

식이 지방의 종류가 흰쥐의 노화 과정 중 신장 기능에 미치는 영향

김화영 · 이선주 · 정현주*

이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과, 연세대학교 의과대학 병리학교실*

Effect of Different Types of Dietary Fat on Renal Functions in Aged Rats

Kim, Wha Young · Lee, Sun Ju · Jeong, Hyeon 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 effect of different dietary fat sources on renal senescence in aged rats. Seventeen month old male Sprague-Dawley rats were divided into 3 groups according to urinary protein excretion. Four month old rats were used as a control group. The rats were fed one of three different experimental diets : 20% beef tallow, 20% corn oil, 20% fish oil diet. They were fed experimental diets ad libitum for 16 weeks. The results are summarized as follows. Serum lipid concentrations were higher in aged rats than in control rats, with the beef tallow group showing the highest level, followed by the corn oil and fish oil groups. Old rats showed higher HDL and lower LDL levels than the control groups. Age and dietary fat had no effect on VLDL. GFR for the both age groups were increased with experimental period with the beef tallow group showing the highest value. Urinary protein excretion was also increased with experimental period in both age groups. There was a large increase in urinary protein in old rats that were fed beef tallow and corn oil, but not in old rats fed fish oil. On the contrary, the effect of dietary fat on urinary protein was not found in control groups. There was individual susceptibility in the effect of dietary fat on urinary protein. Old rats fed beef tallow with high initial urinary protein showed highest increases, but, the change was not significant in rats with a low initial value. It was also found that the increase was kept low in rats of the fish oil group with high initial urinary protein. The corn oil group showed in between values. There were no differences in urine and renal tissue concentrations of TXB₂. Aged rats showed a tendency of having higher urinary PGE₂ excretion and lower renal cortex content. Since higher PGE₂ excretion was reported to be associated with decreased renal function, this might suggest that the aged rats show renal function reduction. Light microscopic examination showed that glomerular segmental sclerosis, mesangial matrix expansion and tubular atrophy were more frequently present in aged rats, and that these changes were more significant in the beef tallow group, followed by corn oil and fish oil groups. The percentage of urinary protein excretion was increased in aged rats in association with increased glomerular sclerosis and mesangial matrix. This change could be partly due to a change in

eicosanoids metabolism. Therefore, modification of dietary fat could affect the eicosanoids metabolism in kidney and renal senescence. (*Korean J Nutrition* 31(3) : 253~262, 1998)

KEY WORDS : dietary fat source · renal senescence · urinary protein · eicosanoids metabolism · glomerulosclerosis.

서 론

신장은 나이가 증가함에 따라 그 기능이 감퇴되어 퇴행성 변화를 일으키는 대표적인 기관이다. 나이가 증가하면 신장내 기능하는 신원수가 감소하고 사구체 기저막과 보우만 주머니의 기저막이 두꺼워지며 사구체간질 확장 등의 신장의 구조적 변화가 일어난다. 이러한 구조적인 이상은 사구체 손상의 원인이 되고 단백뇨, GFR의 감소, 신혈류 감소 등의 신장 기능 이상을 수반하게 된다¹⁾.

신장 기능에 영향을 미치는 요인으로는 고혈압, 당뇨, 약물 및 식이등이 있는데 이중 식이 요인과 신장 기능이 밀접한 관계가 있다고 지적되고 있다²⁾. 그동안 식이 단백질과 인의 제한이 신장의 고여과를 억제해 신장기능의 손상 및 질병을 호전시킨다는 가설과 연관되어 많이 연구^{3,4)} 되어져 왔고, 또한 최근에는 식이내 지방구성이 신장 기능에 미치는 영향에 대한 연구가⁵⁾ 이루어지고 있다. 특히 지방산의 조성이 다른 여러 가지 식이 지방을 공급할 경우 신장 조직 내의 eicosanoids 대사와 혈청 지질 대사를 변화시켜 신장 기능에 영향을 미친다는 가설이^{7,8)} 대두되고 있다. 이 중 n-3계와 n-6계 지방산이 신장 기능과 관련되어 연구되고 있으며 특히 n-3 지방산이 eicosanoids 대사를 변화시켜 신장에 유익한 영향을 미친다고 보고^{6,9)}되고 있다.

따라서 본 연구에서는 지방산의 구성이 다른 우지, 옥수수유, 어유를 첨가한 실험식으로 17개월령인 늙은 쥐와 4개월령인 대조군을 16주간 사육하여 지방의 종류가 지방 대사와 노화에 따른 신장 기능의 변화에 미치는 영향을 살펴보았다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물의 사육 및 식이

본 연구의 실험 동물은 Sprague-Dawley종의 수컷 흰 쥐로 12개월령의 것을 구입(서울대 보건대학원)해 17개월령이 될 때까지 고형배합사료(삼양사료)로 사육하여 노화쥐의 모델로 사용하였고, 3개월령의 쥐를 구입하여 4개월령이 될 때까지 고형배합사료로 사육하여

노화쥐의 대조군으로 사용하였다. 이들이 각각 17개월령과 4개월령이 되었을 때 24시간동안 뇨를 채취하여 노단백질을 분석한 뒤 노단백질의 배설량에 따라 각 나이에 난괴법(Randomized-block design)에 의해 9마리씩 3군으로 나누어 지방의 종류를 달리한 식이로 16주간 사육하였다.

실험 식이는 지방 급원으로 포화 지방산이 풍부한 우지(beef tallow, 롯데 삼강), n-6 지방산의 급원인 옥수수 기름(corn oil, 제일 제당)과 DHA를 비롯한 n-3 지방산이 다량 함유된 DHA-rich 어유(fish oil : 탈취한 참치유, 풀무원 제공)를 사용하였고, 식이 지방 함량은 식이 무게의 20%로 하였다. 실험 식이의 탄수화물과 단백질 함량은 각각 60%와 15%로 하였으며 무기질과 비타민은 American Institute of Nutrition의 식이 조성¹⁰⁾을 참고하였다(Table 1). 실험 기간 중 산패되기 쉬운 어유식은 3일에 한 번씩 제조하여 공급하였고, 나머지 식이는 한달에 한 번씩 제조하여 -25℃에서 보관하여 사용하였다. 실험 기간 동안 흰쥐는 한 마리씩 분리하여 사육하였고 물과 식이는 제한없이 공급하였다.

2. 시료의 채취 및 신장의 저리

노는 16주의 사육 기간 동안 4주마다 24시간 동안의 뇨를 수집하였다. 이 때 식이에 의해 뇨 성분이 오염되는 것을 막기 위해 식이 그릇을 대사장에 넣어 주지 않았고 이미 보고된 방법¹⁰⁾과 같이 뇨를 채취하였다. 혈액은 뇨 채취가 끝난 날 실험 동물을 본래의 사육장에 넣어 식이를 섭취하도록 한 뒤 4시간이 지난 후에 에틸에테르(ethyl ether)로 마취시켜 안정맥(ophthalmic venous plexus)에서 채혈하여 혈청을 얻은 후 이것을 분석시까지 냉동 보관하였다.

사육 기간이 끝난 후 흰쥐를 12시간 동안 굶긴 후에 에틸에테르(ethyl ether)로 마취하고 단두하여 혈액을 채취해 혈청을 얻어 분석시까지 냉동 보관하였다. 혈액의 일부는 eicosanoids의 분석을 위해 따로 처리하였는데, 아라키돈산(arachidonic acid)이 eicosanoids로 대사되는 것을 막기 위해서 혈청 400μl 당 EDTA 용액(2g disodium EDTA+0.8g NaCl/1 H₂O, pH 7.4)과 0.04M indomethacin용액(500mg indomethacin/35

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

	Beef tallow diet	Corn oil diet	Fish oil diet
Corn starch	600	600	600
Casein	150	150	150
Beef tallow	200		
Corn oil		200	
Fish oil ³⁾			200
Salt mixture ¹⁾	35	35	35
Vitamin mixture ²⁾	10	10	10
Choline chloride	2	2	2
DL-methionine	3	3	3

1) AIN Salt mixture(g/kg mixture) : Calcium phosphate, dibasic(CaHPO₄ · 2H₂O) 500.0, Sodium chloride(NaCl) 74.0, Potassium citrate, monohydrate(K₃C₆H₅O₇ · H₂O) 220.0, Potassium sulfate(K₂SO₄) 52.0, Magnesium oxide(MgO) 24.0, Manganous carbonate(43-48%Mn) 3.5, Ferric citrate(16-17% Fe) 6.0, Zinc carbonate(70% ZnO) 1.6, Cupric carbonate(53-55% Cu) 0.3, Potassium iodate(KIO₃) 0.01, Sodium selenite(Na₂SeO₃ · 5H₂O) 0.01, Chromium potassium sulfate [CrK(SO₄)₂ · 12H₂O] 0.55, Sucrose, finely powdered to make 1,000

2) AIN Vitamin mixture(mg/kg mixture) : Thiamin · HCl 600, riboflavin 600, Pyridoxine · HCl 700, Nicotinic acid(Nicotinamide is equivalent) 3,000, D-Calcium pantothenate 1,600, Folic acid 200mg, D-Biotin 20, Cyanocobalamin(Vitamin B₁₂) 1, Retinyl palmitate or acetate(Vitamin A) As stabilized powder to provide 400,000 IU vitamin A activity, DL-α-Tocopherol acetate(Vitamin E) As stabilized powder to provide 5,000 IU vitamin E activity, Cholecalciferol 2.5(100,000 IU) Menadione 5, Sucrose, finely powdered to make 1,000

3) Fish oil was kindly supplied by Pulmuone. Fatty acid composition was as follows(%)

- Beef Tallow - C14 : 0(2.4), C16 : 0(20.4), C16 : 1(2.1), C18 : 0(18.9), C18 : 1 n-9(41.1), C18 : 2 n-6(5.8), C18 : 3 n-3(0.9), Unknown(8.4)
- Corn oil - C16 : 0(12.0), C18 : 0(1.3), C18 : 1 n-9 (25.7), C18 : 2 n-6(58.4), C18 : 3 n-3(0.8), Unknown(8.4)
- Fish oil - C14 : 0(3.97), C16 : 0(19.26), C16 : 1(6.25), C18 : 0(5.02), C18 : 1 n-9(15.02), C18 : 2 n-6(1.42), C18 : 3 n-3(0.85), C20 : 4 n-6(1.90), C20 : 5 n-3(5.70), C22 : 5 n-6(2.94), C22 : 6 n-3(27.21)

ml absolute ethanol)을 각각 38μl와 2μl씩 넣은 뒤 잘 섞어서 즉시 -70℃에 보관하였다. 혈액을 채취한 후 즉시 신장을 떼어내서 무게를 측정하고 얼음 위에서 피질과 수질로 분리한 뒤 신장 조직의 eicosanoids 분석용과 조직 검사용으로 나누어 처리하였다.

신장 조직의 eicosanoids 분석을 위해서는 오른쪽 신장을 피질과 수질로 분리하여 각각 200mg씩 떼어내어 2ml phosphate buffered saline(PBS)으로 균질

화시켰다. 이것을 37℃에서 30분동안 배양시킨 후 차가운 아세톤(acetone)을 가하여 2,500 rpm에서 10분동안 원심 분리시킨 후 상층의 aqueous-acetone phase를 제거하고 중간층은 분석시까지 냉동 보관하였으며, pellet도 조직 내 단백질 측정을 위해 증류수 1ml를 첨가하여 분석시까지 냉동 보관하였다¹¹⁾

신장조직 검사를 위해 각 실험군에서 무작위로 5마리씩을 선택하여 왼쪽 신장의 일부를 떼어 내어 10% 포르말린 용액에 보관하였다. 이와 같이 10% 포르말린 용액에 고정시킨 신장 조직을 파라핀(paraffin)에 포매하여 microtome으로 4μm두께로 연속 절편한 뒤 hematoxylin-eosin과 periodic acid-Schiff stain 하여 광학현미경으로 관찰하였다. 조직의 처리 및 모든 판독은 맹검법으로 같은 병리학자에 의해 행해졌으며 그 결과는 -, +, ++, +++의 순으로 조직의 손상된 정도를 나타내었다.

3. 생화학적 분석

혈청의 총지방량은 Frings법¹²⁾에 의해 측정하였고 총 콜레스테롤량은 Zak법¹³⁾에 의하여 측정하였으며 혈청의 중성 지방량은 Biggs¹⁴⁾의 방법을 이용하여 비색정량하였다. 혈청 지단백은 전기영동(polyacrylamide gel electrophoresis(PAGE))¹⁵⁾에 의해 지단백의 분획상을 얻어 densitometer(Pharmacia LKB Ultrosan XL)로 얻어진 densitogram에 따라 상대적인 지단백의 농도를 구했다.

사구체 여과율을 구하기 위해서 크레아티닌 제거율(creatinine clearance)을 측정하였다. 뇨의 크레아티닌(creatinine) 함량은 Folin의 방법¹⁶⁾에 의해, 혈청의 크레아티닌 농도는 Folin and Wu의 방법¹⁶⁾을 이용하여 520nm에서 비색정량하였다. 뇨 단백질 함량은 Lowry의 방법¹⁷⁾을 이용해 750nm에서 비색정량하였다.

Eicosanoids 중에서 신장 기능 혹은 신장병과 관련된 있는 것으로 보고되고 있는 것들은 thromboxane A₂(TXA₂), prostaglandin I₂(PGI₂), prostaglandin E₂(PGE₂) 등 인데^{18,19)} 본 연구에서는 TXA₂와 PGE₂의 농도를 신장의 피질과 수질, 뇨에서 측정하였다. 이 중 TXA₂는 반감기가 짧아 측정하기 어렵기 때문에 생리적으로 안정된 대사물질인 thromboxane B₂(TXB₂)를 측정하여 TXA₂ 생성량의 지표로 사용하였다. TXB₂와 PGE₂의 농도는 enzyme immunoassay(EIA) kit (Amersham)을 사용하여 측정하였으며 신장 조직 내의 TXB₂와 PGE₂를 나타내기 위한 pellet의 단백질은 Lowry¹⁷⁾법을 이용하여 뇨단백질 함량 분석법과 동일한 방법으로 정량하였다.

4. 자료의 처리

모든 실험 결과는 평균치와 표준 오차로 나타내었고 각 실험군의 평균치들 간의 유의성 검증은 ANOVA로, 그 다음 평균값 간의 차이는 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 분석하였다. 나이와 식이 지방의 종류에 따른 영향을 $\alpha=0.05$ 수준에서 two-way ANOVA로 분석하였고, 나이와 식이 지방의 종류, 사육 기간에 의한 영향은 three-way ANOVA를 이용해 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 지질대사

사육기간 16주후에 측정된 혈청 지질 농도는 Table 2와 같았다. 혈청 총 지방의 농도는 나이에 의한 영향이 유의적으로 나타나 늙은쥐에서 높았으며 또한 식이 지방의 종류에 의한 영향도 받아 두 나이군에서 모두 우지군, 옥수수유군, 어유군의 순서로 나타났다. 혈청 중성 지방은 나이와 식이 지방의 종류에 의한 영향이 유의적으로 나타나지는 않았지만 전체적으로 늙은쥐에서 높은 경향을 보였으며 어유 식이를 준 늙은쥐(OY)

의 경우는 대조군과 비슷한 정도로 낮은 수준을 보였다. 혈청 총 콜레스테롤의 농도는 나이에 의한 영향은 보이지 않았으나 식이 지방의 종류에 의한 영향을 받아 두 나이군 모두 어유군에서 낮은 경향을 보였다. 전체적으로 어유가 혈청 지질 농도에 미치는 영향은 늙은쥐에서 더욱 현저하였다.

식이 지방의 종류는 지방의 대사에 영향을 미쳐 포화 지방산의 섭취가 증가하면 혈청 내 중성지방과 콜레스테롤이 증가한다고 보고되고 있으며 본 연구에서도 이와 같이 포화지방산이 많은 우지를 공급한 군에서 혈청 내 총 지방과 중성지방의 농도가 높은 경향을 보였다. 또한 어유 식이가 혈청 중성지방 함량을 낮춘다는 연구 결과²⁰⁾들도 볼 수 있는데 본 연구에서는 이것이 늙은쥐에서만 관찰되어 식이지방의 종류가 혈청 지질 대사에 미치는 영향은 나이에 따라 다른 것으로 보였다. 혈청 총지방의 농도도 어유군에서 가장 낮게 나타났고 이는 늙은쥐에서 더 현저했다.

Table 3에 나타낸 바와 같이 혈청 지단백 분포는 늙은쥐에서는 대조군에 비해 LDL이 높고 HDL이 낮은 결과를 보였다. 지방 종류에 의한 영향은 늙은쥐와 대조군에서 다르게 나타났는데 우지는 늙은쥐에서는 HDL을 낮추고 LDL을 높이는 경향을 보였으나 대조군에서는 반대의 결과를 보여 우지군의 HDL이 가장 높았으며 옥수수유와 어유에 따른 차이는 늙은쥐에서는 찾아볼 수 없었다. 대조군에서는 어유군의 HDL이 가장 낮고 LDL은 높은 경향을 보였고 옥수수유는 우지와 어유의 중간값을 보였다. VLDL의 비율은 나이에 따른 차이는 없었고 두 나이군에서 모두 우지군이 낮았으며 옥수수유, 어유군의 순서를 보였다.

Table 2. Serum lipid concentrations in aged and control rats fed diets containing different source of fat¹⁾

Groups ²⁾	Total lipid (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)
OB	270.2±26.9 ^{ab3)}	118.4±18.7 ^{ab}	89.7±6.4 ^{ab}
OC	232.2±24.3 ^{ab}	120.4±16.3 ^a	107.8±8.8 ^a
OF	151.6± 4.21 ^{cd}	79.2± 3.3 ^{bc}	85.9±4.4 ^{ab}
YB	232.3±13.4 ^{ab}	99.8±16.2 ^{abc}	99.4±9.9 ^a
YC	179.1±30.8 ^{bc}	7.1± 3.3 ^c	87.6±6.9 ^{ab}
YF	101.5± 3.4 ^d	91.9± 7.1 ^{abc}	70.3±6.4 ^b

Significant factor ⁴⁾	A, B	NS	B
----------------------------------	------	----	---

- 1) Mean±S.E.
- 2) OB : 17 month old rats fed beef tallow diet
 OC : 17 month old rats fed corn oil diet
 OF : 17 month old rats fed fish oil diet
 YB : 4 month old rats fed beef tallow diet
 YC : 4 month old rats fed corn oil diet
 YF : 4 month old rats fed fish oil diet
- 3) Values with different alphabet within the columne are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.
- 4) Significant factor
 A : Effect of age was significant at $\alpha=0.05$ by F-test.
 B : Effect of fat source was significant at $\alpha=0.05$ by F-test.
 AB : Interaction of factor A & B was significant at $\alpha=0.05$ by F-test.
 NS : Not significant at $\alpha=0.05$ by F-test.

2. 신장 기능

1) 사구체 여과율

실험 기간 중 4주마다 측정된 뇨 크레아티닌과 혈청 크레아티닌으로 부터 구한 크레아티닌제거율(GFR :

Table 3. Serum lipoprotein distribution¹⁾³⁾

Groups ²⁾	HDL(%)	VLDL(%)	LDL(%)
OB	36.50±1.78	19.00±3.11	44.50±1.94
OC	50.75±3.88	25.50±2.70	23.50±3.74
OF	43.75±2.92	26.50±2.69	28.50±2.04
YB	64.00±3.23	19.63±1.07	16.25±3.13
YC	55.25±5.49	24.13±2.36	20.63±3.20
YF	38.13±2.31	28.88±0.64	33.00±2.10

- 1) Mean±S.E.
- 2) See Table 2
- 3) Effect of age, fat, and interaction of age & fat on serum lipid distribution were significant at $\alpha=0.05$ by MANOVA.

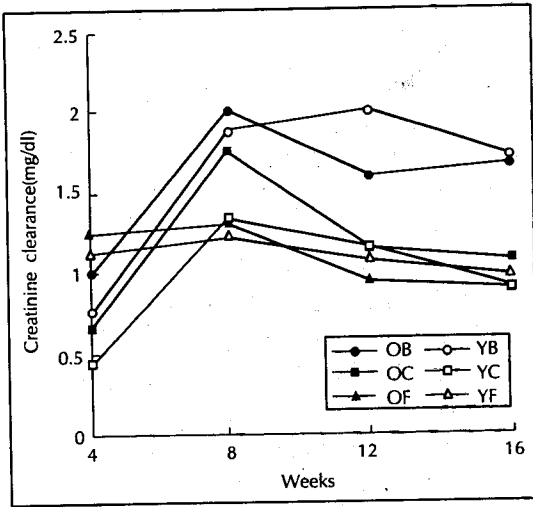


Fig. 1. Sequential changes of creatinine clearance.

사구체 여과율)의 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 사구체 여과율은 실험 초기에는 늙은쥐가 높은 경향을 보였으나 실험 기간이 경과함에 따라 대조군의 사구체 여과율이 증가하여 실험 12주에는 대조군의 사구체 여과율이 늙은쥐에 비해 유의적으로 높았다. 또한 식이 지방의 종류에 의해서도 유의적인 차이를 나타내어 두 나이군 모두 8주부터는 우지를 공급한 군의 사구체 여과율이 높게 나타나고 그 다음으로 옥수수유, 어유를 공급한 군의 순서로 나타났다. 대개 신장 기능이 감소하게 되면 GFR이 감소하는 결과를 보이는 것에 비해 본 실험에서는 어유를 공급한 군의 사구체 여과율이 낮게 나타났으며 우지를 공급한 군에서만 특이하게 높았고 옥수수유와 어유를 공급한 군에서는 일정 수준을 유지하는 것을 볼 수 있었다. 이는 Greöne 등²¹⁾의 식이 지방에 의해 흰 쥐의 뇨단백질 배설량은 단기간에도 변화되지만 크레아티닌 제거율은 단기간의 경우 별다른 차이를 보이지 않았다는 결과와 유사해, 사구체 여과율의 변화를 관찰하기 위해서는 실험 기간이 좀 더 연장되어야 하리라고 사료된다. 또한 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐에서 3~4개월된 어린쥐와 18개월된 쥐의 사구체 여과율이 차이가 없었다는 Baylis 등²²⁾의 연구 결과와 12, 24, 30개월된 Wistar종 암컷 흰쥐에서 사구체 여과율이 나이에 따른 차이가 없다는 보고²³⁾등을 종합해 볼 때, 본 실험 종료시 늙은쥐의 나이인 21개월은 나이 증가로 인한 사구체 여과율의 감소를 보이지 않는 나이로 사료된다. 그러나 사구체 여과율은 대조군에서 나이가 많아질수록 증가하는 경향을 보여 4~8개월의 나이는 사구체 여과율이 계속 증가하는 기간이라고 생각되며 이 결과는 선행 연구⁴⁾와 일치하는 것을 볼 수 있었다.

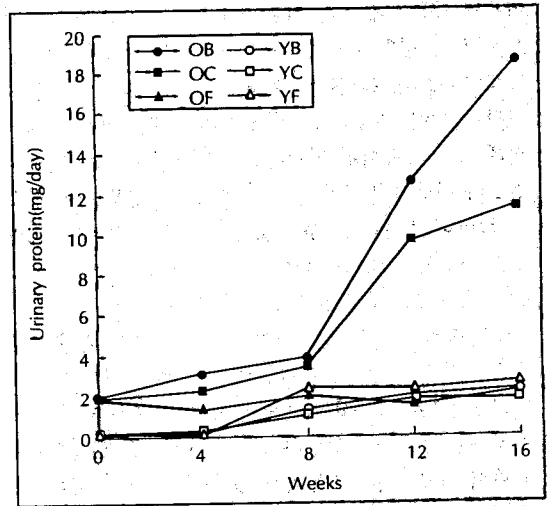


Fig. 2. Sequential changes of urinary protein excretion.

2) 뇨단백질 배설량

실험 기간 16주동안 4주마다 측정된 뇨단백질의 배설량을 Fig. 2에 제시하였다. 실험 시작 전에 측정된 뇨단백은 나이가 많은 17개월된 쥐가 4개월된 쥐보다 유의적으로 높았는데 이러한 경향은 16주간의 전 실험 기간을 통하여 계속 유지되었다. 대조군의 경우 4주까지는 뇨단백이 거의 없었으나 그 이후 약간 증가하였고 어유군(YF)이 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 나이가 많은 쥐는 8주 이후에 뇨단백질 배설량이 급격히 증가하였고 특히 우지군(OB)에서 이러한 현상이 현저하였다. 그러나 어유 식이를 섭취한 늙은쥐(OF)의 뇨단백질 배설량은 전 실험 기간동안 증가하지 않았고 대조군과 비슷한 값을 보였다. 뇨단백질 배설량은 늙은쥐, 대조군에 관계없이 사육 기간이 길어질수록 즉, 나이가 많아질수록 증가하는 경향을 나타냈고 이러한 현상은 늙은쥐에서 더 뚜렷이 나타났다.

본 실험에서는 나이가 증가하면 사구체의 고분자 물질에 대한 투과성이 증대되어 단백뇨가 나타난다는 것을 명백히 볼 수 있었고 식이 지방의 종류에 따라서도 신장 기능 손상의 정도가 달라진다는 것도 관찰할 수 있었다. 즉, 늙은쥐의 경우 우지가 뇨단백질 배설량을 가장 많이 증가시켰고 어유는 뇨단백질의 증가를 억제시키는 효과가 있어 신장기능의 퇴화를 지연시킨다고 볼 수 있었다. 이것은 청어유와 우지로 식이 지방을 변형시켜 실험한 Robinson 등⁸⁾의 결과와 일치하는 것이었다. 그러나 본 연구 결과 중 주목할만한 점은 대조군의 경우에는 늙은쥐와 같은 어유 식이의 효과가 나타나지 않았다는 것이다. 어유의 효과를 관찰할 수 있었던 기존의 연구들은 대부분 신장 절제나 약물 투여²⁴⁾²⁵⁾를

이용해 동물에게 신장 질환을 유도하거나 혹은 유전적으로 신장 질환이 쉽게 유발되는 동물 모델을 사용한 실험^{7b)}이었다. 본 실험에서도 노화라는 요인으로 인해 신장 기능이 손상 혹은 감소된 경우에는 어유 식이에 의해 뇨단백 증가를 억제하는 바람직한 효과를 나타내었으나 신장이 건강한 상태인 대조군의 경우 어유에 의한 특별한 효과를 볼 수 없었던 것으로 사료된다. 그러므로 어유는 질병이나 나이로 인해 신장기능 장애가 있는 경우에 효과적인 것으로 볼 수 있다.

뇨단백질 배설의 개체간 차이를 조사하기 위해 모든 늙은쥐를 실험식에 관계없이 4주째의 뇨단백 정도에 따라 3분위로 나누어 이들의 실험 기간 중의 뇨단백 변화를 Fig. 3에 제시하였다. 실험 식이 공급 후 4주째의 뇨단백 배설량이 제1분위에 속한 쥐 8마리 중 4마리는 우지군(OB), 2마리는 각각 옥수수유군(OC)과 어유군(OF)의 쥐들이었고 제2분위도 제1분위와 같았다. 뇨단백이 가장 낮은 제3분위에는 우지군은 한 마리도 없었고 옥수수유군과 어유군에서 각각 4마리씩이 속해 있었다. 이들의 뇨단백은 전 실험 기간을 통해 각 분위간에 같은 순서를 유지하였고 또한 계속 증가하였다. 제1분위에 속한 쥐들의 뇨단백 배설량은 사육 기간이 경과함에 따라 계속 급격한 증가 추세를 보였으나 제2, 제3분위에 속한 쥐들의 뇨단백 배설량의 증가는 제1분위에 속한 쥐들에 비해 완만한 편이었다.

다음에는 식이 지방의 영향이 초기 뇨단백질 배설량의 정도에 따라 어떻게 다르게 나타나는가를 살펴보았

다. 늙은쥐의 각 실험식이군에서 실험 초기에 뇨단백질 배설량이 높았던 순서대로 가장 높았던 쥐 3마리와 낮았던 쥐 3마리씩을 택하여 이들의 사육 기간 경과에 따른 뇨단백질 배설량의 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 실험 초기에 뇨단백이 높았던 쥐들은 사육 기간이 증가함에 따라 그 배설량도 증가하였는데 이는 12주부터 더욱 현저하게 나타났다. 이러한 실험기간에 따른 뇨단백의 증가는 식이 지방의 영향을 받아 우지군(OB)이 가장 높았고, 옥수수유군(OC), 어유군(OF)의 순서로 나타났으며 OB군이나 OC군과는 달리 OF군에서는 사육 기간이 경과해도 뇨단백이 유의적으로 증가하지 않아 12주부터는 초기 뇨단백이 낮았던 OB군보다도 낮은 값을 보였다. 또 뇨단백이 실험 초기에 낮았던 쥐들도 사육 기간이 증가함에 따라 뇨단백질 배설량이 증가하였으나 증가폭은 뇨단백이 높았던 쥐에 비해 매우 완만하였다. 또한 초기에 뇨단백이 높았던 쥐들과 마찬가지로 우지군, 옥수수유군, 어유군의 순서를 보였으며 어유군에서만 그 증가가 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러므로 같은 식이를 섭취하더라도 각 개체의 상태에 따라 식이에 대한 반응이 달라 초기 뇨단백의 배설이 높았던 특성을 지닌 개체의 경우에는 식이를 조절함으로써 신장의 손상 및 퇴화 속도를 조절할 수 있다는 것을 알 수 있었다. 이러한 식이의 효과는 뇨단백이 낮은 경우보다 높은 경우에 더 크게 나타났는데 이는 나트륨(Na⁺)의 제한에 의한 혈압 감소 효과가 초기 혈압이 높을수록 더욱 효과적인 것²⁶⁾과 같이 원래 뇨단백이 높

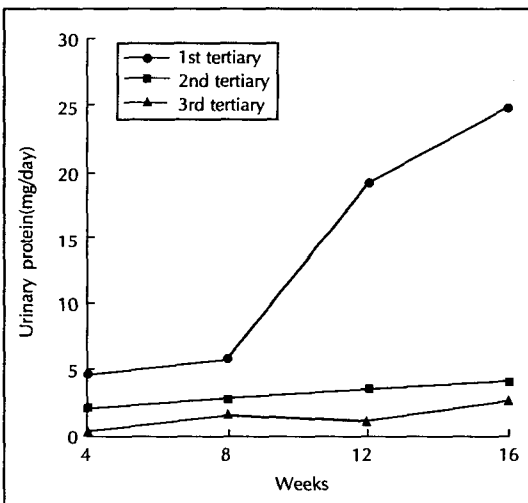


Fig. 3. Sequential changes of urinary protein excretion in aged rats. Twenty-four aged rats were divided into three groups by the initial urinary protein. Each 1st & 2nd tertiary groups had 4 rats from beef tallow group and 2 from corn oil & 2 from fish oil. 3rd tertiary group had 4 rats from corn oil & 4 from fish oil.

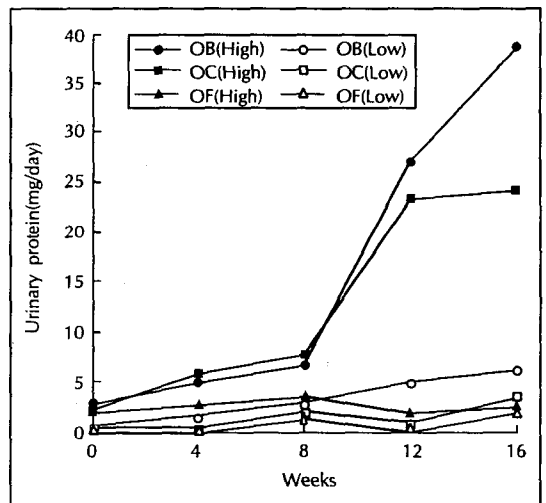


Fig. 4. Sequential changes of urinary protein excretion in aged rats subgrouped by initial urinary protein excretion(Low or High). By urinary protein excretion at 4 weeks, upper 3 rats & lower 3 rats of each diet group were selected and the diet effects were observed for the experimental period.

은 성향을 가진 개체에서의 식이 조절이 더 효과적이며 필요하다고 생각된다.

3) 뇨 및 신장 조직내 eicosanoids의 함량

노로 배설된 TXB₂와 PGE₂를 측정된 결과는 Table 4에, 신장 조직의 피질과 수질에서 측정된 TXB₂와 PGE₂의 함량은 Table 5에 각각 제시하였다. 노로 배설된 TXB₂와 PGE₂는 나이와 식이 지방의 종류에 의한 유의적인 차이가 발견되지 않았으나 PGE₂는 전체적으로 늙은쥐에서 대조군보다 높은 경향을 나타내었다. 신장 피질과 수질내의 TXB₂ 함량도 나이와 식이에 의한 영향이 없었다. 신장 피질의 PGE₂는 나이나 식이 지방의 영향을 받지 않았으나 늙은쥐보다 대조군에서 높은 경향을 보였고, 신장 수질내 PGE₂ 함량은 나이에 따른 차이는 없었으나 늙은 쥐에서는 우지군에서 유의적으로 낮은 값을 보였고 대조군에서는 어유군이 유의적으로 높은 값을 보였다.

신장에서 합성되는 prostaglandin과 thromboxane은 혈관의 수축·이완제로 작용하여신혈류와 GFR을 조절하여 신장 기능에 영향을 미친다. 강력한 혈관 수축제인 TXA₂는 mesangial cell을 수축시키고 GFR을 감소시킨다. 따라서 TXA₂는 신장 질환을 가중시키는 역할을 한다고 보고되고 있다¹⁾. 그러나 본 연구에서는 동물의 나이나 식이지방이 TXA₂ 지표로 측정된 TXB₂에 영향을 미치지 않고 있다.

Table 4. Urinary excretions of thromboxane B₂ and prostaglandin E₂¹⁾

Groups ²⁾	TXB ₂ (ng/day)	PGE ₂ (ng/day)
OB	15.68 ± 6.81 ^{ns3)}	73.42 ± 31.19 ^{ns}
OC	15.21 ± 2.04	76.36 ± 11.41
OF	12.64 ± 7.95	69.22 ± 45.26
YB	14.26 ± 1.77	67.85 ± 7.53
YC	11.52 ± 3.63	55.24 ± 16.61
YF	12.00 ± 1.70	49.33 ± 6.49
Significant factor ⁴⁾	NS	NS

1) Mean ± S.E.
2-4) See Table 2

본 연구에서 PGE₂는, 늙은 쥐가 대조군에 비해 높은 증의 배설량이 높고 신장 피질 증의 함량은 낮았다. PGE₂는 TXB₂와는 반대로 혈관 이완 작용을 한다¹⁾. 신장기능이 저하된 경우에 노로 배설되는 PGE₂의 양이 증가하고 PGE₂ 합성을 억제하면 신장 질환을 유도할 수 있다고 보고되고 있어²⁾ PGE₂는 신장기능 유지에 중요한 작용을 함을 알 수 있다. 또한 PGE₂를 만성 신부전증을 가진 환자에게 정맥 투여한 결과 신장 기능이 호전되었다고 보고되고 있다³⁾. 노화쥐의 모델로 신장을 절제한 쥐에게 단백질의 함량을 달리한 식이로 사육한 선행연구⁴⁾에서도 PGE₂는 신장절제군에서 대조군에 비해 노 중 배설량은 높고 신장피질 중 함량은 낮은 경향을 보였는데 이것은 본 연구의 결과와 같은 맥락으로 신장기능이 퇴화되면서 나타나는 경향이라고 보였다. 본 실험에서 사육기간 12주 후부터 나타나는 사구체여과율의 감소 경향 및 노단백 배설 증가와 관련하여 생각해 보면 나이가 증가함에 따라 감소하는 신장기능을 유지하기 위한 기전으로 신장에서 PGE₂가 증가하는 것으로 추측된다.

3. 조직학적 변화

광학현미경으로 관찰한 신장의 조직학적 변화의 결과는 Table 6에 나타내었다. 사구체경화는 늙은 쥐에서만 나타나 OB군과 OC군에서 5마리 중 한 마리가 경중의 (mild) 증상을 보였고 segmental sclerosis는 늙은쥐의 경우 모든 식이군에서 발견된 반면 대조군에서는 어유군에서만 3마리 중 한 마리가 경중의 증상을 보여 나이에 의한 영향을 볼 수 있었다. 또한 늙은쥐 중에서도 우지군은 5마리가 모두 증세를 보였으며 보통(moderate)과 심한(marked)한 증세를 보인 쥐도 한 마리씩 있었으나 어유군과 옥수수유군에서는 3마리만이 증세를 보였으며 이 중 2마리는 청중의 증세를 나타내 식이 지방의 종류에 의한 차이도 나타났다. 신간질의 섬유화는 OB, OC, YC군에서만 나타났고 세뇨관 위축(tubular atrophy) 현상을 보인 쥐도 늙은쥐에서 많이 발견

Table 5. Renal tissue concentrations of thromboxane B₂ and prostaglandin E₂¹⁾ (ng/g tissue protein)

Groups ²⁾	Cortex		Medulla	
	TXB ₂	PGE ₂	TXB ₂	PGE ₂
OB	1479.98 ± 9.23 ³⁾	265.36 ± 41.82 ^a	1477.20 ± 12.01 ^{ns}	282.77 ± 22.65 ^c
OC	1391.16 ± 70.80 ^a	301.04 ± 35.04 ^{ab}	1323.85 ± 156.51	358.98 ± 5.20 ^a
OF	1455.82 ± 6.93 ^a	313.00 ± 7.25 ^{ab}	1355.07 ± 30.22	303.69 ± 17.19 ^{bc}
YB	1445.28 ± 34.70 ^a	335.68 ± 7.95 ^b	1343.97 ± 142.73	273.43 ± 19.04 ^c
YC	1466.10 ± 2.08 ^a	328.89 ± 4.88 ^{ab}	1348.83 ± 81.29	268.94 ± 13.45 ^c
YF	1137.18 ± 189.17 ^b	322.82 ± 18.94 ^{ab}	1275.27 ± 129.71	345.20 ± 3.99 ^{ab}
Significant factor ⁴⁾	NS	NS	NS	B, AB

1) Mean ± S.E. 2-4) See Table 2

Table 6. Light microscopy findings in kidney biopsy

Groups ¹⁾	Glomerulosclerosis				Mesangial matrix increase				Interstitial inflammation				Tubular atrophy				Interstitial fibrosis							
	Segmental		Global		-		+		-		+		-		+		-		+					
	- ³⁾	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++				
OB (N=5)	0 ²⁾	3	1	1	4	1	0	0	0	4	1	0	0	4	1	0	0	5	0	0	2	3	0	0
OC (N=5)	2	2	0	1	4	1	0	0	0	5	0	0	3	2	0	0	3	2	0	0	3	2	0	0
OF (N=5)	2	2	1	0	5	0	0	0	5	0	0	0	3	0	2	0	3	2	0	0	5	0	0	0
YB (N=5)	5	0	0	0	5	0	0	0	3	2	0	0	1	1	3	0	5	0	0	0	5	0	0	0
YC (N=3)	3	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	0	1	2	0	0	2	1	0	0	2	1	0	0
YF (N=3)	2	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	0	1	2	0	2	1	0	0	3	0	0	0

1) See Table 2

2) Values are number of rats

3) Degree of histological change : - =normal ; + =mild ; ++ =moderate ; +++ =marked

되었는데 특히 OB군은 5마리가 모두 경증의 증세를 보였다. 신간질 염증도 늙은쥐에서 많았으며 특히 우지군의 증세가 심하였다. 사구체간질 확장(glomerular matrix increase)은 OF, YF를 제외한 모든 군에서 발견되어 어유 식이에 의한 차이를 보였으며 OB, OC군은 5마리 모두가 경증 혹은 보통정도의 증상을 나타내 나이와 식이 지방 종류에 따른 영향을 명확히 볼 수 있었다. 전체적으로 늙은쥐에서 조직학적 변화가 많이 나타났으며 그 중에서도 우지를 공급한 군에서 가장 많이 발견되었고 어유를 공급한 군에서 가장 적었다. 대조군에서도 우지를 공급한 군에서 다른 군에 비해 사구체간질 확장 등 신장 조직의 변화가 나타났으나 늙은쥐와는 달리 어유를 공급한 군의 조직학적 변화가 적게 나타나는 경향은 보이지 않았다.

이는 8개월령과 14개월령의 Milan normotensive rat을 이용한 Salvati 등²⁹⁾의 연구에서도 볼 수 있었는데, 이들도 본 실험과 마찬가지로 나이가 많은 쥐에게서 더 심한 사구체 경화 현상을 찾아볼 수 있어 노화에 의해 사구체의 경화가 전진됨을 시사해 주었다. 또한 본 실험에서는 식이 지방에 대한 효과도 나타나 우지를 공급한 군에서 신장 조직의 변화가 가장 많이 발견되었으며 전체적으로는 우지를 공급한 늙은쥐에서 신장의 조직학적 이상이 많이 발견되었다. 그러므로 우지는 나이에 따른 신장 조직 변화를 촉진시켰음을 볼 수 있었다. 그러나 어유를 공급한 늙은쥐의 경우에는 이러한 현상이 우지군에 비하여 낮은 것으로 보아 어유가 신장 노화에 의한 구조의 변화와 기능의 감소를 완화시킨다는 것을 알 수 있었다.

Klahr 등³⁰⁾에 따르면 신장은 그 기능에 이상이 생기

기 전에 구조적 이상을 먼저 나타내게 되며 사구체간질의 확장이나 경화 현상 등 신장 조직의 변화가 일어난면 여과, 재흡수, 배설 등의 신장 기능을 제대로 수행할 수 없게 된다고 한다. 이러한 구조적 변화는 사구체 벽의 고분자 물질에 대한 charge와 size에 대한 선택성 감소를 일으켜 뇨단백이 나타나는 원인이 된다³¹⁾. 이는 본 연구에서 OF군의 뇨단백 배설량이 우지나 옥수수유를 섭취한 늙은쥐와는 달리 실험기간이 경과하여도 증가하지 않은 것을 설명해 준다고 사료된다.

요약 및 결론

본 연구는 신장의 노화가 식이 지방의 종류에 따라 어떻게 달라지는가를 조사하기 위하여 17개월령의 늙은쥐를 우지, 옥수수유, 어유를 포함한 식이로 16주간 사육하면서 신장 기능의 변화를 살펴보았다. 대조군으로는 4개월령의 쥐를 사용하여 비교하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 혈청 지질 수준은 나이와 식이 지방의 영향을 받아 17개월령의 쥐가 4개월령의 쥐 보다 높았으며 우지군에서 가장 높았고 옥수수유군, 어유군의 순서를 보였다.

2) 사구체 여과율은 실험 초기에는 늙은쥐가 높았으나 사육 12주에는 대조군에서 더 높았으며 지방의 종류에 따라서는 우지를 공급한 군이 가장 높았고 옥수수유군, 어유군의 순서로 나타났다.

3) 뇨단백질 배설량은 두 나이군 모두 실험기간이 증가함에 따라 증가하였고 식이 지방에 의한 차이는 늙은 쥐의 경우 우지군과 옥수수유군은 12주 이후에 뇨단백질 배설량이 급격히 증가하였으나 어유군은 크게 변화

하지 않았으며 이러한 식이의 영향은 대조군에서는 나타나지 않았다. 실험초기에 높은 노단백질 배설을 보였던 쥐들은 실험 기간 동안 계속 증가하여 높은 값을 유지하였다. 또한 식이에 대한 반응도 초기 노단백 배설 정도에 따라 다르게 나타나 실험 초기에 노단백질 배설량이 높았던 쥐들에서는 사육기간에 따른 노단백의 증가가 식이 지방의 영향을 받아 우지군이 가장 높았고 다음이 옥수수우지군이었으며, 어유군에서는 사육기간에 따른 유의적인 변화를 볼 수 없었다. 그러나 실험초기에 노단백질 배설량이 낮았던 쥐에서는 이러한 식이의 영향이 현저하지 않았다. 그러므로 식이에 대한 반응은 개체에 따라 다르게 나타남을 볼 수 있었고 특히 초기 노단백이 높았던 쥐들은 식이를 조절함으로써 신장의 손상 및 퇴화를 조절할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

4) 노로 배설된 TXB₂와 PGE₂ 농도는 나이와 식이 지방의 영향을 받지 않았고 신장 수질과 피질내의 TXB₂ 함량도 나이와 식이에 의한 영향이 없었다. 신장 피질내 PGE₂는 대조군에서 높은 경향을 보였다.

5) 광학현미경으로 조직 변화를 관찰한 결과 사구체 간질 확장, 사구체경화, 신간질 섬유화, 세노관 위축 등의 신장의 조직학적 변화는 늙은 쥐에서 많이 나타났으며 그 중에도 우지군에서 가장 많이 발견되었고 어유를 공급한 군에서 가장 적었다.

이상의 결과를 종합해 보면, 노단백 배설량의 증가나 신장의 조직학적 변화는 늙은 쥐가 대조군보다 뚜렷하여 나이가 증가함에 따른 신장 기능의 퇴화를 관찰할 수 있었다. 또한 식이 지방의 종류에 따라 신장 기능에 미치는 영향의 차이가 뚜렷하여 포화지방산이 다량 함유된 우지를 공급할 경우 사구체 경화를 비롯한 신장의 조직학적 변화가 일어나며 노단백질 배설량이 증가하고, n-3 지방산이 풍부한 어유를 공급하면 이와는 반대로 노화로 인한 신장 기능의 감퇴를 예방해주는 것으로 보인다. n-6 지방산의 급원인 옥수수우유의 경우 우지와 어유군의 중간적인 효과를 보이며 이는 늙은 쥐는 물론 대조군의 경우에도 마찬가지였다. 대조군의 경우에는 늙은 쥐에서 보인 어유에 의한 유익한 효과가 나타나지 않아 식이 지방이 신장 기능에 미치는 영향은 나이가 증가함에 따라 즉, 신장 기능의 퇴화 및 감소가 일어날 경우 그 영향을 관찰할 수 있었다. 이처럼 나이가 증가함에 따라 나타나는 신장 기능의 여러 가지 변화들은 식이 지방을 변화시켜 주면 어느 정도 억제시킬 수 있음을 볼 수 있었고 이러한 효과는 부분적으로 신장의 eicosanoids 대사에 영향을 미침으로써 나타나는 결과라고 볼 수 있다. 또한 이러한 식이의 효과는 개체간에 차이가 있어 초기에 노단백 배설량이 높았던 쥐에서 그

효과가 더 커 질병이나 노화 등 산화 가능성이 퇴화되는 조건이 있는 경우에는 식이를 조절함으로써 신장의 손상 및 퇴화를 어느 정도 지연시킬 수 있을 것으로 보인다.

Literature cited

- 1) Klahr S, Schreiner G, Ichikawa I. The progression of renal disease. *N Engl J Med* 318 : 1657-1666, 1988
- 2) Schreiner GF, Klahr S. Diet and kidney disease : the role of dietary fatty acids. *Proc Soc Exp Biol Med* 230 : 1-11, 1991
- 3) Laouari D, Keenkeche C. The role of nutritional factors in the course of experimental renal failure. *Am J Kid Dis* 5 : 147-157, 1985
- 4) Kim WY, Lee HS, Jeong HJ. Effect of dietary protein level on renal functions and structure in uninephrectomized aging model in rat. *Korean J Nutr* 29(10) : 1059-1071, 1996
- 5) 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
- 6) Shohat J, Boner G. Role of lipids in the progression of renal disease in chronic renal failure : evidence from animal studies and pathogenesis. *Isr J Med Sci* 29 : 228-239, 1993
- 7) Kelley VE, Ferretti A, Izui S, et al. A fish oil diet rich in eicosapentenoic acid reduces cyclooxygenase metabolism and suppresses lupus in MRL-lpr mice. *J Immunol* 134 : 1914-1919, 1985
- 8) Robinson DR, Prickett JD, Polisson R, et al. The protective effect of dietary fish oil on murine lupus. *Prostaglandins* 31 : 51-57, 1985
- 9) Report of the American Institute of Nutrition. Ad Hoc committee on standard for nutritional studies. *J Nutr* 107 : 1340-1348, 1977
- 10) 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
- 11) Kein KL, Scott WJ, Clark KE. Measurement of prostaglandins in embryonic tissue using radioimmunoassay. *Prostaglandins* 22 : 623, 1981
- 12) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfophosphovanillin reaction. *Am J Clin Pathol* 53 : 89-91, 1970
- 13) Zak B. Total and free cholesterol. In standard method of clinical chemistry. pp79-89. N.Y. Acad Press Inc. 1968
- 14) Biggs HG, Erickson JM, Moorehead WR. A manual colorimetric assay of triglyceride in serum. *Clin Chem* 21 : 437-447, 1975
- 15) Gaál Ö, Medgyesi GA, Vereczkey L. Electrophoresis in

- the separation of biological macromolecules. Chichester and Akad mial Kiad, Budapest, 1980
- 16) Oser BL, "Haw's physiological chemistry" 4th edition. New York, McGraw-Hill Book. p1040-1231, 1965
 - 17) Lowry OH, Resebrouh NJ, Randal RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
 - 18) Schlondorff D, Arvaillou R. Prostaglandins and other arachidonic acid metabolites in the kidney. *Kidney Int* 29 : 108-119, 1986
 - 19) Opgenorth TJ, Fiksen-Olsen MJ, Romero JC. Role of prostaglandin in the cortical distribution of renal blood flow following reductions in renal perfusion pressure. *Prostaglandins* 34 : 591-601, 1987
 - 20) Leaf DA, Connor WE, Barstad L, Sexton G. Incorporation of dietary n-3 fatty acids into the fatty acids of human adipose tissue and plasma lipid classes. *Am J Clin Nutr* 62 : 68-73, 1995
 - 21) Gröne HJ, Walli A, Gröne E, Niedmann P, Thiery J. Induction of glomerulosclerosis by dietary lipids : a functional and morphologic study in the rat. *Lab Invest* 60 : 433-446, 1989
 - 22) Baylis C, Fredericks M, Wilson C, Munger K, Collins R. Renal vadiatory response to intravenous glycine in the agig rat kidney. *Am J Kidney Dis* 15 : 224, 1990
 - 23) Gregory JG, Barrows CH. The effect of age on renal function of female rats. *J Gerontol* 24 : 321, 1969
 - 24) Brtani T, Poggi A, Pozzoni R, et al. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats. *Lab Invest* 46 : 16-23, 1982
 - 25) Challa A, Pandak WM, Heuman DM. Studies of alteration of hepatic cholesterol metabolism in puromycin-induced nephrotic syndrome in rats. *Kidney Int* 44 : 789-794, 1993
 - 26) Grobbee DE, Hofman A. Does sodium restriction lower blood pressure? *Br Med J* 293 : 27-29, 1986
 - 27) Niwa T, Maeda K, Shibata M. Urinary prostaglandins and thromboxane in patients with chronic glomerulonephritis. *Nephron* 46 : 281-287, 1987
 - 28) Blum M, Bauminger S, Algueti A, Kisch E, Ayalon D. Urinary prostaglandin E₂ in chronic renal disease. *Clin Nephrol* 15 : 87-89, 1981
 - 29) Salvati P, Ferti C, Ferrario RG, Lamberti E, et al. Role of enhanced glomerular synthesis of thromboxane A2 in progressive kidney disease. *Kidney Int* 38 : 447-458, 1990
 - 30) Shoat J, Boner G. Role of lipids in the progression of renal disease in chronic renal failure : evidence from animal studies and pathogenesis. *Isr J Med Sci* 29 : 228-239, 1993
 - 31) Colemann GL, Barthold SW, Osbaliston GW, Foster SJ, Jonas AM. Pathological changes during aging in barrier-reared Fisher 344 male rats. *J Gerontol* 32 : 258-278, 1977