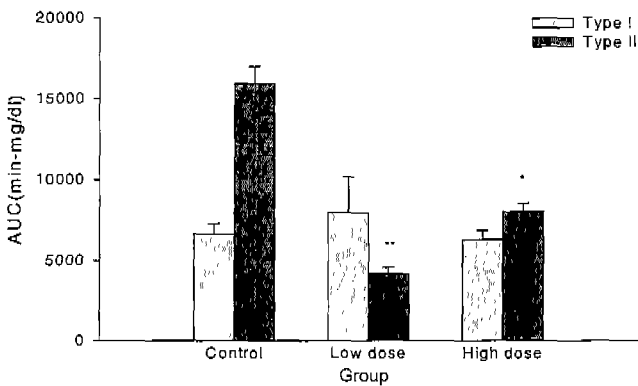


Fig. 2. Changes of AUC (area under the blood glucose concentration-time curve) followed by chromium picolinate intubation during GTT in type I and II diabetic rats. Each value is the mean \pm S.D. (n=6). Statistical significance was calculated by one-way ANOVA. * p <0.05, ** p <0.01 vs control

26.4 %(p <0.01)와 50.5%(P <0.05)에 해당하는 유의한 감소치를 보여 주었다(Fig. 2).

Chromium picolinate가 포도당 부하 후 인슐린 분비에 미치는 영향

포도당 부하 후에 측정된 인슐린 농도는 복강 내로 투여한 포도당에 대한 반응으로 췌장 beta 세포에서 분비되는 내인성 인슐린 량이므로 췌장의 인슐린 분비능을 의미한다고 할 수 있다. 제1형과 제2형 당뇨병모델에서는 모두 대조군, 저용량군, 고용량군사이에서 인슐린농도-시간 곡선하 면적에 차이가 없었다(Fig. 3).

고 찰

Anderson 등(1998)은 0, 5, 25, 50, 100 mg/kg의 Cr-pic

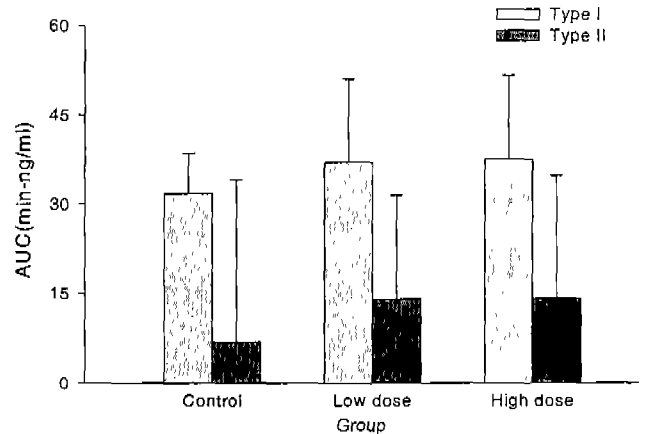


Fig. 3. Changes of AUC (area under the blood insulin concentration-time curve) followed by chromium picolinate intubation in type I and II diabetic rats. Each value is the mean \pm S.D. (n=6). Statistical significance was calculated by one-way ANOVA. Significant differences were not observed between control and treatment groups.

를 흰쥐에 먹인 결과 각 군간 총 몸무게, 혈액 변수 등에 유의한 차이가 없이 독성이 발현되지 않았다고 한다. 또한 100 mg과 500 mg의 Cr-pic를 하루에 2회씩 2달간 제 2형 당뇨병 환자에게 섭취시킨 결과 500 mg 투여군의 인슐린 요구량이 감소되었다고 하였다(Anderson 등 1998). 이와 같은 기존실험을 근거로 하여 독성과 실험 개체간 차이를 감안한 100 mg/kg과 200 mg/kg의 Cr-pic를 제 1, 2형 당뇨병 모델 흰쥐에 투여함으로써 Cr-pic가 인슐린의 감수성과 분비능에 미치는 영향을 보았다.

제1형 모델인 streptozotocin-유발 당뇨 흰쥐에서 Cr-pic를 투여하지 않은 대조군의 흰쥐는 심한 당뇨 증세로 체중이 심하게 감소하였고 Cr-pic 투여군은 체중이 증가하였으나 개체간 심한 차이로 유의하지 않았다. Sachiko 등(1992)의 연구에서도 streptozotocin-유발 당뇨병 흰쥐에 CrCl₃(20 μ g Cr³⁺/kg)를 4주 동안 복강 내로 투여한 후의 측정된 체중이 대조군과 유의한 차이가 없다고 하여 Cr의 투여가 제1형 당뇨병 모델 흰쥐에 체중증가에는 별다른 영향을 미치지 못하는 것으로 생각되었다. 그러나 제2형 당뇨 모델인 Goto-Kakizaki 계 흰쥐에서 Cr-pic를 투여한 군의 체중이 모두 유의하게 증가하였고 저용량 투여군에서 체중 증가가 더 현저하므로 제2형 당뇨군에서는 Cr-pic가 체중에 영향을 끼치는 것으로 판단되었다.

인슐린 감수성 검사(ITT; insulin tolerance test)은 외인성 인슐린의 작용으로 조절되는 혈당량을 측정하여 말초조직에서 혈당을 사용하는 정도를 말초조직의 인슐린 감수성으로 표현되고 이 정도를 간접적으로 측정하기 위한 방법으로 제1형 당뇨 흰쥐모델에서는 Cr-pic의 투여 및 용량에 따른 포도당의 혈중 농도-시간 곡선하 면적에서 유의한 차이

가 없었다. 반면 제2형 당뇨병 흰쥐군에서는 저용량 투여군의 농도-시간 곡선하 면적이 대조군과 고용량 투여군의 농도-시간 곡선하 면적에 비해 유의하게 ($p < 0.05$) 감소하였으므로 이것은 Cr-pic 저용량 투여군에서 혈당 조절에 대한 외인성 인슐린의 효과가 증가한 것을 반영하므로 그 만큼 말초조직의 인슐린 민감도가 다른 두 군에 비해 높은 것을 나타낸다. 한편, Anderson 등(1987)도 저혈당 증상을 보이는 8명의 여성에게 Chromium 200 μg 을 보충한 결과 적혈구의 인슐린 결합 능력과 인슐린 수용체의 수가 유의하게 증가하였으므로 Chromium이 인슐린 민감성을 향상시킨다고 주장하였다. 또한 포도당의 세포막 통과속도가 세포의 포도당 효율을 제한하는 단계인(Morgan과 Neely, 1972)을 감소할 때 흰쥐의 지방세포에서 Chromium 투여로 포도당 이동속도를 향상된 것(Sachiko 등 1992)은 Chromium이 말초조직에서 인슐린 감수성을 향상시킨다는 주장을 뒷받침하는 근거로 이번 연구에서 제2형 유전성 당뇨모델 흰쥐군에서 저용량 Cr-pic 투여군의 인슐린 민감성이 향상된 것과 일치하였다.

Streptozotocin-유발 제1형 당뇨흰쥐군의 혈당-시간 곡선에서 구한 농도-시간 곡선하 면적은 Cr-pic 투여 여부에 따른 차이가 거의 없어 제1형의 포도당 내성은 Cr-pic의 투여 여부에 크게 영향을 받지 않는 것으로 생각된다. 하지만 Sachiko 등(1992)은 streptozotocin-유발 당뇨병 모델에서 Chromium chloride(20 μg Chromium/kg)를 4주간 복강 내로 투여 후 실시한 복강 내 포도당 내성 시험(IPGTT: intraperitoneal glucose tolerance test)에서 혈액 내 포도당을 감소시켰다고 하였다. 제2형 당뇨병 흰쥐에서 Cr-pic 저용량 투여군과 고용량 투여군의 농도-시간 곡선하 면적은 대조군에 비해 유의하게(각각 $p < 0.1$, $p < 0.05$) 감소하였다. Amoikon 등(1995)은 Cr-pic를 첨가하여 만든 식이(200 μg Chromium/kg)를 돼지에게 먹인 후 실시한 정맥 포도당 내성 실험에서 포도당 제거율이 향상되었고, 고용량 chromium 효모를 사람에게 보충한 결과 포도당 내성이 향상되었다고 하였다(Offenbacher와 Pi-Sunyer, 1980). 반대로 Chromium의 보충이 포도당 내성에 영향을 주지 않았다는 보고도 있는데(Donaldson 등, 1985), 특히 Uusitup 등(1992)은 포도당 불내성을 지닌 65-74세의 노인에게 고용량 Chromium 효모(160 μg Chromium/d)를 보충한 것은 포도당 내성을 향상시키는데 도움이 되지 않았다고 주장하였다. 한편, 당뇨병 환자를 대상으로 한 임상시험에서 Chromium을 보충한 결과 포도당 내성이 향상되었다고 한다(Elias 등, 1984; Glinsmann 등, 1966; Gurson, 1978). Doisy 등(1976)은 Chromium 보충이 인슐린 비의존성 환자의 포도당 내성을 향상시키고 인슐린의 필요량을 감소시킨다고 하였다. 이상의 연구 결과들은 유기 Chromium인 Cr-pic의 보충이 제2형 당뇨병 흰쥐 모델에 효과가 있었다는

본 연구 결과와 일치한다. 그러나 당뇨병 환자에게 Chromium의 보충이 효과가 없거나(Sherman 등, 1968), Chromium을 과다하게 보충 혹은 투여한 경우에는 포도당 내성이 악화되었다는 보고도 있다(Sherman 등, 1968; Ghafghazi, 1979).

인슐린 분비능에 대한 Chromium의 영향에서는 제1형 당뇨병 흰쥐군과 제2형 당뇨병 흰쥐군에서 서로간의 인슐린 농도-시간 곡선하 면적에 차이가 없어서 Cr-pic의 투여는 인슐린 분비능에 영향을 주지 않는 것으로 생각되었으며 Cr-pic를 먹은 성장기 돼지의 기초 혈 중 인슐린 농도에 별다른 변화가 없었다는 Min 등(1997)과 Page 등(1993)의 연구와 일치한다. 이외에도 Chromium-chloride나 Chromium-nicotinate를 보충한 경우에도 기초 혈 중 인슐린 농도에 차이가 없었다(Striffler 등 1995; Wilson과 Gandy, 1995)고 한다. 또한 Ravina 등(1995)은 3.85 μmol Chromium을 먹은 당뇨병 환자의 인슐린 수치에 별다른 변화가 관찰되지 않았다고 하였으며, Chromium 보충이 혈당은 줄이나 인슐린 수치에는 변화를 주지 않았다(Anderson, 1983; Offenbacher와 Pi-Sunyer, 1980)는 보고도 있다.

결론적으로, Cr-pic는 제2형 당뇨병 흰쥐군에서 체중을 증가시키는 효과가 있었고, Cr-pic가 제1형 당뇨 흰쥐에서는 말초조직 인슐린 민감성과 내인성 인슐린의 반응성에는 영향을 주지 않는 반면 제2형 당뇨 흰쥐에서는 저용량 Cr-pic 투여가 외인성 인슐린의 혈당 조절 작용 및 내인성 인슐린 반응성 향상에 효과적이었고 고용량 투여군은 내인성 인슐린의 반응성 향상에 유의적으로 효과가 있었다. 제1, 2형 당뇨병 모델 모두에서 인슐린농도-시간 곡선하 면적에 각 구간 유의한 차이가 없어 Cr-pic 투여가 인슐린 분비능에는 영향을 미치지 않는 것으로 생각되었다.

본 실험 결과에서는 100 mg/kg의 Cr-pic가 제 2형 당뇨병에 더 효과적이었으며 Cr-pic의 RfD가 70 mg/day 임을 감안하여 임상에서 제2형 당뇨병 환자의 치료에 치료보조제로써의 활용가능성에 대한 더욱 깊은 임상연구가 이루어질 필요가 있다고 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 (주)삼조의 용역 연구비(2000년)로 수행되었으며 이에 감사드린다.

참고문헌

- Amoikon, E. K., Fernandez, J. M., Southern, L. L., Thompson, D. L., Jr Ward, T. L. and Olcott, G. M. (1995). Effect of chromium tripicolinate on growth, glucose tolerance, insulin sensitivity, plasma metabolites and growth hormone in pigs. *J Anim Sci.* 73, 1123-1130.

- Anderson, R. A., Polansky, M. M., Bryden, N. A., Patterson, K. Y., Veillon, C. and Glinsmann, W. H. (1983). Effects of chromium supplementation on urinary Chromium excretion of human subjects and correlation of Cr excretion with selected clinical parameters. *J Nutr.* **113**, 267-281.
- Anderson, R. A., Polansky, M. M., Bryden, N. A., Bhathena, S. J. and Canary, J. J. (1987). Effects of supplemental chromium on patients with symptoms of reactive hypoglycemia. *Metabolism.* **36**, 351-355.
- Anderson, R. A. (1998). Chromium, glucose intolerance and diabetes. *J Am Coll Nutr.* **17**, 548-555.
- Donaldson, D. L., Lee, D. M., Smith, C. C. and Rennert, O. M. (1985). Glucose tolerance and plasma lipid distributions in rats fed a high-sucrose, high-cholesterol, low-chromium diets. *Metabolism.* **34**, 1086-1093.
- Elias, A. N., Grossman, M. K. and Valenta, L. J. (1984). Use of the artificial beta cell(ABC) in the assessment of peripheral insulin sensitivity: Effect of chromium supplementation in diabetic patients. *Gen Pharmacol.* **15**, 535-539.
- Ghafghazi, T., Maghbareh, A. and Barnett, R. (1979). Chromium-induced hyperglycemia in the rat. *Toxicology.* **12**, 47-52.
- Glinsmann, W. H. and Mertz, W. (1966). Effect of trivalent chromium on glucose tolerance. *Metabolism.* **15**, 510-520.
- Kang, J. S., Kim, D. S., Shin, I. C., Chun, Y. C., Choi, H. S. and Kim, J. H. (1999). *Transplantation Proceedings.* **31**, 2150-2153.
- Mertz, W. and Schwarz, K. (1959). Relationship of glucose tolerance factor to impaired glucose tolerance in rat diets. *Am J Physiol.* **196**, 614-618.
- Min, J. K., Kim, W. Y., Chae, B. J., Chung, I. B., Shin, I. S., Choi, Y. J. and Han, I. K. (1997). Effects of chromium picolinate on growth performance, carcass, characteristics and serum traits in growing-finishing pigs. *Asian-Australian J Animal Sci.* **10**, 8-14.
- Morgan, H. E. and Neely, J. R. (1972). Insulin and membrane transport in Geiger SR(ed): Endocrine Pancreas Washington. DC. American Physiological Society. 323-331.
- Offenbacher, E. G. and Pi-Sunyer, F. X. (1980). Beneficial effect of chromium rich yeast on glucose tolerance and blood lipids in elderly subjects. *Diabetes.* **29**, 919-925.
- Page, T. G., Southern, L. L., Ward, T. L and Jr. Thompson, D. L. (1993). Effect of chromium picolinate on growth and serum carcass traits of growing-finishing pigs. *J Animal Sci.* **71**, 656-662.
- Ravina, A., Siezak, L., Rubal, A. and Mirsky, M. (1995). Clinical use of the trace element chromium(III) in the treatment of diabetes mellitus. *J Trace Element Exp Med.* **8**, 183-190.
- Sachiko, Y., Kunihiro, S., Ichiro, W. and Hidehisa, M. (1992). Effect of chromium administration in stroke-prone spontaneously hypertensive rats with streptozotocin-induced diabetes. *Metabolism.* **41**, 636-642.
- Sherman, L., Glennon, J. A., Brech, W. J., Klomberg, G. H. and Gordon, E. S. (1968). Failure of trivalent chromium to improve hyperglycemia in diabetes mellitus. *Metabolism.* **17**, 439-442.
- Uusitupa, M. J., Mykkanen, L., Siitonen, O., Laakso, M., Sarlund, H., Kolehmainen, P., Rasanen, T., Kumpulainen, J. and Pyorala, K. (1992). Chromium supplementation in impaired glucose tolerance of elderly: effects on blood glucose, plasma insulin, C-peptide and lipid levels. *Br J Nutr.* **68**, 209-216.
- Wilson, B. E. and Gandy, A. (1995). Effects of chromium supplementation on fasting insulin levels and lipid parameters in healthy, non-obese young subjects. *Diabetes Res Clin Pract.* **28**, 179-184.