

Alloxan 유도 당뇨병 흰쥐에서 조직 중 지질 수준 및 지방산 조성 변화에 관한 연구

이준호[†] · 전인녀

충남대학교 소비자생활정보학과

The Change of Tissue Lipid Levels and Fatty Acid Compositions by Alloxan-induced Diabetes in Rats

Joon-Ho Lee[†] and In-Nyo Jun

Dept. of Consumers' Life Information, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

The change of tissue lipid levels and fatty acid compositions in alloxan-induced diabetes was studied in rats (SD, male) in order to examine the pathway of diabetic complications. Rats were injected with alloxan 20 mg/kg BW or 40 mg/kg BW to induce diabetes. In rats injected with alloxan (40 mg/kg BW), the body weight was significantly decreased, food intake and liver weight per 100 g (BW) were significantly increased, compared with other groups. The blood glucose levels were apparently elevated as about 2 times in rats injected with alloxan (40 mg/kg BW) than the other groups. The concentrations of serum total cholesterol, triglyceride and HDL-cholesterol were not significantly different among the groups. However, the levels of serum triglyceride tended to increase according to amount of alloxan injected. Liver cholesterol levels were significantly decreased in rats injected with alloxan (40 mg/kg BW) compared with other groups, but triglyceride levels of those were not significantly different among groups. Concerning the fatty acid compositions of serum, liver, kidney, spleen phosphatidylcholine, the percentage of linoleic acid in rats injected with alloxan (40 mg/kg BW) was significantly increased, while that of arachidonic acid was significantly decreased compared with the other groups. Therefore, the ratios of arachidonic/linoleic acid in tissue phosphatidylcholine tended to be low in rats injected with alloxan (40 mg/kg BW) and especially significant low levels were found in serum and spleen. Thus, it was suggested that insulin deficiency can affect on fatty acid biosynthesis and induce diabetic complications.

Key words: diabetes, alloxan, fatty acid composition

서 론

당뇨병을 일으키는 주요한 인자인 insulin은 지방산의 생합성 과정에서 desaturation에 관여한다는 보고가 많이 있으며, 특히 insulin은 glucose 대사물이 지방대사의 pool로 유입되는 것을 조절함으로써 지방산의 desaturation에 간접적인 영향을 주고 있다고 하였다(1-3). 즉 desaturation에 관여하는 효소중의 하나인 $\Delta 6$ -desaturase는 불포화지방산의 생합성 경로에서 제 1의 조절단계로 알려져 있으며 이 효소의 활성은 다수의 호르몬과 영양적 요인에 의해 영향을 받는데 insulin, ATP, zinc에 의해 그리고 식이중 단백질이나 필수 지방산 결핍에 의해 활성도가 커지고, 그 대사물인 γ -linolenic acid에 의해, 그리고 절식이나 당뇨병, n-3계 지방산들, 또는 glucagon, epinephrine, glucocorticoids, thyroxine, 알콜, 나이에 의해 활성이 저하된다고 하였다(3). 한편 insulin

은 생체내에서 지방산의 $\Delta 6$ -desaturation 반응에 대하여 상반적 효과를 나타낸다고 하였다. 즉, 단백질 합성의 증가를 통해서 이 반응을 촉진시킬 수도 있고, 해당 작용을 자극함으로써 desaturation 반응을 저해시킬 수도 있다고 하였다(4). Poisson(3)에 의하면 alloxan과 streptozotocin 주사로 인하여 혈당치의 상승 결과 심한 당뇨병을 유발하였고, 체중과 간 무게의 감소를 가져왔으며, 지방산 생합성과정에서 desaturation을 억제시켜 arachidonic acid 합성이 낮아질 수 있다고 하였다. Clark 등(5)은 당뇨병 동물의 신장에서 지방산 변화를 관찰했을 때 인지질 중 phosphatidylcholine과 phosphatidylethanolamine에서 가장 확실하게 나타났다고 하였다.

당뇨병 환자의 지질대사이상에 대해서 많은 연구자들은 지질 또는 lipoprotein의 변화를 보고하고 있으며(6), 당뇨병 환자의 혈청지질농도의 상승은 혈관성 합병증의 위험성을 가중시킨다고 하였다(7-9). Roh(10)의 연구에 의하면, 당뇨

[†]Corresponding author. E-mail: joonho@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-6847. Fax: 82-42-822-8283

병이 각 lipoprotein의 triglyceride와 cholesterol의 분포에 변화를 초래한다고 하였다. 즉 당뇨병 환자의 혈청중 LDL-cholesterol이 현저하게 증가하였으며, 또한 당뇨병에서는 간에서 VLDL 합성을 촉진하고, 말초조직에서 LDL 수용체 활성의 증강작용이 일어난다고 하였다(11-13). LDL-cholesterol의 증가는 말초조직으로부터 cholesterol 운반 능력이 감소되어 동맥 경화성 변화가 촉진된다고 하였다(14). 따라서 당뇨병 환자에 있어서 동맥경화증의 발생빈도가 매우 높아 관상동맥질환은 비당뇨인의 2배, 뇌동맥경화는 2~3배, 말초혈관 동맥경화는 4~5배가 높으며 이들 중 지질대사에 가장 관련이 깊은 것은 관상동맥경화증이다(6). 그러므로 당뇨병성 요인 즉, insulin의 부족은 당질 대사에만 영향을 주는 것이 아니라 지방대사에도 영향을 주어 심혈관 질환을 일으키는 중요한 원인이 되고 있는 것 같다.

본 연구에서는 당뇨병성 지방대사 이상을 관찰해 보고자 insulin 생성 세포를 파괴시키는 alloxan을 흰쥐에 주입하여 당뇨병을 유도한 후 혈청 및 각 조직의 지질수준과 지방산 조성에 의한 desaturation 반응을 관찰하여 insulin 부족으로 인하여 초래되는 지질대사의 변화를 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

동물 사육 및 alloxan 투여

6주령(220~250 g)의 흰쥐, Sprague-Dawley(male) 24마리를 화학 연구소 동물 사육실에서 구입하여 사판되는 고품 사료로 환경에 1주일 적응시킨 후 8마리씩 3군으로 나누어 사육하였다. 식이는 AIN formula(15)를 기본으로 한 chemical pure diet로 하였다. 식이구성(weight %)은 casein(Junsei chemical Co., Japan) 20%, fat 10%, mineral mixture(AIN-76) (ICN biomedical Inc., Ohio, USA) 3.5%, vitamin mixture(AIN-76) (ICN biomedical Inc., Ohio, USA) 1%, choline bitartrate(Sigma Chemical Co., USA) 0.2%, DL-methionine(Sigma Chemical Co., USA) 0.3%, cellulose powder(Sigma Chemical Co., USA) 5%, corn starch(Duksan chemical Co., Korea) 15%, sucrose 45%로 하였다. 식이지방은 corn oil(제일제당, Korea)을 이용하였다. 식이지방의 지방산조성(weight %)은 C_{14:0}: 0.74, C_{16:0}: 12.4, C_{18:0}: 1.70, C_{18:1}: 26.6, C_{18:2}: 52.4, C_{18:3}: 0.4이었다. 식이와 증류수를 ad libitum으로 주고, 사육실은 12시간 명암주기, 온도는 23±1.0°C, 습도는 60~70%를 유지하였으며, 격일로 사료 섭취량과 체중을 측정하였다.

당뇨병을 유도하는 alloxan의 투여는 alloxan 20 mg/kg BW와 alloxan 40 mg/kg BW를 생리수에 용해하여, 매주 1회 꼬리정맥에 주사하였고 1회 주사량은 1 mL 미만이 되도록 조정하였다. 대조군은 생리수를 placebo로 주입하였다. Alloxan 투여 후 혈당치를 측정하여 당뇨병 상태를 조사하였다. 실험기간은 4주간이었고 동물희생은 전일 16시간 절식시킨

후 ethyl ether로 마취시킨 상태에서 희생하여 헤파린 처리하지 않은 주사기와 시험관을 이용하여 heart puncture로 혈액을 채취하였고, 3000 rpm에서 15분간 원심분리시켜 혈청을 얻었다. 채혈 직후 간, 신장, 비장 및 부고환의 지방조직을 적출하고 혈청과 함께 냉동저장(-40°C)하였다.

혈당치 측정

혈당치 측정은 alloxan 투여 직전과 투여 후 4일째, 그리고 그 후는 부분적으로 측정하여 당뇨상태를 확인하였고, 실험 종료시에 최종으로 측정하였다. 측정방법은 흰쥐를 전일 14~16시간 절식시킨 상태에서 꼬리 말단을 절단하고 capillary로 꼬리 정맥에서 미량 채혈하여 glucose oxidase법에 의한 kit를 이용하여 505 nm에서 측정하였다.

혈청 및 간의 지질 분석

간과 혈청의 지질분석을 위해 Folch 등(16)의 방법으로 지질을 추출한 뒤, cholesterol 분석은 Sperry-Webb 방법(17)을 이용하여 측정하였고, triglyceride 정량분석은 Fletcher의 방법(18)으로 측정하여 각각 표준 검량선을 기준으로 함량을 산출하였다. 혈청 HDL-cholesterol 측정은 Heparin-Mn 결합 침전법에 의한 kit(Wako, Co., Japan)를 이용하여 파장 505 nm에서 흡광도를 측정한 후, 표준 용액의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

각 조직의 지방산 조성

혈청, 간, 신장, 비장의 막 인지질의 조성에서 phosphatidylcholine(PC)의 지방산 조성을 관찰하였다. 분석방법은 각 조직의 일부를 Folch 등(16)의 방법에 의해 지질을 추출하여 Wada와 Sugano(19)의 방법으로 thin-layer chromatography(TLC)에 의해 PC를 분리 동정하였다. 전개 용매로는 chloroform : methanol : H₂O(65 : 25 : 4) 용액을 사용하여 전개시킨 후, fluorecein을 분무하고, UV 형광등으로 RF치를 확인한 후 PC 부분을 긁어 chloroform:methanol:acetic acid: H₂O(50 : 39 : 1 : 10)의 용액으로 용출하였다. 4 N NH₄OH를 넣고 상하로 전도한 후 냉장고에서 1일 방치 후 수용성층을 제거하였다. Ethanol성 KOH로 검화시킨 후 petroleum ether로 지방산을 용출하여 methylation하였다. Methylation은 Morrison과 Smith(20)의 방법을 이용하여 boron trifluoride(Sigma chemical Co., USA)를 사용하였다. 이것을 SP 2340 capillary column으로 gas-liquid chromatography(Hewlett Packard 5890, USA)에 의해 각 조직의 PC 지방산 조성을 분석하였다. 지방조직은 지질을 추출하여 TLC에 의한 분리 과정을 거치지 않고 검화, methylation 과정을 위와 동일하게 하여 지방조직의 triglyceride 지방산조성을 분석하였다. 각 지방산성분의 동정은 지방산 표준시약을 이용하여 동정하였다. 각 조직의 지방산조성에서 desaturation 반응은 그 지표가 될 수 있는 arachidonic/linoleic acid 비율을 계산하여 그 반응정도를 간접 추정하였다.

Table 1. Growth parameters and liver weight

Groups	Body weight		Food intake (g/day)	Liver weight (g/100 g BW)
	Initial (g)	Gain (g/4 weeks)		
Control	239±6 ²⁾	141±18 ^{a3)}	19.7±0.9 ^a	2.84±0.11 ^a
Alloxan 20 mg ¹⁾	238±4	150±3 ^a	19.8±0.7 ^a	2.77±0.09 ^a
Alloxan 40 mg ¹⁾	242±4	88±21 ^b	23.8±1.1 ^b	3.92±0.41 ^b

¹⁾Amount of alloxan (mg/kg BW) injected to rats.

²⁾Mean±SD of 6 to 8 rats per group.

³⁾Values with different superscript letters in the same column are significantly different at p<0.05.

통계처리

모든 측정치들은 SAS Package를 이용하여 실험결과로부터 각 군별 평균과 표준편차를 산정하였고, 각 군간의 지질 수준 및 지방산 구성 등의 평균 비교와 유의적 차이는 일원 분산분석(ANOVA)과 Duncan의 multiple-range test를 이용하여 검증하였다. 그 결과는 p<0.05 수준에서 유의적 차이를 인정하였다.

결과 및 고찰

성장과 사료 섭취량

실험 기간 4주 동안의 흰쥐 성장과 간 무게의 변화는 Table 1에 나타난 바와 같이 실험 동물의 체중 증가는 alloxan 20 mg/kg BW을 투여한 경우 대조군과 유의적인 차이가 없었으나, alloxan 40 mg/kg BW을 투여한 경우 다른 군에 비해 유의적으로 체중이 감소되었다. 이것으로 보아 alloxan 40 mg/kg BW 투여한 군은 심한 당뇨병 유발로 체중의 감소가 크게 나타난 것으로 판단되었다. 식이 섭취량은 alloxan 40 mg/kg BW을 투여한 군이 다른 군보다 유의적으로 높았다. 이것은 당뇨병의 증세가 음료를 많이 마시고 배뇨의 횟수가 빈번해지면 식욕이 왕성하여 탄 음식을 좋아하고 많이 먹는다는 보고(6)와 일치하였다. 실험 동물의 체중 100 g 당 간중량 %를 보면 대조군과 alloxan 20 mg/kg BW 투여한 군간에는 거의 차이가 없었으며 alloxan 40 mg/kg BW을 투여한 군이 유의적으로 높았다. 이와 같은 실험 결과는 당뇨병에서 극심한 체중감소로 인하여 상대적으로 간중량이 높아졌을 수도 있고 또는 당뇨병에 의해 지방대사에 영향을 주었을 것으로 사료된다.

혈당변화

실험 기간동안 절식상태에서의 혈당치 측정 결과는 Table 2에 나타난 바와 같았다. Alloxan 투여 전에 평균 혈당치는 85~100 mg/dL 정도로 나타났는데 흰쥐의 공복시 정상 혈당치는 110~120 mg/dL로 알려졌으며 Chung(21)의 연구에 의해서도 120~130 mg/dL라고 보고되어 본 연구에서 실험전의 혈당치는 정상 혈당치로 간주되었다. 실험기간 마지막 일에 측정된 평균 혈당치는 대조군과 alloxan 20 mg/kg BW을 투여한 군간에는 유의적인 차이가 없어 정상수준(150 mg/dL 이하)이라고 볼 수 있으며, alloxan 40 mg/kg BW을 투여한

Table 2. Blood glucose values

Groups	Blood glucose values (mg/dL)		
	Initial	4th day	Final (28th day)
Control	84.3±3.4 ²⁾	82.9±3.4	148.9±14.5 ^{b3)}
Alloxan 20 mg ¹⁾	85.5±3.4	81.6±5.0	147.3±8.2 ^b
Alloxan 40 mg ¹⁾	95.5±5.2	146.6±60.9	276.8±79.2 ^a

¹⁾Amount of alloxan (mg/kg BW) injected to rats.

²⁾Mean±SD of 6 to 8 rats per group.

³⁾Values with different superscript letters in the same column are significantly different at p<0.05.

군은 다른 군보다 약 2배(276.8 mg/dL)로 현저히 상승하였는데, Chung(21)과 Hwang(22)의 연구에서도 흰쥐에서 혈당치가 250 mg/dL 이상의 경우 당뇨병을 인정하였기에 본 실험에서도 당뇨병이 유발되었다고 간주하였다.

혈청 지질 함량

혈청 총 cholesterol은 군간에 통계적인 의의는 없었으나 alloxan 40 mg/kg BW을 투여한 군에서는 다소 증가된 경향을 보였다(Table 3). 많은 연구에서는 당뇨병 환자의 총 지방량과 콜레스테롤이 증가되어 동맥 경화증의 발병률이 높은 것으로 나타났다(13,14). HDL-cholesterol 양과 HDL-/total cholesterol 비율은 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 당뇨병에서는 lipoprotein lipase 효소활성의 저하로 HDL 생산의 저하가 일어나 HDL-cholesterol 함량이 감소된다고 하였으나(23,24) 본 논문에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

혈청 triglyceride 수준은 군 간에 유의성은 없었지만 al-

Table 3. Concentration of serum and liver lipids

Lipids	Control	Alloxan 20 mg ¹⁾	Alloxan 40 mg ¹⁾
Serum (mg/dL)			
Total-cholesterol	99.2±7.5 ²⁾	101.6±5.4	104.0±18.9
HDL-cholesterol	52.0±4.0	57.1±1.8	54.9±4.9
HDL-/Total cholesterol (%)	52.6±1.7	57.4±3.5	61.1±9.9
Triglyceride	106.3±8.9	137.9±21.4	163.4±53.2
Liver (mg/g)			
Cholesterol	4.03±0.32 ^{a3)}	3.78±0.07 ^a	3.00±0.24 ^b
Triglyceride	32.8±7.9	24.3±2.9	30.9±6.3

¹⁾Amount of alloxan (mg/kg BW) injected to rats.

²⁾Mean±SD of 6 to 8 rats per group.

³⁾Value with different superscript letters in the same row are significantly different at p<0.05.

loxan을 투여함에 따라 증가하는 경향을 보였다(Table 3). Yoon 등(25)에 의하면 당뇨병에서 triglyceride의 유의적인 증가를 보고하였고, Roh(10)와 Min(26)은 본 실험과 유사하게 당뇨병의 triglyceride가 정상보다 유의적인 차이는 없지만 증가되는 경향이었다고 하였다. 그러므로 당뇨병의 혈청 triglyceride가 증가되는 경향에서 혈관성 합병증을 유도할 수 있는 가능성이 보였다.

간의 지질 함량

간의 cholesterol 수준은 Table 3에 나타낸 바와 같았다. alloxan 40 mg/kg BW 투여한 군이 다른 군에 비해 유의적으로 낮았다. 이 결과는 당뇨병에 의한 혈청 지질의 증가에 의해 상대적으로 간의 cholesterol이 감소된 것 같다. 그리고 각 실험군에서 간의 triglyceride 함량은 Table 3에 나타낸 바와 같이 각 군간에 유의적인 차이가 없었다.

각 조직의 지방산 조성

지방 조직의 지방산 조성은 Table 4에 나타낸 바와 같다. 대조군과 alloxan 20 mg/kg BW를 투여한 군간에는 모든 지방산들의 유의적인 차이를 볼 수 없었으며, alloxan 40 mg/kg BW를 투여한 군에서 stearic acid(C_{18:0}), linoleic acid(C_{18:2})가 의미있게 증가하였고, 반면에 miristic acid(C_{14:0}), palmitic acid(C_{16:0}), palmitoleic acid(C_{16:1})는 유의적으로 감소하였다. Alloxan 20 mg/kg BW를 투여한 군은 혈당치의 변화에서도 살펴보았듯이 당뇨병이 거의 유발되지 않아 대조군과 지방산 조성에 차이가 없는 것으로 사료되었다. 그리고 당뇨병 유발이 확실한 alloxan 40 mg/kg BW를 투여한 군은 대조군과 비교하여 여러 지방산들이 유의적인 증감을 보여주어 당뇨병이 지방대사에 영향을 주었음을 알 수 있었다. 혈청의 phosphatidylcholine(PC)의 지방산 조성은 Table 5에 나타낸 바와 같다. Alloxan 20 mg/kg BW를 투여한 군에 비하여 alloxan 40 mg/kg BW를 투여한 군에서 linoleic acid(C_{18:2})가 유의적으로 증가되었고, arachidonic acid(C_{20:4})는 유의적으로 감소되었으며 다른 지방산들은 유의적인 차이를 볼 수 없었다. 따라서 arachidonic/linoleic acid 비율은 대

Table 4. Fatty acid compositions of adipose tissue triglyceride (weight %)

Fatty acids	Control	Alloxan 20 mg ¹⁾	Alloxan 40 mg ¹⁾
14:0	1.28±0.03 ^{2)ab3)}	1.24±0.03 ^a	0.82±0.21 ^b
16:0	23.2±0.7 ^a	23.7±0.5 ^a	19.0±1.7 ^b
16:1	5.37±0.21 ^a	5.75±0.21 ^a	3.52±1.09 ^b
18:0	2.79±1.11 ^a	2.71±0.07 ^a	3.34±0.12 ^b
18:1	33.7±0.4	33.2±0.4	33.1±0.6
18:2 (n-6)	31.6±1.2 ^a	30.8±0.9 ^a	38.4±3.2 ^b
18:3 (n-3)	0.65±0.07 ^b	0.83±0.07 ^{ab}	0.94±0.11 ^a
20:4 (n-6)	0.51±0.04	0.49±0.04	0.52±0.09

¹⁾Amount of alloxan (mg/kg BW) injected to rats.

²⁾Mean±SD of 6 to 8 rats per group.

³⁾Values with different superscript letters in the same row are significantly different at p<0.05.

Table 5. Fatty acid compositions of serum phosphatidylcholine (weight %)

Fatty acids	Control	Alloxan 20 mg ¹⁾	Alloxan 40 mg ¹⁾
16:0	21.8±0.9 ²⁾	21.2±1.0	19.6±1.1
18:0	23.3±1.6	25.9±0.9	24.5±0.6
18:1	6.14±0.69	5.75±0.41	5.77±0.41
18:2 (n-6)	11.4±1.0 ^{ab3)}	10.3±0.4 ^b	15.9±2.5 ^a
20:4 (n-6)	21.0±1.6 ^{ab}	24.6±1.4 ^a	17.3±1.4 ^b
unknown	4.77±1.51	3.65±0.39	6.33±0.91
22:6 (n-3)	2.78±0.31	3.56±0.29	2.78±0.08
20:4/18:2 ratio	1.84±0.11 ^a	2.42±0.19 ^a	1.30±0.31 ^b

¹⁾Amount of alloxan (mg/kg BW) injected to rats.

²⁾Mean±SD of 6 to 8 rats per group.

³⁾Values with different superscript letters in the same row are significantly different at p<0.05.

조군과 alloxan 20 mg/kg BW 투여한 군에 비하여 alloxan 40 mg/kg BW 투여한 군이 유의적으로 낮은 수치를 나타내었다. 이 결과에서 보면 alloxan 40 mg/kg BW 투여한 군에서 linoleic acid의 유의적인 증가와 arachidonic acid의 유의적인 감소로 지방산 생합성과정 중 desaturation 반응이 insulin 부족에 의해 억제되었음을 확실하게 알 수 있었다. 간의 PC 지방산 조성은 Table 6에 나타낸 바와 같다. 대조군에 비해 alloxan 40 mg/kg BW를 투여한 군이 palmitic acid(C_{16:0}), arachidonic acid(C_{20:4})가 다소 낮은 경향을 보였으며 stearic acid(C_{18:0}), linoleic acid(C_{18:2})는 약간 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 그리고 arachidonic/linoleic acid의 비율은 다른 군보다 alloxan 40 mg/kg BW 투여한 군에서 낮은 경향을 보였다. Chung(21)도 당뇨병 유발된 흰쥐의 간에서 본 연구와 유사한 경향을 보였고 이와 함께 Δ6-desaturase의 활성 저하를 나타내었다고 하였다. 신장의 PC 지방산 조성은 Table 7에 나타낸 바와 같다. 대조군에 비해 alloxan 투여군에서 stearic acid(C_{18:0})가 의미있게 증가되었고, 또한 palmitic acid(C_{16:0})는 alloxan 20 mg/kg BW 투여한 군에 비하여 alloxan 40 mg/kg BW 투여한 군에서 의미있게 감소되었으며, linoleic acid(C_{18:2})는 그 반대로 증가하는 경향이였다. Arachidonic acid는 다른 군에 비하여

Table 6. Fatty acid compositions of liver phosphatidylcholine (weight %)

Fatty acids	Control	Alloxan 20 mg ¹⁾	Alloxan 40 mg ¹⁾
16:0	18.3±0.4 ²⁾	18.9±0.4	16.5±1.0
18:0	23.7±0.7	23.6±1.7	25.8±0.9
18:1	4.89±0.21	6.90±1.11	5.36±0.39
18:2 (n-6)	10.3±1.0	10.1±0.8	11.9±1.0
18:3 (n-3)	0.20±0.02	0.30±0.05	0.37±1.19
18:4	0.22±0.02	0.25±0.03	0.37±0.10
20:4 (n-6)	33.3±1.0	30.8±1.0	30.7±1.2
22:6 (n-3)	4.24±0.41	3.94±0.30	4.03±0.08
20:4/18:2 ratio	3.43±0.41	3.24±0.29	2.72±0.31

¹⁾Amount of alloxan (mg/kg BW) injected to rats.

²⁾Mean±SD of 6 to 8 rats per group.

Table 7. Fatty acid compositions of kidney phosphatidylcholine (weight %)

Fatty acids	Control	Alloxan 20 mg ¹⁾	Alloxan 40 mg ¹⁾
14:0	0.36±0.02 ²⁾	0.31±0.04	0.44±0.10
16:0	28.2±0.4 ^{ab3)}	29.6±0.3 ^a	27.2±0.90 ^b
16:1	0.93±0.10	0.96±0.04	0.62±0.21
18:0	16.7±1.2 ^b	19.7±0.4 ^a	19.6±0.6 ^a
18:1	9.55±0.19	9.38±0.10	10.1±0.41
18:2 (n-6)	11.1±0.7 ^{ab}	8.41±0.31 ^b	14.1±0.29 ^a
18:3 (n-3)	0.23±0.01	0.35±0.10	0.31±0.11
18:4	0.40±0.11	0.26±0.01	0.49±0.09
20:4 (n-6)	24.8±0.7 ^a	25.4±0.4 ^a	21.2±1.8 ^b
22:6 (n-3)	1.35±0.10	1.21±0.04	1.09±0.71
20:4 / 18:2 ratio	2.31±0.19 ^b	3.05±0.10 ^a	1.78±0.31 ^b

¹⁾ Amount of alloxan (mg/kg BW) injected to rats.
²⁾ Mean±SD of 6 to 8 rats per group.
³⁾ Values with different superscript letters in the same row are significantly different at p<0.05.

alloxan 40 mg/kg BW 투여한 군에서 유의적으로 감소되었다. 그리고 arachidonic/linoleic acid 비율은 alloxan 20 mg/kg BW를 투여한 군이 다른 군보다 유의적으로 높았으나 alloxan 40 mg/kg BW를 투여한 군이 가장 낮은 경향을 보였다. 비장의 PC 지방산 조성은 Table 8에서와 같이 대조군과 alloxan 20 mg/kg BW를 투여한 군보다 alloxan 40 mg/kg BW를 투여한 군에서 linoleic acid(C_{18:2})가 유의적으로 증가되었고, arachidonic acid는 감소되어 arachidonic/linoleic acid 비율도 유의적으로 감소되었다. 그 결과 insulin 부족으로 인하여 Δ6-desaturase의 활성이 저하되었음을 확인할 수 있었다. 비장대사는 호르몬과 신경성요인, prostaglandin에 의해 조절되며(26), 식이지방산은 arachidonic acid 수준에 영향을 주어 비장에서 prostaglandin 합성에 영향을 미친다고 하였다(28). 각 조직의 PC에서 Δ6-desaturase의 활성을 추정할 수 있는 arachidonic/linoleic acid 비율을 Fig. 1에서 조직간에 비교해 보면 Alloxan 40 mg/kg BW 투여한 군에

Table 8. Fatty acid compositions of spleen phosphatidylcholine (weight %)

Fatty acids	Control	Alloxan 20 mg ¹⁾	Alloxan 40 mg ¹⁾
14:0	0.72±0.04 ²⁾	1.00±0.20	0.82±0.09
16:0	36.3±0.5	36.4±0.03	36.1±0.8
16:1	1.02±0.06	1.10±0.05	0.79±0.2
18:0	16.1±0.5	16.6±0.4	17.0±1.4
18:1	11.6±0.2	11.7±0.1	11.0±0.5
18:2 (n-6)	8.71±0.21 ^{b3)}	8.10±0.30 ^b	10.7±0.79 ^a
18:3 (n-3)	0.75±0.04	0.76±0.02	0.75±0.05
18:4	1.04±0.04 ^{ab}	0.97±0.05 ^b	1.28±0.11 ^a
20:4 (n-6)	17.3±0.5 ^a	16.9±0.38 ^a	14.3±1.08 ^b
22:6 (n-3)	0.46±0.06	0.47±0.04	0.40±0.03
20:4 / 18:2 ratio	2.00±0.05 ^a	2.11±0.05 ^a	1.41±0.21 ^b

¹⁾ Amount of alloxan (mg/kg BW) injected to rats.
²⁾ Mean±SD of 6 to 8 rats per group.
³⁾ Values with different superscript letters in the same row are significantly different at p<0.05.

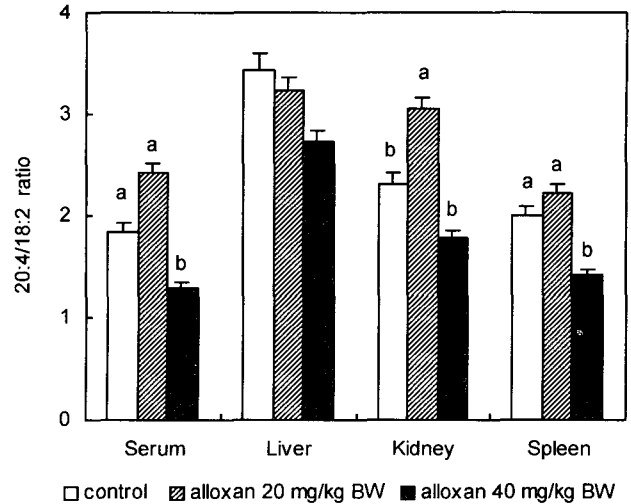


Fig. 1. Arachidonic/linoleic acid ratios of fatty acid compositions on various tissues. Values not sharing a common superscript letter are significantly different (p<0.05).

서 대체적으로 낮은 추세이며 특히 혈청과 비장에서 현저하게 저하되었다. 이로 인하여 insulin 부족으로 각 조직의 인지질에서 지방산의 desaturation이 억제되었음이 확인되었다. 이와같은 desaturation의 억제는 arachidonic acid를 전구체로 생합성되는 prostaglandin 생산의 불균형을 초래할 수 있으며 또한 insulin 부족으로 인하여 혈청의 지질이 증가되는 경향을 함께 고려해 볼 때 당뇨병으로 인한 지질대사의 이상으로 합병증이 유도됨을 추정할 수 있었다.

요 약

당뇨병의 합병증 중 지질대사성 질환으로 유도되는 대사 경로를 규명하고자 6주령의 흰쥐(Sprague-Dawley) 24마리를 3군으로 나누어 4주간 chemical pure diet로 사육하였다. 당뇨병을 유발하고자 alloxan을 20 mg/kg BW 또는 40 mg BW를 매주 1회 투여하였다. 혈당치를 측정하여 당뇨증상을 확인하였으며 혈청 및 간의 지질수준과 각 조직의 지방산 조성을 측정하여 당뇨병에 의한 지질대사의 변화를 비교 검토하였다. Alloxan 40 mg 투여군에서 심한 당뇨병 유발로 체중감소가 크게 나타났으며, 식이섭취량과 간중량/100 g BW도 다른 군에 비하여 유의적으로 높았다. 혈당의 변화는 alloxan 40 mg/kg BW 투여한 군이 다른 군에 비해 약 2배 정도 높게 나타나 당뇨병이 유발되었음을 확실하게 알 수 있었다. 혈청지질에서 cholesterol 함량은 alloxan 40 mg/kg BW 투여한 군에서 다른 군보다 다소 증가된 경향을 보였다. Triglyceride도 역시 alloxan 투여군에서 높은 경향으로 나타났다. 혈청 HDL-cholesterol은 군간의 유의적인 차이가 없었으며 HDL-/total cholesterol 비율도 군간에 유의적인 차이는 없었으나, 다른 군보다 alloxan 40 mg/kg BW를 투여한 군이 다소 높은 경향이였다. 간 지질에서 cholesterol 함량은

alloxan 40 mg/kg BW 투여군이 다른 군에 비해 유의적으로 낮았다. Triglyceride 함량은 군간에 유의적인 차이가 없었다. 각 조직의 인지질 지방산 조성을 보면 alloxan 40 mg/kg BW 투여군에서 lionleic acid는 증가하고 반면 arachidonic acid는 감소되어 그 결과 arachidonic/linoleic acid의 비율이 낮은 경향을 보였으며 특히 혈청과 비장에서는 그 경향이 뚜렷하여 유의적인 차이를 나타냈다. 이상의 결과를 종합하면, 당뇨병이 유도된 흰쥐에서 간의 중량 및 혈청의 지질이 증가되었고, 조직의 인지질에서 desaturation이 억제되었으므로 그로 인하여 지질대사에 관련된 합병증이 유도되는 것으로 판단되었다.

문 헌

1. Yoon JY, Lee JH, Lee YC, Lee HC, Huh KB. 1997. Visceral fat accumulation and the fatty acid composition of serum phospholipids in middle-aged woman with different degrees of glucose tolerance. *J Korean Diabetes Assoc* 21: 444-456.
2. Pelikanova T, Kohout M, Valek J, Base J, Kazdova L. 1989. Insulin secretion and insulin action related to the serum phospholipid fatty acid pattern in healthy men. *Metabolism* 38: 188-192.
3. Poisson JP. 1985. Comparative in vivo and in vitro study of the influence of experimental diabetes in rat liver linoleic acid $\Delta 6$ - and $\Delta 5$ -desaturation. *Enzyme* 34: 1-14.
4. Padly FB, Podmore J. 1985. *The role of fats in human nutrition*. Academic Press, London. p 23-34.
5. Clark DL, Hamel FG, Queener SF. 1983. Changes in renal phospholipid fatty acids in diabetes mellitus: Correlation with changes in adenylate cyclase activity. *Lipids* 18: 696-705.
6. 최영길, 이태희, 신순현, 김영설. 1998. 당뇨병성 혈관합병증 진단과 치료. 도서출판 한의학, 서울. p 69-86.
7. Stevens MJ, Feldman EL, Greene DA. 1995. The etiology of diabetic neuropathy: The combined roles of metabolic and vascular defects. *Diabetic Med* 12: 1566-1579.
8. Kim DM. 1998. Diabetic angiopathy and vascular adhesion molecule. *J Korean Diabetes Assoc* 22: 19-22.
9. American Diabetes Association: 1989. Role of cardiovascular risk factors in prevention and treatment of macrovascular disease. *Diabetes Care* 12: 573-579.
10. Roh MR. 1986. Studies on the serum lipoprotein in diabetes. *MS Thesis*. Ewha Woman Univ. p 19-22.
11. Kramer-Guth T. 1997. Structural and compositional modifications of diabetic low-density lipoproteins influence their receptor-mediated up-take by hepatocytes. *Eur J Clin Invest* 27: 460-468.
12. Georgopoulos A, Phair RD. 1991. Abnormal clearance of postprandial Sf 100-400 plasma lipoproteins in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Lipid Res* 32: 1133-1141.
13. Tomkin GH, Owens D. 1991. Abnormalities of cholesterol metabolism in diabetes. *Proc Nutr Soc* 50: 583-589.
14. Kim JY, Kim MS, Kim JM, Park JH, Lee JH, Yang SW, Chung DJ, Chung MY, Lee TH. 1998. Lipoprotein(a) level and vascular complications in NIDDM. *J Korean Diabetes Assoc* 22: 65-73.
15. American Institute of Nutrition. 1977. Report of AIN ad hoc Committee on Standard for Nutrition Studies. *J Nutr* 107: 1340.
16. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
17. Sperry WM, Webb M. 1950. A revision of the Schoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J Biol Chem* 187: 97-106.
18. Fletcher MJ. 1968. A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin Chim Acta* 22: 393-397.
19. Wada M, Sugano M. 1972. The practical methods for utilization of thin-layer chromatography to the analysis of glycerolipids from animal tissues. *Sci Bull Fac Agric Kyushu Univ* 26: 505-516.
20. Morrison WR, Smith LM. 1964. Preparation of fatty acid methylesters and dimethylacetyls from lipids with Boron Fluoride-methanol. *J Lipid Res* 5: 600.
21. Chung YH. 1991. Delta 6 desaturase activity and fatty acid composition in experimental diabetic rats. *PhD Dissertation*. Seoul Nat'l Univ. p 25-66.
22. Hwang HS. 1985. Effect of Ca^{2+} -antagonists on alloxan-induced diabetes. Master theses of Chonbug Nat'l Univ. p 4-6.
23. Okubo M. 1996. Hypertriglyceridemia and low HDL cholesterol in Japanese patients with NIDDM. *Diabetes* 45 (Suppl 3): 123-125.
24. Taskinen MR. 1992. Quantitative and qualitative lipoprotein abnormalities in diabetes mellitus. *Diabetes* 41 (Suppl 2): 12-17.
25. Yoon JY, Song YD, Lee JH, Park EJ, Kim SM, Lim HS, Lee HC, Huh KB. 1995. Effect of different levels of carbohydrate and fat intake on glucose and lipid metabolism in patients with NIDDM. *J Korean Diabetes Assoc* 19: 208-218.
26. Min YK. 1985. HDL subfractions in diabetes. Master theses of Seoul Nat'l Univ. p 6-8.
27. Reilly FD. 1985. Innervation and Vascular pharmacodynamic of the mammalian spleen. *Experientia* 41: 187-192.
28. Zuniga ME, Lokesh BR, Kinsella JE. 1987. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acid alter lipid composition and decrease prostaglandin synthesis in rat spleen. *Nutr Res* 7: 299-306.

(2004년 3월 31일 접수; 2004년 8월 30일 채택)