

# n-3 고도불포화 지방산 수준을 달리한 식이가 Streptozotocin 으로 유발된 당뇨쥐의 대사에 미치는 영향

김태숙 · 최은진 · 조용계

동아대학교 식품영양학과

## Dose-Response Effects of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids Supplement on the Metabolism of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Kim, Tae-Suk · Choi, Eun-Jin · Joh, Yong-Gae

*Dept. of Food and Nutrition, Dong-A University*

(Received May, 20, 1992)

### ABSTRACT

This study was aimed to observe dose-response effects of squid liver oil enriched in n-3 polyunsaturated fatty acids(n-3 PUFA) on the metabolism of streptozotocin(STZ)-induced diabetic rats. In this experiment, 24 STZ-induced diabetic male rats of Sprague Dawley strain were divided into 4 groups and fed for 4 weeks with basal diet(0%), 33%, 67% and 100% squid liver oil(SLO) of total fat content, and 6 normal rats were fed with 0% SLO diet at the same time. The results obtained were as follows :

1. Rat group fed with 33% SLO diet showed the least body weight loss and changes in blood glucose, while ones of 100% SLO diet showed the highest level.
2. Serum total protein and ratio of albumin to globulin of all the groups were below the standard level, but did not show significantly different among diet groups.
3. Serum creatinine concentration of all the groups were stayed within normal range, but BUN were 3 to 4 times higher than normal rats. BUN concentration of rats fed with 0% and 33% SLO diet was significantly lower than those of others.
4. Total-cholesterol level of serum increased in all the groups except 33% SLO diet, but since HDL-chol. levels and TG concentration went up with an increase of SLO in the diets, the ratio of HDL-chol. to total-chol. of rats fed with 67% and 100% SLO diet showed higher than those with 0% and 33% SLO, and TG concentration of rats fed with 67% and 100% SLO diet decreased significantly.

### I. 서 론

당뇨병에 있어서 가장 빈도수가 높고 중요한 합병

증은 혈관장애라고 할 수 있는데, 이것은 심근경색 그리고 동맥경화증과 같은 대혈관장애와 망막증 및 신장해 등을 중심으로한 세노혈관증으로 나눌 수 있다.

그런데 n-3 polyunsaturated fatty acids(n-3

PUFA)는 plasma lipids 특히 hepatic triglyceride (TG)와 apoprotein 합성을 방해함으로써 혈중 TG를 낮추어 주고, cyclooxygenase와 lipoxigenase 활동을 방해하여 platelet와 macrophage에 의한 thromboxane A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>)와 leukotriene B<sub>4</sub>(LTB<sub>4</sub>) 등의 eicosanoid 합성을 저하시켜서 혈소판의 응고를 막아 주고 eicosanoid 대사를 억제시켜 줌으로써 동맥경화증의 발병을 지연시키거나 진행을 억제시켜 혈전증과 같은 혈관질환을 최소화하는 데 중요한 역할을 한다는 것이 많은 연구들에 의해 이미 밝혀졌다.<sup>1-3)</sup>

그런데 당뇨병에 있어서의 중요한 대사 변화의 하나로 plasma와 tissue lipid의 fatty acids 구성의 비정상화를<sup>4-6)</sup> 들 수 있는데, 이 n-3 PUFA가 당뇨병 혈관장해를 예방하거나 지연시킬 수 있는가에 대한 여러 연구들이 행해졌다.

어떤 연구들은 n-3 PUFA가 platelet function, eicosanoid형성, plasma TG 그리고 혈압에 유익한 효과가 있는 것으로 나타난<sup>7)</sup> 반면, 또 다른 연구에서는 plasma glucose, glycosylated Hb, plasma total cholesterol과 LDL-cholesterol 그리고 apolipoprotein B(apo-B)의 증가를 나타낸다는 반대 효과에 대한 발표도 있었다. 그러나 이러한 변화의 크기는 10~30% 정도로 적은 것이었으며, total cholesterol과 LDL-cholesterol이 변화하지 않았고 apo-B level도 당뇨병이 아닌 환자에게서도 나타났기 때문에 반드시 당뇨병에 특이하지 않은 것으로 본다.<sup>8-10)</sup> 그리고 plasma glucose와 glycosylated Hb 수치는 식이요법이나 경구투약, insulin요법으로 충분히 조절되어질 수 있으므로, n-3 PUFA가 꼭 나쁜 영향을 미친다고 할 수 없으나 그 가능성 또한 배제할 수 없다. 그런데 이 나쁜 영향을 주는 연구는 한 연구를 제외하고는 대량투여 즉, 4~10g/day를 했을 때 나타난 것으로, 이 양은 생선 100g당 1.2g 이상의 n-3 PUFA가 포함되었다고 보면 하루 330~830g의 생선을 먹는 양이기 때문에 실제적으로 섭취하기는 매우 힘이 든다.

20여년간 역학적인 조사를 한 연구에서 하루 30g이상 생선을 꾸준히 먹어주면 coronary heart disease 예방 효과(발병을 50% 이하)가 나타나는 것으로 되어있다.<sup>11)</sup>

따라서 본 연구에서는 Streptozotocin(STZ)으로 유발된 당뇨 쥐에서 균형된 식이(탄수화물 55%, 단

백질 15%, 지방 30%의 열량비)를 제공할 때 차지하는 일정한 지방함량 중 n-3 PUFA가 풍부한 오징어 간유를 총 지방함량의 0%(대조군), 33%, 67% 그리고 100%로 차등을 두어 섭취시켰을 때 어느 함량을 포함한 식이군이 가장 효과가 좋은가를 혈청을 중심으로 조사하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험동물

Sprague Dawley계 수컷의 rat 30마리(평균 170g)를 구입하여 일반 고형 사료로 한 달동안 키워 몸무게가 평균 330g이 되었을 때, 그 중에서 24마리는 STZ를 citrate buffer soln.(pH 4.5)에 용해하여 50mg/kg을 꼬리정맥으로 주사한 후 9일째 공복시 혈당(FBS)이 평균 325±28mg으로 당뇨병이 유발되었음을 확인하였고 10일째 되는 날 당뇨쥐를 혈당 및 체중이 평균이 되게 4 group으로 나누어서 11일째 되는 날부터 실험식을 4주간 주었다. 나머지 6마리는 당뇨를 유발하지 않은 정상적인 쥐로서 오징어간유를 포함하지 않은 기본식으로 사육하였다.

### 2. 실험식이

#### 1) 시료 오징어간유 만들기 및 지방산분석

오징어의 간을 분리한 다음 마쇄하여 CHCl<sub>3</sub>와 MeOH 혼합용액(2:1, V/V)으로 추출하여 CHCl<sub>3</sub> 용매로 3회 반복 추출하여 여과한 후 1% NaCl 용액을 가하여 수용성 물질을 제거하고 CHCl<sub>3</sub>층만을 모아 rotary vacuum evaporator 및 진공 decicator를 이용하여 용매를 제거한 후 실험유지로 사용하였다. 시료의 지방산 분석은 총 지질의 일부를 10% KOH-ethanol을 사용하여 상법에 따라 80℃에서 1시간 동안 질소기류하에서 가수분해한 다음 지방산염층을 얻고 이것을 1N HCl로 산성화시킨 후 증류수로 중성이 되게 수세하여 rotary vacuum evaporator로 ether를 제거하고 얻어진 지방산에 14% BF<sub>3</sub>-methanol을 넣어 65℃에서 30분간 가열하면서 methyl-ester화한 후 TLC로 확인하고 GLC로 분석하였다.

#### 2) 실험식이 만들기

실험식이 구성은 전형적인 당뇨식의 형태로 총 열량의 55%는 carbohydrate, 15%는 protein 그리고

나머지 30%는 fat로 했다(식이무게 비는 corn starch 60%, casein 15%, fat 15%, vitamin mix. 1%, mineral mix. 4% 그리고 cellulose 5%로 구성).

그 중에서 차지하는 fat함량 중 오징어간유가 전혀 들어있지 않고 lard와 옥수수유만을 준 group을 대조군으로 하고, 나머지를 오징어간유를, 총지방 함량의 33%, 67% 그리고 100%의 3단계로 구분하여 각각을 Diet 1, Diet 2 그리고 Diet 3으로 정했다. 당뇨를 유발하지 않은 정상적인 쥐는 대조군과 같이 오징어 간유가 들어있지 않은 식이를 주었다(Table 1과 2).

실험식은 하루 20g/마리를 기준으로 3일량씩 식이별로 반죽하여 일정한 크기로 만든 다음 3등분 하여 냉동보관 후 해동하여 주었다.

### 3. 실험방법

#### 1) 체중증가량과 식이섭취량 측정

식이섭취량은 매일, 체중은 5일마다 일정시각에 측정하였고 식이섭취로 인한 갑작스런 체중 변화를 방지하기 위해서 측정 6시간 전에 절식시켰다.

#### 2) 채혈 및 채뇨

혈당측정을 위해 매주 공복시 혈당을 꼬리정맥으로 채혈하였고 실험식이 종료 후 18시간 절식시킨 다음 ethylether로 마취시켜 심장에서 채혈한 후 15분간

Table 1. Composition of experimental diets g/kg·diet

|                               | Control Normal  | Diet 1           | Diet 2            | Diet 3            |
|-------------------------------|-----------------|------------------|-------------------|-------------------|
| Corn starch <sup>1)</sup>     | 600             | 600              | 600               | 600               |
| Casein <sup>2)</sup>          | 150             | 150              | 150               | 150               |
| Vitamin mixture <sup>3)</sup> | 10              | 10               | 10                | 10                |
| Salt mixture <sup>4)</sup>    | 40              | 40               | 40                | 40                |
| Cellulose <sup>5)</sup>       | 50              | 50               | 50                | 50                |
| Lard                          | 100             | 50               | 30                | 0                 |
| Fat Corn oil                  | 50              | 50               | 20                | 0                 |
| Squid oil                     | 0* <sup>1</sup> | 50* <sup>2</sup> | 100* <sup>3</sup> | 150* <sup>4</sup> |

1) 미원: 한국

2) North Western Cooperative Co.: 호주

3) AIN-76 Vit. Mix.: 일본

4) AIN-76 Mineral Mix.: 일본

5) Sigma Co. Ltd.

\* 1 : 0% squid liver oil of total fat contents.

\* 2 : 33% squid liver oil of total fat contents.

\* 3 : 67% squid liver oil of total fat contents.

\* 4 : 100% squid liver oil of total fat contents.

냉장보관하였다가 2,500rpm으로 serum을 원심분리 하였다. 노는 채혈직후 방관에서 직접 뽑았다.

#### 3) 혈액분석

Total-cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, blood glucose, total-protein, albumin, BUN과 creatinine측정 및 뇨단백의 측정은 생화학 자동분석기인 Beckman-Astra 8(U. S. A.)를, 혈청 ALT와 AST는 COBAS-MIRA(ROCHE Co. Swiss)를 이용하여 분석 하였다.

#### 4. 통계처리

실험결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었고, 각 군

Table 2. Fatty acid composition of total lipids of the diets used in the experiments(area % as methylester)detergents

| Fatty acid                           | Control Normal | Diet 1 | Diet 2 | Diet 3 |
|--------------------------------------|----------------|--------|--------|--------|
| C <sub>14:0</sub>                    | 0.9            | 2.3    | 3.9    | 5.4    |
| C <sub>16:0</sub>                    | 21.1           | 16.2   | 14.7   | 12.1   |
| C <sub>16:1</sub>                    | 1.7            | 2.9    | 4.6    | 6.1    |
| C <sub>16:2</sub>                    | 0              | 0.3    | 0.7    | 1.0    |
| C <sub>17:0</sub>                    | 0              | 0.2    | 0.3    | 0.4    |
| C <sub>18:0</sub>                    | 8.9            | 5.0    | 3.3    | 0.9    |
| C <sub>18:1</sub>                    | 38.0           | 28.0   | 22.2   | 15.1   |
| C <sub>18:2</sub>                    | 27.5           | 24.5   | 12.2   | 2.7    |
| C <sub>18:3</sub>                    | 1.2            | 1.1    | 0.9    | 0.8    |
| C <sub>18:4</sub>                    | 0              | 0.8    | 1.6    | 2.4    |
| C <sub>18:4</sub> +C <sub>20:0</sub> | 0              | 1.6    | 3.2    | 4.8    |
| C <sub>20:1</sub>                    | 0              | 1.5    | 3.0    | 4.5    |
| C <sub>20:2</sub>                    | 0              | 0.5    | 1.0    | 1.5    |
| C <sub>20:5</sub> (EPA)              | 0              | 6.4    | 12.8   | 19.2   |
| C <sub>22:1</sub>                    | 0              | 0.6    | 0.1    | 1.8    |
| C <sub>22:6</sub> (DHA)              | 0              | 5.0    | 10.1   | 1.5    |
| Others                               | 0.4            | 2.2    | 4.2    | 6.2    |
| Total                                | 99.7           | 100.0  | 98.8   | 100.0  |
| SFA*                                 | 30.9           | 23.7   | 22.2   | 18.8   |
| PUFA                                 | 28.7           | 39.5   | 39.3   | 42.7   |
| P/S                                  | 0.9            | 1.7    | 1.8    | 2.3    |
| n-6 PUFA                             | 27.5           | 25.4   | 12.2   | 2.7    |
| n-3 PUFA                             | 1.2            | 13.3   | 25.4   | 37.5   |

\* SFA(S) : Saturated fatty acid.

PUFA(P) : Polyunsaturated fatty acid

간의 평균치에 대한 유의성은 분산분석 후 5% 수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

### III. 실험 결과 및 고찰

#### 1. 체중증가량과 식이섭취량 및 식이효율

체중증가량, 식이섭취량과 식이효율은 Table 3에 나타내었고 5일마다 측정된 체중 변화는 Fig. 1에 나타내었다.

당뇨병이 유발된 후의 수분 섭취량은 당뇨병의 3대

Table 3. Body weight gain, feed intake and feed efficiency ratio of rats fed the experimental diets for 4 weeks

|         | Net weight gain | Feed intake/day           | F.E.R |
|---------|-----------------|---------------------------|-------|
|         | g               | g                         | *     |
| Normal  | 45              | 10.9 ± 2.8 <sup>d1)</sup> | 0.15  |
| Control | -57             | 13.0 ± 0.8 <sup>bc</sup>  | -0.12 |
| Diet 1  | -40             | 15.9 ± 1.1 <sup>a2)</sup> | -0.09 |
| Diet 2  | -45             | 13.7 ± 2.1 <sup>a</sup>   | -0.15 |
| Diet 3  | -60             | 13.4 ± 1.6 <sup>ab</sup>  | -0.16 |

\* F.E.R. : Net weight gain/ total feed intake

1) Mean ± S. D. (n=6)

2) Means in the same column not sharing a common superscript letters are significantly different (p < 0.05).

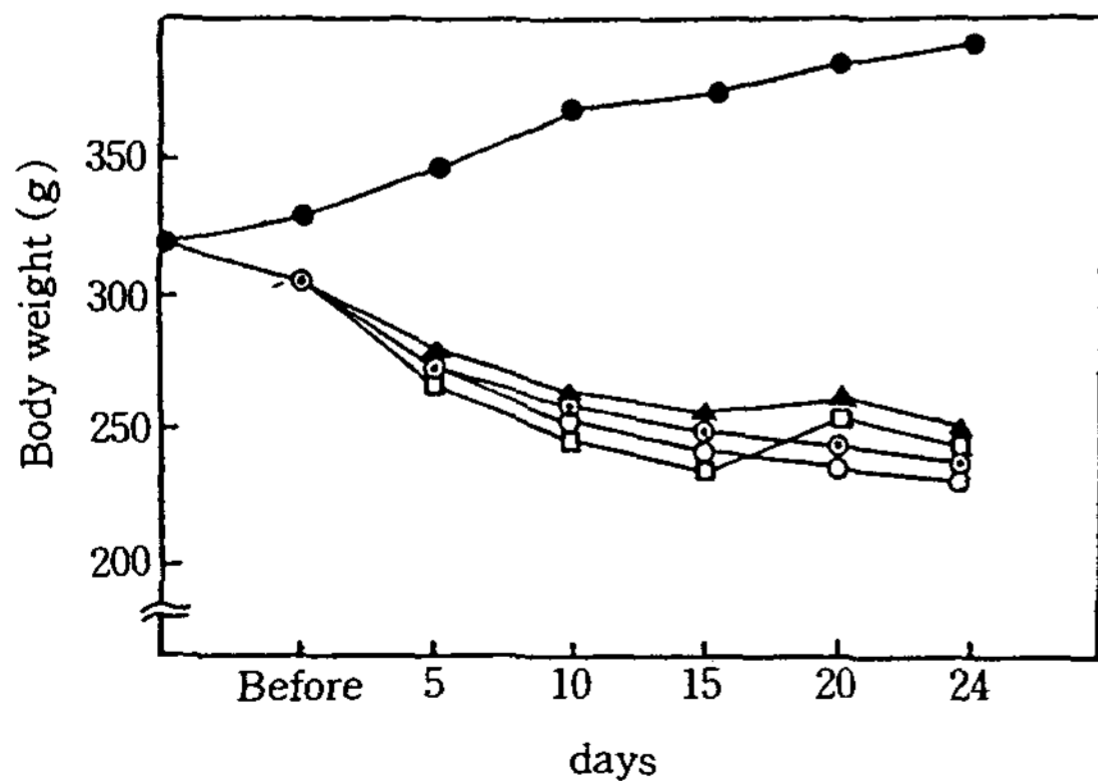


Fig. 1. Body weight changes of rats fed the experimental diets for 4 weeks.

● : Normal                      ○ : Control  
 ▲ : Diet 1                      □ : Diet 2  
 ⊙ : Diet 3

특징인 다음, 다식, 다뇨에서처럼 정상적인 쥐가 하루 40ml 정도 섭취하는데 비해 당뇨병이 유발된 쥐들은 약 2배 이상인 90~100ml 정도의 수분을 섭취하였고, 이에 비례하여 소변량도 배가 되었다.

식이 섭취량 또한 모든 실험군들이 정상적인 쥐에 비해 섭취하는 식이량도 유의적으로 더 많이 섭취하는 것으로 나타났는데 당뇨쥐들간에 있어서는 오징어 간유가 첨가된 Diet 1군, 2군 그리고 3군에 있어서 간유 투여량이 많을수록 섭취량도 감소를 보이거나 유의적이지는 않았으며, 대조군도 Diet 3군과 같이 낮은 섭취를 보이는 것으로 미루어 볼 때 오징어 간유의 특이한 냄새에 의한 식욕 저하와는 관계가 없는 듯하였다.

체중의 변화는 식이 섭취량과 비례해서 Diet 1군이 제일 감소율이 낮았고, 다음으로 Diet 2군, 대조군 그리고 Diet 3군의 순이었다.

#### 2. Blood Glucose

STZ 주사후 10일째 되는 날 혈당 농도를 측정하여 실험식이 전날의 측정치로 잡고 매주마다 혈당농도를 측정하여 그 변화를 Fig. 2에 표시하였다.

실험식이 실시 후 첫째주에는 전 군들에게서 혈당이 저하되었고 둘째주에서는 Diet 3군에서 약간의 상

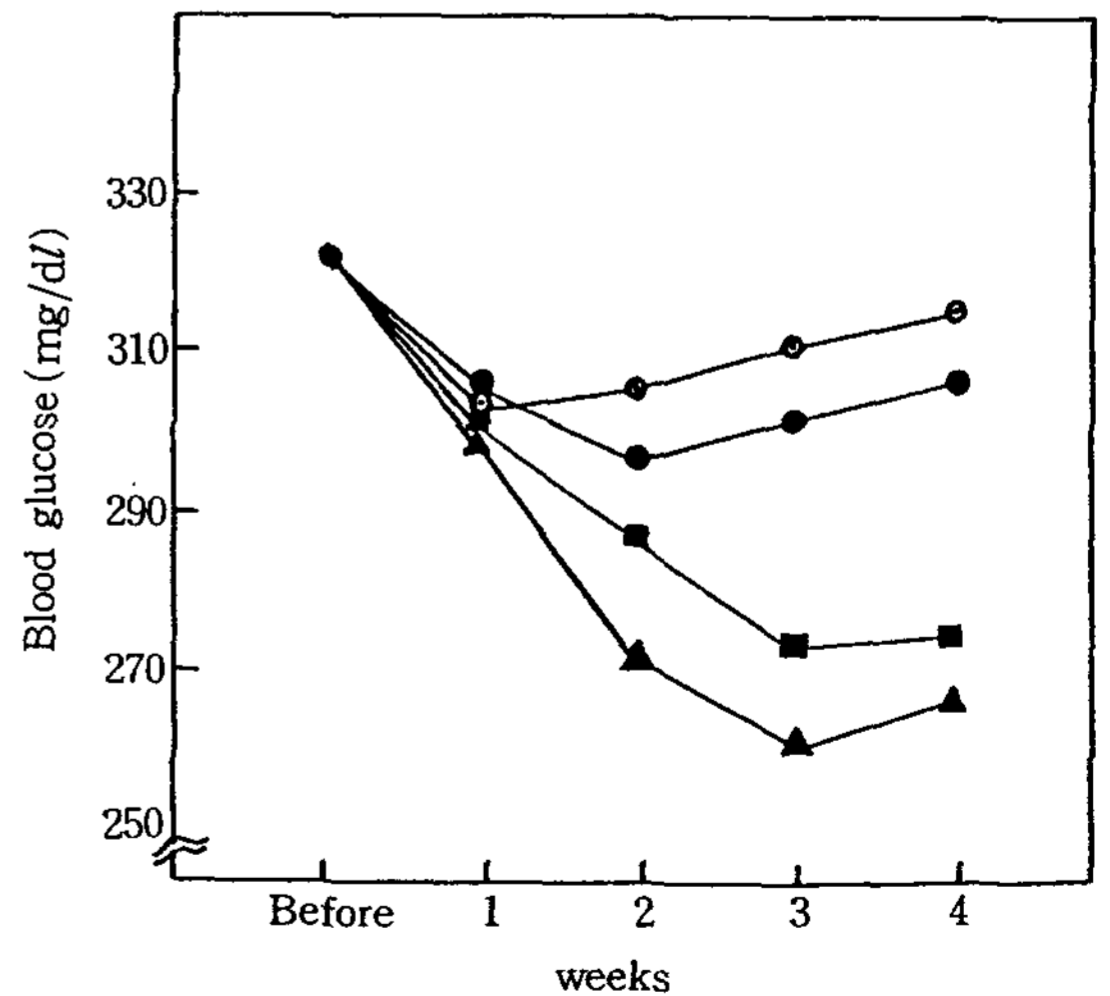


Fig. 2. Blood glucose changes of rats fed the experimental diets for 4 weeks.

● : Control                      ■ : Diet 2  
 ▲ : Diet 1                      ⊙ : Diet 3

승이 있었으나 나머지 세 군들은 저하됨을 나타냈는데 특히 Diet 1군은 다른 세 군들에 비해 유의적으로 저하되었다. 세째주에서는 Diet 3군과 마찬가지로 대조군도 상승을 나타냈고 네째주에서는 Diet 1군과 Diet 2군에서 약간의 혈당이 상승됨을 볼 수 있었다. 첫째주에서 모든 혈당이 내려간 것은 10일간 당뇨가 유발되는 과정에서의 식이(고형사료 성분: 조단백질 25%, 조지방 5%, 탄수화물 70%)에서 당뇨식을 기준으로 한 균형된 식이를 섭취함으로써 어느 정도 수정이 된 듯하다.

오징어 간유가 첨가되지 않은 대조군이나 모든 지방을 오징어 간유로만 사육시킨 Diet 3군에 비해서 Diet 1군과 Diet 2군에서 혈당이 4주째 약간의 상승이 있지만 결과적으로 유의적으로 낮았다. 여기에서 볼 때 fish oil을 과량(4~6g/day) 투여했을 때 FBS와 Glycosylated Hb농도에 아무런 영향이 없었다는 연구<sup>10-12)</sup>에서와 같이 지방을 오징어 간유만 준 식이인 Diet 3군에서는 아무런 좋은 영향을 미치지 않고 조금 더 낮은 투여량 즉, Diet 1군과 Diet 2군이 훨씬 혈당 조절에 효과가 있음을 알 수 있다.

### 3. 혈청중의 albumin, globulin 그리고 총 단백질량의 농도 및 albumin과 globulin의 비율

총 단백질량에 있어서 모든 식이군이 정상수준 즉,  $6.68 \pm 0.29 \text{g/dl}$  이하로 떨어져 있었고 당뇨쥐들 간에는 Diet 1군이 비록 유의적인 차이는 없었지만 가장 수치가 높았다(Table 4).

Table 4. Concentraions of albumin, globulin and total protein and albumin/globulin ratio in serum of rats fed the experimental diets for 4 weeks

|         | Albumin<br>g/dl     | Globulin<br>g/dl    | Total protein<br>g/dl | A/G      |
|---------|---------------------|---------------------|-----------------------|----------|
| Normal  | $2.8 \pm 0.2^{a1)}$ | $3.8 \pm 0.3^{a2)}$ | $6.6 \pm 0.3^a$       | $0.74^a$ |
| Control | $2.3 \pm 0.2^b$     | $3.5 \pm 0.3^b$     | $5.8 \pm 0.4^{bc}$    | $0.70^b$ |
| Diet 1  | $2.5 \pm 0.3^a$     | $3.6 \pm 0.2^{ab}$  | $6.1 \pm 0.4^b$       | $0.69^b$ |
| Diet 2  | $2.4 \pm 0.2^a$     | $3.5 \pm 0.3^b$     | $6.0 \pm 0.2^b$       | $0.71^b$ |
| Diet 3  | $2.4 \pm 0.3^b$     | $3.5 \pm 0.4^b$     | $5.9 \pm 0.4^{bc}$    | $0.69^b$ |

1) Mean  $\pm$  S. D. (n=6)

2) Means in the same column not sharing a common superscript letters are significantly different (p < 0.05).

혈청 albumin은 Diet 1군과 Diet 2군이 대조군과 Diet 3군에 비해 유의적으로 높았으나 정상 쥐에 비해서는 모두 유의적으로 낮았다.

albumin과 globulin과의 비율을 비교해 볼 때 A/G의 정상수치인  $0.75 \pm 0.3^{13)}$  수준보다 유의적으로 작았는데, 식이군간에는 유의적인 차이가 없었다. 특히, 유의적인 차이는 없지만 Diet 1군과 Diet 3군이 A/G 비율이 가장 낮은 것으로 나타났다. 여기에서 볼 때 보통 albumin 수치가 떨어지는 것은 단백섭취가 적을 때, 노와 조직액 체강중에 단백질이 빠져나갈 때, 또 plasma량이 증가할 때 등<sup>16)</sup>인데 당뇨병에 있어서는 혈당이나 그 밖의 당질의 대사 이상, cholesterol, 유리지방산 등의 지질대사 이상과는 달리 단백질대사에는 명확한 것을 인정할 수 없는 경우들이 많으므로<sup>15-17)</sup>, 이 실험에서는 노단백 손실로 인한 albumin과 globulin 저하라고 추정하며, 따라서 A/G의 비율도 감소되었을 것이라고 생각된다.

### 4. 혈청 BUN creatinine농도

신기능 장애의 지표로서 BUN과 혈청 creatinine 함량을 동시에 측정비교해 보는데 실험 결과는 Table 5에 나타내었다.

Creatinine함량은 모든 군들에서는 유의적인 차이가 없이 정상범위인 0.6~1.2mg/dl내에 분포하고 있는 것과는 반대로 BUN은 정상쥐에 비해 당뇨쥐의 경우 3~4배로 높아져 있는 것을 볼 수 있다. BUN이 20~60mg/dl 정도일 때는 protein 과잉섭취나 굶었다든지, 저열량식 혹은 당뇨성 acidosis, 중증의 간질

Table 5. Concentraions of BUN and creatinine in serum of rats fed the experimental diets for 4 weeks

|         | BUN<br>mg/dl          | Creatinine<br>mg/dl   |
|---------|-----------------------|-----------------------|
| Normal  | $13.0 \pm 2.51^{d1)}$ | $0.65 \pm 0.06^{a2)}$ |
| Control | $44.3 \pm 5.2^{bc}$   | $0.62 \pm 0.05^a$     |
| Diet 1  | $44.3 \pm 2.2^c$      | $0.65 \pm 0.17^a$     |
| Diet 2  | $52.8 \pm 5.7^a$      | $0.61 \pm 0.08^a$     |
| Diet 3  | $50.5 \pm 5.2^{ab}$   | $0.60 \pm 0.14^a$     |

1) Mean  $\pm$  S. D. (n=6)

2) Means in the same column not sharing a superscript letters are significantly different (p < 0.05).



환, 고열, 악성종양 등으로 인한 과잉생산에 의하든지, 탈수에 의한 혈액의 농축, 그리고 신기능 장애로 인한 BUN의 배설장애 등을 들 수 있는데<sup>18)</sup> creatinine의 수치가 모두 정상 범위내에 있고 충분한 수분 공급을 해주었기 때문에 신기능 장애와 탈수에 의해 BUN 수치가 올라갔다기 보다는 당뇨에 의한 acidosis에 의한 것이라고 할 수 있겠다.

그런데 대조군과 Diet 1군이 유의적으로 Diet 2군과 Diet 3군에 비해서 BUN수치가 낮음을 알 수 있다.

5. 뇨단백(Urinary protein)의 농도

실험식이 투여한 지 4주 후의 뇨단백량은 Diet 1군이 다른 세 군들보다 유의적으로 낮은 수치를 보였으며 대조군이 가장 뇨단백량이 많았고 그 다음 Diet 3군, 그리고 Diet 2군의 순서로 많았다(Table 6).

Table 6. Concentraions of total protein in urine of rats fed the experimental diets for 4 weeks

|         | Urinary protein             |
|---------|-----------------------------|
|         | mg/dl                       |
| Normal  | 26.25 ± 2.63 <sup>c1)</sup> |
| Control | 84.75 ± 6.02 <sup>a2)</sup> |
| Diet 1  | 73.75 ± 5.85 <sup>b</sup>   |
| Diet 2  | 80.33 ± 4.69 <sup>ab</sup>  |
| Diet 3  | 82.15 ± 6.03 <sup>a</sup>   |

1) Mean ± S. D. (n=6)

2) Means in the same column not sharing a common superscript letters are significantly different (p < 0.05).

당뇨병일 때 단백뇨가 나타나는 것은 diabetic nephropathy의 초기 표시가 됨으로서<sup>19)</sup> protein이 누출이 된다는 것 자체는 직접적 혹은 간접적으로 사구체가 손상된 것을 나타낸다는 것을 고려해 볼 때<sup>20)</sup> 단백뇨를 관리하는 것이 당뇨신증을 예방하는 데 중요한 역할을 한다고 할 수 있다.

그런데 일년간 엄격한 혈당 조절을 한 결과 단백뇨 조절에 그다지 효과가 없었고<sup>21)</sup> 고혈압을 조절하는 것이 물론 중요할 뿐더러<sup>22)</sup> Thromboxane Synthetase 저해제를 썼을 때도 효과가 있다는 연구가 있었다.<sup>23)</sup>

최근 연구에서는 EPA ethylester를 당뇨쥐와 당뇨

환자에게 4주간 투여 했을 때 proteinuria농도를 낮추어 주는 데 효과가 있었다는 연구가 있었다.<sup>24, 25)</sup>

본 실험에서도 오징어 간유를 주지 않은 대조군에 비교해서 오징어 간유가 투여된 식이군들에게서 유의적으로 낮았는데, 33% 수준으로 급여한 Diet 1군에서 가장 현저한 효과가 나타났다.

6. Total-cholesterol 및 HDL-cholesterol과 그 비율

Total-cholesterol은 Diet 1군만 제외하고는 대조군 2군 그리고 3군에서 정상에 비해 높은 증가를 나타냈으나, 식이군간에는 유의적인 차이는 없었다 (Table 7).

Table 7. Concentrations of total-cholesterol, HDL-cholesterol and total-cholesterol/HDL-cholesterol ratio in serum of rats fed the experimental diets for 4 weeks

|         | Total-chol.               | HDL-chol.                 | $\frac{\text{HDL-chol.}}{\text{Total-chol.}} \times 100$ |
|---------|---------------------------|---------------------------|--|
|         | mg/l                      | mg/l                      | %  |
| Normal  | 73.8 ± 5.1 <sup>b1)</sup> | 24.5 ± 2.1 <sup>b2)</sup> | 32.2 ± 1.5 <sup>ab</sup>                                 |
| Control | 88.8 ± 4.9 <sup>a</sup>   | 24.9 ± 2.3 <sup>ab</sup>  | 30.3 ± 1.9 <sup>a</sup>                                  |
| Diet 1  | 85.0 ± 7.4 <sup>a,b</sup> | 27.2 ± 4.5 <sup>a</sup>   | 32.0 ± 2.5 <sup>a</sup>                                  |
| Diet 2  | 90.3 ± 3.8 <sup>a</sup>   | 29.8 ± 2.7 <sup>a</sup>   | 33.0 ± 0.7 <sup>b</sup>                                  |
| Diet 3  | 91.8 ± 8.4 <sup>a</sup>   | 31.2 ± 3.6 <sup>a</sup>   | 34.2 ± 1.4 <sup>b</sup>                                  |

1) Mean ± S. D. (n=6)

2) Means in the same column not sharing a common superscript letters are significantly different (p < 0.05).

혈청 cholesterol농도는 심장병, 동맥경화증, 고지혈 등과 같은 심장순환계 질환과 밀접한 관계가 있으며 이것은 유전적인 요인과 식이지질의 양과 종류에 의해 영향을 받는데, 특히 고도불포화 지방산은 cholesterol 농도 저하효과가 큰 것으로 알려져 있고<sup>26-28)</sup>, Peifer<sup>29)</sup> 등의 연구에서 n-3 PUFA가 혈청 cholesterol 농도를 낮춘다고 하였다. 그러나 당뇨병이 있는 경우 정상에 비해 혈청 cholesterol이 상승되어 있는 경우가 훨씬 많이 있는데 그 평균치로 볼 때 상승률은 그리 크지 않으며, 이 상승의 원인으로서는 간에서의 cholesterol 생합성의 이상에 의하기 보다 당뇨병일 때는 cholesterol로 부터 담즙산에로의 전환장애에 의

한 당뇨병성 고cholesterol혈증을 일으킨다고 하는 것<sup>30)</sup>과 같이, 본 실험에서도 정상쥐에 비해 cholesterol 수치가 월등히 높지는 않으나 유의적인 차이를 보였다.

HDL-cholesterol 농도는 오징어 간유의 투여량과 비례해서 상승됨을 알 수 있다. 이것은 식이생선유(dietary-fish oil)가 정상적인 지혈증(normolipidemic)인 사람이나 고지혈증(hyperlipidemic)을 가진 사람을 대상으로 투여했을 때 모두에게서 HDL-cholesterol 농도를 높여준다는 임상연구와 일치하며<sup>31-33)</sup>, 투여량 차이에 관한 연구로 그 정도의 차이는 섭취량에 비례해서, 즉 4g의 fish oil을 주었을 때 고지혈증 환자에게서 HDL-cholesterol 농도 차는 유의적이지 못했으나 7.5g을 주었을 때는 유의적으로 증가되었다는<sup>34)</sup> 연구에서처럼 HDL-cholesterol 농도는 Diet 4군쪽이 제일 높았다.

한편, HDL-cholesterol은 말초 조직으로부터 cholesterol을 운반하고 LDL-cholesterol이 혈관벽에 축적되는 것을 방지할 뿐 아니라 혈관벽에 축적된 cholesterol을 제거함으로써 동맥경화를 억제한다고 하였다.<sup>35)</sup> 따라서 total-cholesterol에 대한 HDL-cholesterol 농도의 비율이 높을수록 혈관장해에 대한 억제 효과가 있다고 할 수 있겠는데 오징어 간유가 첨가된 식품군에게서 전혀 급여되지 않은 식품군(대조군)보다 높게 나타나 있다.

Diet 2군과 3군이 total-cholesterol이 비록 높았으나 total-cholesterol과 HDL-cholesterol의 비율면에서는 대조군과 1군보다 유의적으로 높은 것을 볼 때 오징어 간유 함유량이 많을수록 당뇨쥐의 혈청지질 개선에는 효과가 있는 것으로 사료된다.

### 7. 혈청 triglyceride(TG) 및 phospholipid농도

당뇨병이 유발된 모든 쥐들의 TG와 phospholipid의 농도는 거의 비슷한 양상을 나타내었는데, 정상쥐에 비해 TG의 농도는 2~3배, 그리고 phospholipid는 약 2배 높은 것으로 나타났고, 당뇨쥐들간에 있어서는 오징어 간유가 전혀 들어있지 않는 대조군이 월등히 높았고 오징어 간유가 포함되어 있는 실험식이에서는 오징어 간유의 함유량에 비례해서 유의적으로 저하되었다. 당뇨병에서 특히 혈중 TG가 높아지는 것은 고혈당에 의한 기질의 압력에 의해 해당체가 진

행되어 glycerol-phosphate생성이 증대되고, 또 조직 안에서 insulin의 상대성 부족으로 활성이 증대된 hormone sensitive lipase(HSL)에 의한 지방조직의 TG분해가 촉진되어 유리지방산(FFA)이 혈중으로 다량 방출된 것이 간으로 유입된 후 glycerol-phosphate와 결합하여 TG생성이 증대되고 lipoprotein lipase(LPL)의 활성이 저하되어 혈중 TG를 처리하여 지방조직내로 옮기는 과정이 억제되기 때문이다.<sup>30)</sup> 말초동맥질환(peripheral-arterial disease)에 미치는 fish oil 복용효과에 대한 연구 즉, Max EPA(15 g/d) 복용시 plasma TG를  $2.01 \pm 0.98 \text{ m.mol/l}$ 에서  $1.46 \pm 0.79 \text{ m.mol/l}$ <sup>36)</sup>으로 낮추었고 고지혈증을 가진 혈액투석환자에게 연어 기름을 하루 24g씩 복용시켰을 때 혈청 TG를 현저히 저하시켰고<sup>37)</sup>, 당뇨환자에게 있어서 특히 고지혈증과 각종 동맥경화와 같은 혈관 장해에 효과가 있다는 연구<sup>38)</sup>들이 많이 있었다. 그중에서 특히 fish oil이 NIDDM 환자들의 platelets의 fatty acid를 변화시키고 혈청 TG를 낮추어 준다는 연구에서처럼, 본 실험에서도 혈청 TG가 내려갔으며, Blonk 등의 연구<sup>39)</sup>에서 혈청 TG는 fish oil 투여량 차이에 대한 효과, 즉 capsule당 300mg EPA와 200mg DHA가 포함된 것을 복용했을 때 3, 6, 9 capsule로 양을 늘릴수록 혈청 TG가 낮아지는 것과 일치했으나 정상에 도달하지는 못했다. Phospholipid의 농도도 Himazaki 등이 연구<sup>37)</sup>한 EPA를 다량 함유한 생선유를 섭취한 사람에게서 phospholipid의 감소현상과 유사하게 나타났다.

Table 8. Concentraions of phospholipid and TG in serum of rats fed the experimental diets for 4 weeks

|         | Phospholipid          | Triglyceride          |
|---------|-----------------------|-----------------------|
|         | mg/dl                 | mg/dl                 |
| Normal  | $117.5 \pm 7.6^{b1)}$ | $83.3 \pm 4.4^{d2)}$  |
| Control | $243.5 \pm 17.9^a$    | $229.0 \pm 14.6^a$    |
| Diet 1  | $185.8 \pm 5.9^b$     | $202.2 \pm 18.7^{ab}$ |
| Diet 2  | $172.5 \pm 16.3^b$    | $184.2 \pm 9.4^{bc}$  |
| Diet 3  | $160.3 \pm 8.4^c$     | $162.5 \pm 8.5^c$     |

1) Mean  $\pm$  S. D. (n=6)

2) Means in the same column not sharing a superscript letters are significantly different (p<0.05).

8. AST(GOT)와 ALT(GPT) 활성도 측정

AST와 ALT는 keto acid와 amino acid간의 amino기를 교환 촉매하는 효소로서 간 질환 및 담도 질환, 특히 급성 간염의 경우에 현저히 상승하는데, AST는 심근경색 때 증가하고 ALT는 간 질환 진단에 더 유용하게 사용된다.

본 실험에서는 AST의 경우, 당뇨쥐가 정상쥐에 비해서 2.8~3.5배 정도 상승을 보였고, 당뇨쥐들간에는 비록 유의적인 차이는 없으나 Diet 2군이 가장 낮은 수준을 보였으며, ALT는 당뇨쥐들이 정상쥐에서 비해 2.0~2.8배 정도 상승을 나타냈는데 대조군과 1군이 Diet 2군과 3군에 비해 유의적인 상승을 나타냈다 (Table 9).

Table 9. Effects of aspartate aminotransferase(AST) and alanine aminotransferase(ALT) activity from serum of rats fed the experimental diets for 4 weeks

|         | AST(GOT)                  | ALT(GPT)                   |
|---------|---------------------------|----------------------------|
|         | U/I                       | U/I                        |
| Normal  | 43.0 ± 3.9 <sup>b1)</sup> | 23.3 ± 4.8 <sup>c 2)</sup> |
| Control | 145.0 ± 13.2 <sup>a</sup> | 67.3 ± 9.0 <sup>a</sup>    |
| Diet 1  | 142.0 ± 14.3 <sup>a</sup> | 61.3 ± 7.9 <sup>a</sup>    |
| Diet 2  | 136.3 ± 18.5 <sup>a</sup> | 44.5 ± 8.2 <sup>b</sup>    |
| Diet 3  | 139.8 ± 14.1 <sup>a</sup> | 50.5 ± 8.1 <sup>b</sup>    |

1) Mean ± S. D. (n=6)

2) Means in the same column not sharing a superscript letters are significantly different (p<0.05).

심근경색시는 AST는 100~500 U/I 정도 상승하고, 간질환 때는 ALT는 급성 경우 500~5,000 U/I를 나타내며 만성인 경우는 그 절반 정도인데<sup>14)</sup> ALT는 실험군들 사이에는 대조군과 Diet 1군에서 유의적인 상승을 보이나 간질환을 나타낼 만한 수치는 아니며, AST는 130~150 U/I 정도이므로 심근경색을 나타낼 수준은 아니지만 경계수치라 할 수 있는데 오징어 간유의 수준에 따라 유의적이진 않으나 낮아짐을 볼 수 있다.

IV. 결 론

STZ로 유발된 당뇨쥐에게 전형적인 당뇨식이에 n-

3 PUFA가 풍부한 오징어 간유를 차등을 두고 사육했을 때 당뇨쥐의 대사에 미치는 영향을 알아보고자, 당뇨식이중에 차지하는 총 지방함량중의 0%(대조군과 정상쥐), 33%, 67% 그리고 100%의 오징어 간유를 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐에게 4주간 사육한 결과는 다음과 같다.

1. 오징어 간유 33% 식이군이 체중감소와 혈당상승이 가장 낮은 반면 100% 식이군이 제일 높았다.

2. 혈청의 총단백량과 albumin 대 globulin의 비율(A/G비)은 모든 식이군이 정상수준보다 낮았으나 식이군간에는 유의적인 차이는 없었다.

3. 모든 식이군의 혈청 creatinine 농도는 정상범위 내에 있었으나 BUN은 3~4배 높았는데 33% 식이군이 다른 식이군에 비해 유의적으로 낮았고, 노단백량도 33%와 67% 식이군이 다른 두 식이군에 비해 유의적으로 낮았다.

4. Total-chol.은 33% 식이군만 제외하고는 정상보다 유의적인 증가를 보였으나 HDL-chol.과 혈청 TG는 오징어 간유 투여량에 비례해서 증가를 나타내므로 total-chol. 대 HDL-chol.비율은 오히려 67%와 100% 식이군이 높게 나타났고, 혈청 TG수치에 있어서도 대조군은 월등히 높는데 비해 67%와 100% 식이군이 유의적으로 낮았다.

5. AST와 ALT활성은 정상쥐에 비해 2.8~3.5배와 2.0~2.8배의 상승을 각각 보였으나 실험식이군들 간에는 AST활성은 유의적인 차이는 없었고 ALT활성은 대조군이 오징어 간유가 함유된 식이군들에 비해 유의적인 상승을 나타내었다.

문 헌

1. R. Ross, *N. Engl. J. Med.*, 314, 488(1986)
2. J. E. Kinsella, *Am. J. Cardiol.*, 60, 23(1987)
3. A. Leaf and P. C. Weber, *N. Engl. J. Med.*, 318(1988)
4. M. G. Eck, J. O. Wynn, W. J. Carter, and F. H. Fass, *Diabetes*, 28, 479(1979)
5. F. H. Fass and W. J. Carter, *Lipids* 15, 953 (1980)
6. Y. S. Huang, D. F. Horrobin, M. S. Manku, J. Mitchell, and M. A. Ryan, *Lipids*, 19, 367



- (1984)
7. M. J. Albrink, I. H. Ullrich, N. G. Blehshmidt, P. Mike, and J. S. Rogers, *Diabetes*, 35 (1), 43A(1986)
  8. K. E. Friday, M. Childs, C. Tsunehara, W. Y. Fujimoto, E. L. Bierman, and J. W. Ensink, *Diabetes*, 36(1), 12A(1987)
  9. J. Glauber, P. Wallace, K. Griver, and G. Brechtel, *Ann. Int. Med.*, 108, 663(1988)
  10. G. Schetman, S. Kaul, and A. H. Kassebah, *Diabetes*, 37, 1567(1988)
  11. D. Kromhout, E. B. Bosschieter, and C. del Coulander, *N. Engl. J. Med.*, 312, 1205(1985)
  12. A. P. Haines, and T. A. B. Sanders, *Thromb. Res.*, 43, 643(1986)
  13. 細谷憲政, 印南敏, 五島教郎, 小動物を用いる 榮養實驗, 第一出版, 東京, 202~208(1980)
  14. 이삼열, 정윤섭, 임상병리검사법, 연세대학교 출판부, 서울, 322~328(1983)
  15. A. Caristen, B. Hallgren, R. Jagewberg, A. Svanborg, and L. Werko, *Acta, Med. Scand*, 179, 316(1966)
  16. P. Felig, P. Marliss, E. Marliss, and G. F. Jr. Cahill, *N. Engl. J. Med.*, 281, 811(1969)
  17. H. H. Zinneman, F. Q. Nattall, and F. C. Goetz, *Diabetes*, 15, 5(1986)
  18. 이창규, 임상화학, 대한서림, 서울, 322~328(1985)
  19. J. S. Christian, A. R. Anderson, J. K. Anderson, and T. Deckert, *Diabetic Nephropathy*, 4, 104(1988)
  20. J. R. Williamson, and C. Kilo, *Diabetets*, 26, 65(1977)
  21. B. H. Rasmussen, E. R., Mathiessen, L. Hegedus, and T. Dekert, *N. Engl. J. Med.*, 314, 655(1986)
  22. C. K. Christensen, and C. E. Mogensen, *Diabetic Nephropathy*, 4, 34(1985)
  23. A. H. Barnett, K. Wakelin, B. A. Leatherdale, J. R. Britton, A. Polak, J. Benett, M. Toop, D. Rowe, and K. Dallinger, *Lancet*, 1, 1322(1984)
  24. M. Kujikawa, K. Yamazaki, S. Sawazaki, H. Taki, M. Kaneda, M. Urakase, S. Yano, and T. Fujita, *Lancet* 1, 1322(1989)
  25. T. Hamazaki, E. Takazakura, K. Osawa, M. Urakase, and S. Yano, *Lipids*, 24, 765(1989)
  26. B. S. Nancy. Baker, P. R. Illigworth, P. Alaupovic, W. E. Conner, and E. E. Sundurg, *Am. J. Clin. Nutr.*, 37, 355(1983)
  27. R. Reiser, J. L. Probstfield, and A. Silver, *Am. J. Clin. Nutr.*, 42, 190(1985)
  28. C. S. Ramesha, R. Paul, and J. Garguly, *J. Nutr.*, 110, 2149(1980)
  29. J. J. Peifer, F. Janssen, R. Muesing, and W. O. Lunberg, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 39, 292(1965)
  30. 김응진, 당뇨병학, 일조각, 서울, 59~65(1985)
  31. T. A. B. Sanders and M. C. Hochland, *Br. J. Clin. Prac.*, 38, 73(1984)
  32. T. A. B. Sanders and F. Roshanai, *Clin. Sci.*, 64, 91(1983)
  33. T. O. von Losonczy, A. Ruitter, H. C. Bronsgeest-Schoute, C. M. von Gent, and R. J. J. Hermuss, *Am. J. Clin. Nutr.*, 31, 1340(1978)
  34. G. Schetman, S. Kaul, and A. Kissbach, *Diabetes*, 36(1), 12(abstr)(1987)
  35. D. G. Oakenfull, D. E. Fenwick, R. L. Hood, D. L. Topping, R. J. Illman, and G. B. Storer, *Br. J. Nutr.*, 42, 209(1979)
  36. B. E. Woodcock, E. Smith, and W. H. Lambert, *Br. Med. J.*, 288, 592(1984)
  37. T. Hamazaki, R. Nakasawa, and S. Tateno, *Kidney Int.*, 26, 81(1984)
  38. M. Laakso, K. Pyorala, H. Sarlund, and E. Voutilainen, *Arteriosclerosis*, 6, 670(1986)
  39. M. C. Blonk, H. J. G. Bilo, J. J. P. Nauta, C. Popp-Snijders, C. Mulder, and A. J. M. Donker, *Am. J. Clin. Nutr.*, 152, 120(1990)