

식이지방의 종류와 L-arginine 보충이 당뇨쥐의 Endothelium 기능 및 체내 지질대사에 미치는 영향*

장문정[§] · 김연중 · 김명환**

국민대학교 자연과학대학 식품영양학과, 단국대학교 공학부 식품공학과**

Effect of Dietary Fat Sources and L-arginine Supplementation on Endothelial Function and Lipid Metabolism in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats*

Chang, Moon-Jeong[§] · Kim, Yon Joong · Kim, Myung Hwan**

Department of Food and Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea
Department of Food Engineering,** Dankook University, Chonan 330-714, Korea

ABSTRACT

Alteration in the synthesis or enhanced inactivation of nitric oxide(NO) can induce impairment of endothelial cell function. Insulin dependent diabetes mellitus(IDDM) is characterized by impaired endothelial function and vascular disease. NO is produced through L-arginine pathway. To elucidate the hypothesis that the decreased production on NO in IDDM reflects vascular damage and the NO production can be manipulated by either dietary fat(7% of kg diet) or the oral supplementation with L-arginine(2g/kg bw), plasma markers for vascular endothelial damage and plasma lipid profiles were measured in streptozotocin(STZ)-induced diabetic rats. Diabetic or normal Sprague-Dawley rats were fed 6 different experimental diets for 4 weeks(SO: soybean oil, SOA: soybean oil + L-arginine supplementation, BT : beef tallow, BTA: beef tallow + L-arginine supplementation, OV: olive oil, OVA : olive oil + L-arginine supplementation). Plasma glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglyceride were measured. Endothelial markers, plasma von Willebrand factor(vWf), thromboxane B₂ and 6-keto PGF1 α of aorta were measured by ELISA. Plasma NO production was evaluated through the measurement of nitrite by EIA. Feeding saturated fatty acid(SFA, BT) increased relative liver size(RLS) in diabetic rats compared to either polyunsaturated fatty acid(PUFA, SO) or monounsaturated fatty acid(MUFA, OV) The supplementation of L-arginine inhibited the liver and kidney enlargement in olive oil fed diabetic rats. Plasma glucose was lower in diabetic animal fed the olive oil compared to fed beef tallow and the supplementation L-arginine decreased it in diabetic rats fed beef tallow significantly(p < 0.05). Plasma TXB₂ levels were increased due to diabetes and the value of beef tallow group showed highest value. Plasma vWf concentration of beef tallow group was higher value in normal rats and was elevated more in diabetes. In diabetic groups, the vWf concentration of olive oil group was lower than beef tallow or soybean oil group. The supplementation of L-arginine in diabetic rats decreased plasma TXB₂ and vWf levels significantly(p < 0.05). NO production was higher in normal olive oil fed rats and was tend to be decreased in diabetic rats and the supplementation of L-arginine recovered to normal value(p < 0.05). Olive oil supplemented with L-arginine tended to lower plasma total cholesterol and LDL-cholesterol after 4 week treatment. These results suggest that generalized vascular endothelial changes based on plasma TXB₂ and vWf occurs in diabetic rats. and olive oil with L-arginine supplementation contributes to a better control of the hyperglycemia, endothelial changes and hypercholesterolemia accompanying diabetes as compared with beef tallow or soy bean oil in this rat model. (Korean J Nutrition 35(1) : 5~14, 2002)

KEY WORDS: dietary fat, L-arginine, endothelium function, lipid metabolism, diabetes mellitus.

서 론

우리 나라에서 당뇨병 환자의 발생률은 급증하고 있으며,

접수일 : 2001년 10월 15일

채택일 : 2002년 1월 8일

*This work was supported by Korea Research Foundation Grant(KRF99-041-D00452).

[§]To whom correspondence should be addressed.

당뇨 사망률이 최근 10년 사이 124.5% 증가하였고, 허혈성 심장 질환으로 인한 사망률의 증가보다 높은 증가율을 보였다.¹⁾ 당뇨와 심혈관계 질환과의 상관성은 매우 높아 당뇨환자에서 동맥경화증이 주요 사망원인이 되고 있을 뿐 아니라,^{2,3)} 고혈당으로 인한 체내 대사의 이상은 미세혈관질환(microangiopathy) 망막과 신장의 병변을 유발하는 요인이 되고 있으나,^{4,5)} 위험요인의 규명 및 위험 요인 제거에 대

한 연구는 미비한 실정이다. 최근 혈관 내피 세포(vascular endothelium)의 기능 손상이 당뇨로 인한 혈관 질환의 발생의 주요 원인으로 간주되고 있다.⁶⁾ Alloxan으로 당뇨를 유발한 토끼에서 혈관 내피 세포의 변화는 당뇨 유발 2주후부터 시작되었으며 6주후에는 백혈구, 혈소판 및 fibrin과 유사한 물질의 응집 현상이 심각하였음이 보고되었다.⁷⁾ Grunwald등의 연구⁸⁾에서 streptozotocin(STZ)으로 당뇨를 유발한 돼지의 대동맥 내피 세포를 이용한 세포 배양에서 정상군에 비해 세포의 증식 및 다핵화(multinucleated cell)현상이 증가되고 내피 세포의 다핵화가 저밀도 지단백(low density lipoprotein, LDL)의 함유량을 증가시켰다고 보고하고 있다.

혈관 내피 세포는 혈소판 응집 및 혈관의 smooth muscle cell 증식을 억제하고, 혈관의 수축과 이완을 조절하는 물질의 분비를 통해 혈액 생리학적 변화에 적응함으로써 혈관의 기능의 항상성을 유지하고 있다.⁹⁾ 이들 물질의 농도 변화로 인한 endothelium의 손상이 당뇨로 인한 혈관 내피 세포의 형태학적 및 기능적 손상의 주요 원인으로 간주되고 있으며,¹⁰⁾ 가장 중요한 매개 역할을 하는 물질로 nitric oxide(NO)와 prostacyclin이 알려져 있다.¹¹⁾ NO와 prostacyclin은 강력한 혈관 이완 기능 외에도 혈소판 응집과 부착을 억제하여 동맥경화증의 발병을 예방시키거나 지연시키는 역할을 하는 것으로 사료되고 있다.¹²⁾ 혈중 포도당의 증가는 혈소판을 활성화시켜 응집을 유발하며,⁷⁾ 활성화된 혈소판은 thromboxane A₂나 serotonin과 같은 혈관 수축 물질을 분비하고, 혈관벽의 구조나 기능의 손상을 초래한다.¹¹⁾ 선행연구에서 thromboxane A₂는 혈관내피세포에서 prostacyclin의 합성 및 분비를 자극하기 때문에 혈액 내 prostacyclin과 thromboxanes의 농도 변화는 혈소판과 혈관내피세포와의 상호작용의 변화를 나타내주는 지표로 사용될 수 있다고 보고하였다.¹³⁻¹⁵⁾ 혈장내 von Willebrand factor(vWf)는 당뇨뿐 아니라 만성 혈관계 질환의 혈관 내피 세포의 기능상태를 나타내 주는 혈액 지표로 최근 연구의 대상이 되는 물질이다. 선행연구에서 IDDM에서 신장장애가 나타나기 전에 혈장 vWf가 증가하기 때문에 신장장애를 예측하는 척도로 사용될 수 있으며¹⁶⁾ 정상 혈청 콜레스테롤 농도를 나타내는 토끼를 이용한 실험에서 혈관 내피의 intima의 두께 증가(thickening)와 혈액내 vWf 농도는 유의적인 상관관계가 있는 것으로 보고하고 있다.¹⁷⁾ 또한 정상인에 비해 normoalbuminuria를 나타내는 당뇨환자에서 비당뇨환자에 비해 vWf 농도가 약간 증가하였으며, microalbuminuria를 보이는 당뇨환자에서 유의하게 증가하였다는 보고¹⁸⁾도 있어 혈장 vWf는 당뇨로 인한 신장

장애와 기타 만성 심혈관계 질환자에서 non invasive 한 방법으로 혈관내피세포의 기능을 가장 잘 나타내주는 지표로 사용될 가능성을 제시한다.

또한 당뇨병의 진행과 더불어 증가된 당화 화합물(glycosylation end products)과 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 NO를 quenching 하여 NO의 기능을 억제할 뿐 아니라, NO 합성효소의 활성이 감소된다고 밝혀지면서 이에 대한 관심이 증가하고 있다.¹⁹⁾ NO는 혈관내피 세포에서 L-arginine으로부터 생성되며, 당뇨환자의 혈장이나 혈관조직의 arginine 농도가 감소하면서 심혈관계 질환이나 혈관 기능 장애의 발생을 유발하였다는 연구결과들이 보고된 바 있다.¹⁹⁻²¹⁾ 이러한 연구결과는 당뇨병으로 인한 고혈당이 혈관 내피세포에서 NO의 합성 감소를 유발하거나 당화합물과 NO와의 결합으로 인한 NO기능의 손상을 유발하여, 혈관의 수축 및 혈소판 응집을 유발함을 시사하고 있다. L-arginine은 NO 합성의 전구체로 사용되며, 고콜레스테롤 식이로 사육한 토끼에서 NO의 합성 증가를 통해 혈관내피 세포기능을 개선시키므로 동맥경화증의 진전을 지연시켰다는 일부 보고가 있으나¹¹⁾ L-arginine의 섭취가 혈당의 조절 및 혈관 내피 세포의 기능변화의 조절에 미치는 연구는 매우 미미한 실정이다.

당뇨 환자에서 적절한 식이 섭취를 통한 합병증의 예방이 가장 바람직한 데, 당뇨 유발 쥐를 실험 모델로 섭취하는 식이 지방의 종류와 L-arginine 보충을 통한 혈관 내피 세포 기능 및 체내 지질대사에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 그러므로 이 연구의 목적은 당뇨 유발 흰쥐를 모델로 하여 지방산의 종류가 다른 식이 지방을 공급하면서 L-arginine을 보충하여 혈관 장애와 관련이 있는 NO의 농도를 조절하고, 혈관 내피 세포 기능 변화를 모니터 할 수 있는 혈액 지표를 측정하여 당뇨환자의 심혈관계 질환을 비롯한 합병증 발생의 예방효과를 평가하는 것이다.

실험재료 및 방법

1. 실험설계와 식이

실험동물은 약 100g 되는 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐를 평균 체중이 220g이 될 때까지 약 1개월간 고형사료로 사육한 다음 난괴법으로 나누었다. 각 실험군별로 8마리씩 배분하고, 16시간 절식시킨 후 당뇨를 유발하여 실험식이로 4주간 사육하였다. 실험군은 정상군과 당뇨군으로 크게 나누고, 각 실험군은 다시 식이지방의 종류에 따라 대두유군(SO), 우지군(BT), 올리브유(OV)군의 3군으로 나누고, 다시 각 실험식에 L-arginine을 보충하는 군과 비보충군

총 12군으로 나누어 실험 식이를 공급하였다. 실험기간동안 물과 식이는 제한없이 공급하였다.

당뇨의 유발은 streptozotocin(STZ, 45mg/kg bw/0.01M citrate buffer, pH 4.5)를 대퇴부에 주사하고 STZ 주사 24시간 후 실험 동물의 꼬리에서 혈액을 채취한 후 혈장 포도당 농도가 300mg/dl 이상 인 것을 당뇨가 유발된 것으로 판정하였다.

실험 식이의 조성은 AIN-93G 조성식이²⁰⁾를 기본으로 하였으며 식이의 조성은 Table 1과 같다. Arginine 투여군은 L-arginine(Sigma Chemical, St. Louis, MO)이 함유된 음용수를 1일 평균섭취량 2g/kg bw이 되도록 매일 조성하여 섭취케 하였다.

실험기간동안 사육실의 온도는 20 ± 2℃가 되도록 조정하였고, 광주기와 암주기를 12시간이 되도록 조정하였다. 식이 섭취량은 2일 마다 기록하고 체중은 1주일에 3번 측정하였다.

2. 실험방법

실험동물은 실험기간 종료전 overnight fasting 시켜 회

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	SO	BT	OV
Cornstarch	590.692	590.692	590.692
Casein(≥ 85% protein)	140.000	140.000	140.000
Sucrose	100.000	100.000	100.000
Fat			
Soybean oil	70.000	0.000	0.000
Olive oil	0.000	0.000	70.000
Beef tallow	0.000	70.000	0.000
Fiber	50.000	50.000	50.000
AIN-93M-mineral mix	35.000	35.000	35.000
AIN-93M-vitamin mix	10.000	10.000	10.000
L-cystine	1.800	1.800	1.800
Choline bitartrate(41.1% choline)	2.500	2.500	2.500
Tert-butylhydroquinone	0.008	0.008	0.008

1) Mineral mixture: AIN-93G mineral mixture(g/kg mix) Calcium carbonate, anhydrous 357.00: Potassium phosphate, monobasic 196.00: potassium citrate, tri-potassium, monohydrate 70.78 : Sodium chloride 74.00: potassium sulfate 46.60: Magnesium oxide 24.00: ferric citrate 6.06: Zinc carbonate 1.65: manganous carbonate 0.63: Cupric carbonate 0.30: Potassium iodate 0.01: Sodium selenate, anhydrous 0.01025: Ammonium paramolybdate, 4 hydrate 0.00795: Sodium meta-silicate, 9 hydrate 1.45: Chromium potassium sulfate, 12 hydrate 0.275: Lithium chloride 0.0174: Boric acid 0.0815: Sodium fluoride 0.0635: Nickel Carbonate 0.0318: Ammonium vanadate 0.0066: Powdered sucrose 221.026
 2) Vitamin mixture: AIN 93G Vitamin mixture 9g/kg mix) nicotinic acid 3.000: Ca panthothenate 1.600: Pyridoxine-HCl 0.700: Thiamin-HCl 0.600: Riboflavin 0.600: Folic acid 0.200: D-Biotin 0.020: Vitamin B12(cyanocobalamin) 2.500: Vitamin E(all-rac- α -tocopheryl acetate, 500IU/g) 15.000: Vitamin A(all-trans-retinyl palmitate, 500,000IU/g) 0.800: Vitamin D3(cholecalciferol, 400,000IU/g) 0.250: Vitamin K3(phyloquinone) 0.075: Powdered sucrose 974.655

생시켰다. 전혈 0.5ml는 즉시 TXB₂ 측정을 위해 37℃ shaking water bath에서 30분간 incubation하여 TXB₂생성을 자극한 후 2,800rpm에서 30분간 원심분리하여 상층액을 얻어 분석전까지 -50℃이하에서 냉동 보관하였다.²³⁾ 나머지 혈액은 3.8% sodium citrate가 함유된 원심분리관에 넣어 4℃, 2,500rpm에서 10분간 원심분리하여 혈장을 분리한 후 생화학적 분석을 위해 -50℃에서 냉동 보관하였다. von Willebrand factor는 ELISA kit(Cedarlane, USA)를 사용하여 분석하였다. 혈액채취가 끝난 즉시 개복 후 간, 신장을 떼어 무게를 측정하고, 대동맥은 약 1cm 가량 적출하여 지방조직을 제거하고 생리적 식염수(4℃)로 세척한 후 polystyrene tube에 넣고 0.05M Tris buffer (pH 7.4) 2ml를 넣고 37℃의 수조에서 30분간 incubation 시켜 6-keto-prostagladin F_{1 α} 의 생성을 자극하였다. 배양이 끝난 대동맥은 4.8M formic acid 40 μ l를 첨가하여 반응을 종결시키고 분석시 까지 -50℃에서 냉동 보관하였다. 혈장의 Thromboxane A₂(TXA₂)와 대동맥의 prostacyclin I₂ (PGI₂)는 반감기가 짧으므로 생리적으로 안정된 TXB₂와 6-keto-Prostaglandin F_{1 α} (6-keto PGF_{1 α})를 대신 측정하였으며 농도의 측정은 ELISA kit(Amersham Pharmacia, USA)를 사용하였다.^{24,25)}

혈장의 von Willebrand factor(vWf)는 ELISA kit(Cedarlane, USA)로, nitrite의 농도는 quantitative colorimetric assay kit(R & D systems, USA)를 사용하여 측정하였으며, 혈장내 포도당, 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤은 혈액자동분석기를 이용하여 측정하였으며, LDL-콜레스테롤농도는 Friedwald등²⁶⁾이 발표한 LDL-콜레스테롤 산출방정식(LDL 콜레스테롤 = 총콜레스테롤 - HLD 콜레스테롤 - 중성지방/5)을 이용하여 구하였다.

3. 자료 처리

본 연구의 모든 분석결과는 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치 분산법(one-way analysis of variance)을 한 후 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군의 평균치간의 유의성을 검정하였다. 식이 지방의 종류, L-arginine의 보충 및 당뇨에 대한 요인 분석은 3-way ANOVA로 하였다.

결과 및 고찰

1. 체중증가량, 식이효율, 장기 무게의 변화

실험식이 투여 4주 후 실험동물의 체중 변화는 Table 2와 같다. 정상군은 평균 126g의 체중증가가 있었으나 당뇨군

은 평균 0.2g의 체중감소가 있었다. 당뇨시 체내 포도당 이용의 저하 및 지방분해 증가로 인한 체중감소²⁷⁾는 이미 예측했던 결과이다. 정상군이나 당뇨군에서 식이 지방의 영향이나 L-arginine의 보충섭취에 의한 영향은 나타나지 않았다. 식이 효율은 당뇨로 인한 유의적인 감소가 있었으며(p < 0.01), 정상군이나 당뇨군 모두에서 L-arginine의 섭취로 인해 유의적이지는 않았으나 식이 효율이 높은 편이었다.

장기 무게의 변화는 Table 3에 제시한 바와 같이 체중 100g당 간의 무게(RLS, relative liver size)와 체중 100g당 신장의 무게(RKS, relative kidney size)는 모든 당뇨군에서 정상군에 비해 유의하게 높았다(p < 0.05). 특히 우지당뇨군의 RLS가 대두유 당뇨군에 비해 유의하게 높았다. 당뇨군에서 L-arginine의 보충투여는 RLS를 감소시키는 경향이였으며, 올리브유 섭취당뇨군에서 L-arginine의 보충으로 인한 RLS 감소는 유의하였다. RKS는

Table 2. Effects of dietary fat and L-arginine treatment on body weight and food efficiency ratio

Groups	Initial body weight(g)	Final body weight(g)	Body weight gain(g)	Food efficiency ratio
NSO ³⁾	211.8 ± 10.5 ^{1ns}	321.7 ± 12.5 ²⁾	109.9 ± 19.6 ^a	0.2093 ± 0.035 ^a
NSOA	219.7 ± 9.5	346.1 ± 9.4 ^a	126.4 ± 15.4 ^a	0.2348 ± 0.013 ^a
DSO	201.3 ± 7.7	199.7 ± 11.9 ^b	-1.6 ± 12.2 ^b	0.0344 ± 0.026 ^b
DSOA	214.0 ± 7.4	237.3 ± 18.8 ^b	17.0 ± 16.2 ^b	0.0479 ± 0.005 ^b
NBT	214.0 ± 10.2	330.9 ± 8.4 ^a	116.8 ± 8.4 ^a	0.2115 ± 0.043 ^a
NBTA	219.3 ± 14.4	334.6 ± 17.8 ^a	115.2 ± 10.9 ^a	0.2547 ± 0.022 ^a
DBT	205.7 ± 6.7	227.5 ± 19.1 ^b	10.7 ± 16.4 ^b	0.0497 ± 0.018 ^b
DBTA	194.3 ± 6.87	197.1 ± 25.9 ^b	2.9 ± 31.6 ^b	0.0714 ± 0.040 ^b
NOV	215.8 ± 7.7	344.3 ± 8.0 ^a	128.5 ± 13.9 ^a	0.2629 ± 0.022 ^a
NOVA	209.3 ± 5.2	342.3 ± 7.5 ^a	131.6 ± 7.5 ^a	0.2580 ± 0.023 ^a
DOV	213.7 ± 3.4	234.7 ± 12.1 ^b	20.7 ± 14.2 ^b	0.0282 ± 0.015 ^b
DOVA	209.3 ± 5.0	211.0 ± 18.3 ^b	1.7 ± 17.6 ^b	0.0419 ± 0.023 ^b

1) Mean ± SEM

2) The different alphabets in the same column are significantly at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.

3) NSO: normal soybean oil

DSOA: diabetic soybean oil + L-arginine

DBT: diabetic beef tallow

NOVA: normal olive oil + L-arginine

NSOA: normal soybean oil + L-arginine

NBT: normal beef tallow

DBTA: diabetic beef tallow + L-arginine

DOV: diabetic olive oil

DSO: diabetic soybean oil

NBTA: normal beeftallow + L-arginine

NOV: normal olive oil

DOVA: diabetic olive oil + L-arginine

Table 3. Effects of dietary fat and the oral supplementation of L-arginine on organ weights

Groups ¹⁾	Liver weight(g)	RLS ⁴⁾	Kidney weight(g)	RKS ⁵⁾
NSO	9.5 ± 0.6 ^{2)bc3)}	2.94 ± 0.09 ^{ab}	2.19 ± 0.09 ^{ab}	0.68 ± 0.01 ^a
NSOA	10.5 ± 0.4 ^c	3.05 ± 0.12 ^{abc}	2.37 ± 0.08 ^{ab}	0.68 ± 0.01 ^a
DSO	7.6 ± 0.7 ^{ab}	3.78 ± 0.16 ^d	2.20 ± 0.12 ^a	1.11 ± 0.05 ^b
DSOA	8.7 ± 0.8 ^{abc}	3.64 ± 0.11 ^{cd}	2.47 ± 0.11 ^b	1.08 ± 0.08 ^b
NBT	9.1 ± 0.4 ^{abc}	2.76 ± 0.08 ^{ab}	2.17 ± 0.07 ^{ab}	0.66 ± 0.02 ^a
NBTA	9.8 ± 0.6 ^{bc}	2.97 ± 0.21 ^{ab}	2.36 ± 0.09 ^{ab}	0.71 ± 0.02 ^a
DBT	9.4 ± 1.0 ^{bc}	4.35 ± 0.32 ^e	2.37 ± 0.15 ^{ab}	1.16 ± 0.14 ^b
DBTA	8.5 ± 1.4 ^{abc}	4.34 ± 0.45 ^e	2.04 ± 0.15 ^a	1.12 ± 0.20 ^b
NOV	9.0 ± 0.3 ^{abc}	2.61 ± 0.10 ^a	2.13 ± 0.06 ^{ab}	0.62 ± 0.02 ^a
NOVA	8.9 ± 0.3 ^{abc}	2.58 ± 0.06 ^a	2.30 ± 0.63 ^{ab}	0.67 ± 0.02 ^a
DOV	9.2 ± 0.8 ^c	4.39 ± 0.26 ^e	2.23 ± 0.10 ^{ab}	1.06 ± 0.06 ^b
DOVA	7.0 ± 0.9 ^a	3.28 ± 0.24 ^{bcd}	2.19 ± 0.17 ^{ab}	0.88 ± 0.07 ^b
Significant factor ⁶⁾	NS	D	NS	D

1) The same as the legend in Table 2

2) Mean ± SEM

3) The different alphabets in the same column are significantly at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.

4) RLS: relative liver size, liver weight(g)*100/final body weight(g)

5) RKS: relative kidney size, kidney weight(g)*100/final body weight(g)

6) Significant factor

D*A: Interaction of diabetes mellitus and L-arginine supplementation was significant at α=0.05 by F-test.

당뇨군에서 정상군에 비해 유의하게 약 1.5배 정도의 비대 현상을 보였으며, 당뇨군에서 L-arginine의 보충은 심장 비대를 감소시키는 경향이였다. 당뇨로 인한 비대 현상은 streptozotocin으로 인한 체내 인슐린 분비 감소로 당질 대사의 이상이 발생하고, 체지방이 분해되어 유리된 지방산이 간에서 중성지방의 합성 증가를 유발하기 때문으로 추정되며 이와 같은 결과는 Park과 Lee의 연구에서의 결과와도 일치한다.²⁹⁾

STZ으로 당뇨유발시 신장의 비대는 공통적인 증상이며 이는 당뇨로 인한 사구체 여과율의 증가와 함께 신장의 크기와 용적이 증가하기 때문이다.²⁹⁾ 당뇨쥐에서 신장의 비대 정도는 혈당조절과 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있으며³⁰⁾ 당뇨쥐에 채식이식을 통한 회복은 신장의 비대를 정상화시키는 효과가 있어³¹⁾ 신장비대는 실험동물의 당뇨상태를 나타내 줄 수 있는 지표로 사용될 수 있다고 보고된 바 있다.²⁹⁾ 본 연구결과 당뇨시 L-arginine의 보충 투여는 간과 신장의 비대를 억제시키는 효과가 있는 것으로 나타났다.

2. 혈당의 변화

식이 지방과 L-arginine 투여에 의한 혈당의 변화는 Fig. 1에 제시되었다. 당뇨군의 혈당이 정상군에 비해 유의하게 증가하였으며(p < 0.01) 섭취한 식이 지방의 효과는 나타나지 않았다. 이 결과는 Hennig와 Dupont³²⁾의 연구

에서 STZ으로 유발한 당뇨쥐에 우지나 옥수수유의 섭취가 혈당 변화에 영향을 주지 않았다는 결과와 일치하는 결과였다. 그러나 당뇨시 L-arginine 투여군에서 혈당을 감소시키는 경향이였으며 우지당뇨군에서는 혈당감소가 유의하였다(p < 0.05). 이는 L-arginine의 투여가 NADPH-Ca²⁺ calmodulin-dependent nitric oxide synthase(NOS) 활성증가를 통해 췌장의 β세포에서 NO의 생성을 증가시켜 인슐린 의존형 당뇨병(insulin dependent diabetes mellitus, IDDM)에서 인슐린의 분비를 증가시키는 효과가 있었다는 연구결과 보고와 관련이 있는 것으로 생각된다.³³⁾ Pieper와 Dondlinger¹⁹⁾는 STZ으로 당뇨를 유발한 흰쥐의 혈장 및 혈관 세포조직의 arginine 농도가 감소하였다고 보고하였으며 이는 당뇨시 NO 생성 감소로 인한 L-arginine의 요구량이 증가함을 시사한다. STZ으로 유발한 당뇨군에서 L-arginine의 투여는 NOS를 활성화시켜 인슐린의 분비를 촉진할 가능성이 있으며 본 연구결과에서 L-arginine 투여 당뇨군에서 비투여 당뇨군에 비해 간과 신장 비대가 억제되는 효과와 혈당감소가 있었다. 따라서 식이를 통한 L-arginine의 보충 섭취는 당뇨 증세를 호전시킨 것으로 보여지며, 특히 포화지방을 섭취한 당뇨군에서 유의적인 혈당 감소효과가 있는 것으로 나타났다.

3. Tromboxane B₂, 6-keto PGF1 α 및 von Willbrand factor

In vivo 상태에서 혈관 내피세포의 기능을 나타내주는 지표로 TXA₂, prostacyclin, von Willbrand factor(vWf) 등이 사용되고 있다.^{11,34,35)} 당뇨환자에서 신체에 손상을 주지 않으면서(non invasive) 혈관 내피 세포의 기능 변화를 나타내 줄 수 있는 지표의 개발은 당뇨환자의 혈관내피 세포 기능 변화를 모니터하여 심혈관계 질환을 예방하는 데 필요한 연구과제이며 TXA₂, prostacyclin과 vWf등이 최근 혈관 내피 세포의 기능 변화와 상관관계가 있어 혈관 내피 세포의 기능변화를 나타내 주는 지표로서의 활용 가능성을 보여준다.

TXB₂와 6-keto PGF1 α 는 혈소판과 혈관 내피 세포에서 생성되는 대사물로 심혈관계 질환의 발생과 양의 상관관계가 있는 것으로 알려져 있는 물질이다.³⁶⁾ TXA₂와 PGI₂는 매우 불안정한 대사물로 체내에서 각각 TXB₂와 6-keto PGF1 α 로 전환되므로 TXB₂와 6-keto PGF1 α 가 체내 TXA₂와 PGI₂ 수준을 나타내는 지표로 사용되고 있다. Table 4에 제시한 바와 같이 혈장내 TXB₂는 당뇨군에서 유의하게 증가하였으며 L-arginine의 투여로 인해 감소하는 경향이였다. 정상우지군의 TXB₂의 농도가 정상 대두유군이나 정상

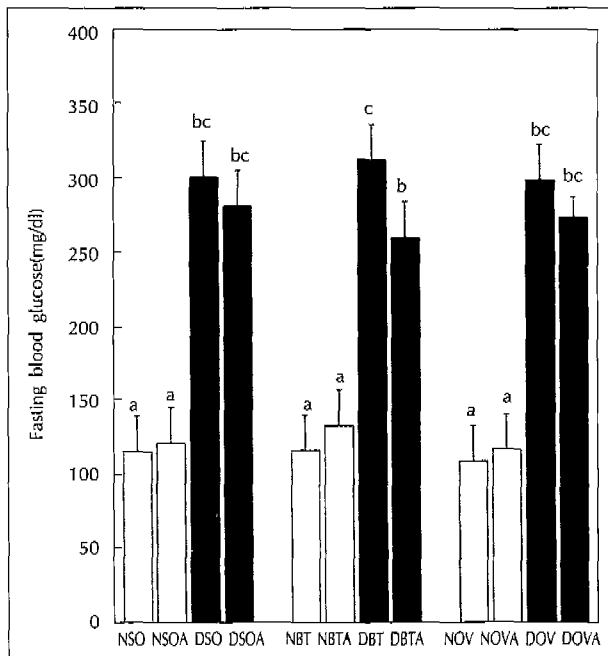


Fig. 1. Effects of dietary fat and the oral supplementation of L-arginine on plasma glucose. 1) The same as the legend in Table 2. 2) Mean \pm SEM, 3) The different alphabets are significantly at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

Table 4. Effects of dietary fat and the oral supplementation of L-arginine on plasma TXB₂, vWf and 6-keto PGF_{1α} of aorta

Groups ¹⁾	TXB ₂ ⁴⁾ (ng/mL plasma)	6-keto PGF _{1α} (ng/mg fat free aorta)	vWf (mU/mL plasma)
NSO	2.55 ± 0.519 ^{2ab}	4.66 ± 0.59 ^{2a3)}	1.09 ± 0.26 ^a
NSOA	2.38 ± 0.53 ^{ab}	2.67 ± 0.79	1.25 ± 0.12 ^{ab}
DSO	4.41 ± 0.48 ^c	5.12 ± 1.46	2.28 ± 0.50 ^{ab}
DSOA	3.02 ± 0.51 ^{abc}	5.99 ± 0.32	1.37 ± 0.20 ^{ab}
NBT	3.05 ± 0.38 ^{bc}	3.73 ± 0.82	1.93 ± 0.61 ^{ab}
NBTA	2.96 ± 0.62 ^{abc}	3.82 ± 1.06	1.56 ± 0.77 ^{ab}
DBT	4.10 ± 0.46 ^{bc}	6.92 ± 1.17	2.79 ± 1.07 ^b
DBTA	2.77 ± 0.56 ^{abc}	5.65 ± 1.20	1.68 ± 0.20 ^{ab}
NOV	2.80 ± 0.81 ^{abc}	4.52 ± 0.59	1.63 ± 0.24 ^{ab}
NOVA	2.01 ± 0.36 ^a	3.89 ± 0.36	1.76 ± 0.10 ^{ab}
DOV	4.11 ± 0.51 ^{bc}	4.27 ± 0.52	2.08 ± 0.55 ^{ab}
DOVA	2.97 ± 0.65 ^{abc}	5.31 ± 0.62	1.73 ± 0.25 ^{ab}
Significant factor ⁵⁾	D*A	NS	D*A

1) The same as the legend in Table 2.

2) Mean ± SEM

3) The different alphabets in the same column are significantly at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

4) TXB₂: thromboxane B₂, 6-keto PGF_{1α}: prostaglandin F_{1α}, vWf: von Willebrand factor

5) Significant factor

D*A: Interaction of diabetes mellitus and L-arginine supplementation was significant at $\alpha = 0.05$ by F-test

올리브유 섭취군에 비해서 높은 경향이었다. 이 결과는 Barcelli등³⁶⁾이 STZ으로 당뇨를 유발한 쥐에 우지, 홍화유, EPA, DHA 또는 evening primrose oil(EPO)을 각각 38주 공급한 결과 불포화지방산이 다량 함유된 홍화유와 EPO 섭취가 포화지방산 섭취에 비해 TXB₂의 생성량을 감소시켰다는 결과와는 유사한 결과였다. 본 연구에서 당뇨시 L-arginine의 투여로 인해 TXB₂ 수준이 감소되었다. 대동맥 조직의 6-keto PGF_{1α} 함량은 당뇨군에서 유의하지는 않았으나 정상군에 비해 증가하는 경향을 나타내었으며, 식이 지방이나 L-arginine 투여에 의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 대두유나 우지 섭취 당뇨군의 6-keto PGF_{1α} 수준이 올리브유 당뇨군에 비해 높은 경향이었다. 식이 지방산에 의한 혈청 TXB₂의 변화는 많은 실험에서 관찰되었는데 포화지방산이나 n-6 지방산에 비해 n-3 지방산이 arachidonic acid 대사를 방해하여 arachidonic acid로부터 합성되는 TXB₂와 PGI₂ 합성량을 감소시켰으며,^{35,38)} 식이내 n-6 지방산이 많을수록 PGI₂ 합성이 증가하고 n-3 지방산의 섭취는 PGI₂ 합성을 감소시키는 것으로 알려져 있다.³⁷⁾ 대조적으로 Fisher와 Weber³⁹⁾는 n-3 지방산 섭취에 의한 6-keto PGF_{1α} 감소효과를 관찰하지 못하였다고 보고하고

있어 지속적인 연구가 필요하다고 사료된다.

본 연구에서 당뇨로 인해 혈장내 TBA₂ 생성량의 지표로 사용되는 TXB₂의 농도는 유의하게 증가하였으며 L-arginine의 투여로 인해 TXB₂의 농도는 감소하는 경향이었다($p < 0.05$). TXA₂와 PGI₂는 혈소판을 활성화 시켜 혈소판 응집을 유발하는 물질로 고콜레스테롤 혈증으로 인한 혈관 내피세포의 손상시 더욱 그 합성량이 증가하여 손상된 혈관내피 세포에 혈소판 부착과 응집을 초래하여 동맥경화증을 진행시킨다.¹⁵⁾

체내에서 고콜레스테롤이나 당뇨로 인한 NO 합성 감소가 혈관 내피 세포 손상의 주요 원인으로 추정되고 있다.¹⁵⁻¹⁸⁾ NO는 혈관의 이완시키는 주요 물질로 IDDM과 인슐린 비 의존형 당뇨병환자(noninsulin dependent diabetes mellitus, NIDDM)에서 nitric oxide synthase의 활성이 감소되어 NO의 합성이 감소되며, 생성된 NO도 고혈당으로 인한 당화 화합물과 결합(quench)하여 이용도(bioavailability)가 감소된다.^{40,41)} NO의 감소는 혈소판에서 TXA₂ 합성 및 방출을 증가시키고 prostacyclin 합성의 전구체로 사용되는 endoperoxide를 혈소판으로부터 혈관 내피 세포로 이동 시켜 PGI₂의 합성을 증가시켜 동맥경화증을 진전시키는 것으로 보고된 바 있다.¹¹⁾ 본 연구 결과 L-arginine의 투여로 인한 TXA₂와 PGI₂의 생성량 감소는 L-arginine 보충 투여로 인해 NO의 생성이 회복되어 당뇨로 인한 혈관 내피 세포의 손상을 지연시키는 효과가 있음을 시사한다.

혈장내 vWf의 농도는 정상군에서는 식이 지방이나 L-arginine의 보충 투여로 인한 영향이 나타나지 않았으나, 당뇨로 인해 혈장 vWf 농도가 증가하였다. 섭취한 식이 지방의 영향은 통계적으로 유의하지 않았으나 우지 당뇨군, 대두유 당뇨군, 올리브유 당뇨군 순으로 낮아졌으며 이 결과는 인슐린 비 의존형 당뇨병환자에 총 에너지 섭취량의 30%를 monounsaturated fatty acid(MUFA)와 polyunsaturated fatty acid를 3주간 섭취케 한 후 MUFA 섭취군에서 혈장 vWf 농도가 유의하게 낮아졌다는 Thomsen등⁴²⁾의 연구결과와 유사하였으며, Perez-Jimenez등⁴³⁾의 연구결과와도 유사하였다. 당뇨는 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS) 생성 증가로 인해 만성적인 산소스트레스에 노출되어 있으며, ROS가 혈관 내피 세포에서 vWf의 방출을 증가시키고 vWf는 혈소판이 혈관 내피 세포에 부착되는 것을 활성화시켜 혈관협착증을 유발한다고 보고된 바 있다.⁴⁴⁾ MUFA는 ROS로부터 세포막을 보호하여 vWf 방출을 감소시킬 수 있는 것으로 보고되었다.⁴⁵⁾ 본 연구에서 L-arginine의 보충 투여는 vWf의 농도를 정상군 수준으로 감소시켰으며, 이는 혈장내 vWf농도와 NO 생성과의

관련성을 나타내주고 있다. L-arginine의 보충 투여로 인한 NO 생성의 증가가 혈관에서 superoxide radical의 방출을 감소시켜 혈관 내피 세포를 보호한다는 보고가 일부 있으나⁴⁶⁾ L-arginine의 혈관 내피 세포 기능을 개선시키는 기전에 대한 연구는 혈관 내막 세포의 구조 및 기능 변화 탐색과 더불어 더 많은 연구가 필요한 과제라 생각된다.

본 연구 결과 당뇨병에서 L-arginine 보충 투여로 인해, 혈당의 개선 효과와 이에 따른 혈장내 TXB₂와 vWf농도 감소로 미루어 이들 지표들은 당뇨병환자에서 in vivo에서 혈관 내피 세포의 기능 손상 및 회복을 예측할 수 있는 지표로 사용될 수 있다고 생각된다.

4. 혈장 Nitrite

혈장 nitrite 농도는 Fig. 2에 제시한 바와 같이 정상군에서 올리브유 섭취군에서 가장 높았으며 당뇨병에서 nitrite 농도가 식이 지방 급원에 상관 없이 감소하는 경향이였으며 대두유군, 우지군순으로 낮아졌다. 혈장 Nitrite는 NO로부터 dinitrogen trioxide를 거쳐 pseudo-first order kinetics로 생성되는 주요 대사 산물로 체내 NO 생성과 비례하므로 혈관내피세포의 NO 생성량의 변화를 반영한다고 보고되고 있다.⁴⁷⁾ L-arginine의 섭취는 정상군에서는 혈장 nitrite 농도에 영향을 주지 않았으나 당뇨병에서는 혈장

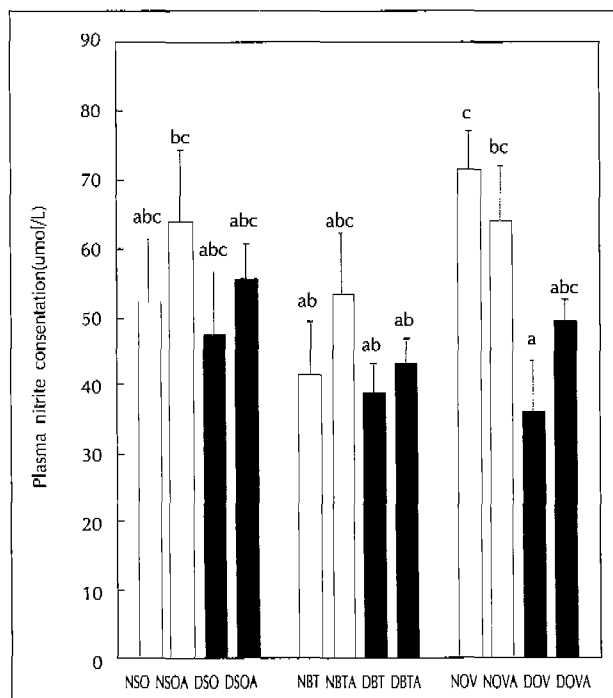


Fig. 2. Effects of dietary fat and the oral supplementation of L-arginine on plasma nitrite concentration. 1) The same as the legend in Table 2. 2) Mean \pm SEM, 3) The different alphabets are significantly at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

nitrite 농도를 증가시켰으며 Fig. 2에는 제시되지 않았으나 3-way ANOVA 결과 당뇨병시 L-arginine의 보충은 통계적으로 유의하였다($p < 0.05$) 이 결과는 고콜레스테롤혈증으로 인해 혈관 내피 세포의 기능이 손상된 토끼에서 L-arginine의 보충 투여가 nitrite의 생성을 증가시키고 뇨를 통한 배설량이 감소되었으며 혈관 내피 세포 기능이 회복되었다는 선행연구 결과들과 유사한 결과였으며^{48,49)} 본 연구에서는 고혈당으로 인한 NO 생성 감소도 L-arginine의 보충섭취로 회복시킬 수 있는 것으로 사료된다. 그러나 본 연구에서 식이 지방의 차이는 NO 생성에 영향을 주지 않았으며 이는 Nishimura등⁵⁰⁾의 결과와는 일치하지 않았다. Nishimura등은 당뇨병쥐를 이용하여 n-3 지방산의 6주간 경구투여가 NO의 생성을 자극하고 NO의 증가가 혈관 내피 세포의 손상을 억제할 수 있다고 보고하였다. 이 차이는 식이 섭취 기간과 섭취하는 지방산의 종류의 차이에 기인한다고 생각된다.

5. 체내 지질대사

혈장내 지질의 농도는 Table 5에 나타내었다. 정상군에 비해 혈장 총콜레스테롤은 대두유와 올리브유를 섭취한 당뇨병에서 유의적으로 증가하였으며, 대두유를 섭취한 당뇨병의 총콜레스테롤 농도가 가장 높았다. 당뇨병시 L-arginine의 섭취는 유의하지는 않았으나 대두유나 올리브유 섭취시 혈장 총콜레스테롤의 농도를 감소시키는 경향이였으며, 포화지방 섭취시 오히려 총콜레스테롤량을 증가시켰다. 이 결과는 STZ으로 당뇨를 유발한 Wistar종 쥐에서 올리브유 섭취가 혈장 총콜레스테롤농도에는 영향을 주지 않았다고 한 Giron등⁵¹⁾의 결과와는 일치하지 않았다. 혈장내 중성지방의 농도는 정상군에서는 올리브유 섭취군이 가장 높았으며, 당뇨 유발로 인해 중성지방의 농도는 증가하였으며 우지 당뇨병군이 116.6mg/dl로 가장 높고, 대두유 당뇨병군과 올리브유 당뇨병군은 비슷한 수준이었다. 당뇨병에서 L-arginine의 섭취는 우지당뇨군과 올리브유 당뇨병의 혈장 중성지방의 농도를 감소시켰으며 이 농도는 정상군에 비해서도 낮은 수준이었다. HDL-콜레스테롤농도는 정상군에 비해 당뇨병에서 유의하게 높아졌으며, L-arginine을 보충 섭취한 우지당뇨군에서 유의하게 높았으며, 당뇨병에서 L-arginine의 섭취는 HDL-콜레스테롤에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. Clarkson등⁵²⁾이 사람을 대상으로 한 연구에서 L-arginine의 경구 투여가 혈장내 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤에 영향을 주지 않았다고 보고한 결과와는 일치하지 않았다. 당뇨병에서 HDL-콜레스테롤의 증가는 혈장 콜레스테롤의 농도가 증가한 것 때문으

Table 5. Effects of dietary fat and the oral supplementation of L-arginine on total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol in plasma

Groups ¹⁾	Total cholesterol	Triglyceride	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol
NSO	57.0 ± 5.0 ^{2)ab3)}	87.4 ± 9.9 ^{ab}	21.0 ± 3.2 ^a	22.8 ± 3.5 ^{ab}
NSOA	42.7 ± 3.3 ^a	83.3 ± 6.9 ^{ab}	19.7 ± 2.3 ^a	14.8 ± 1.7 ^a
DSO	97.4 ± 8.6 ^c	103.7 ± 9.8 ^{ab}	34.6 ± 5.6 ^b	47.1 ± 6.6 ^c
DSOA	80.5 ± 6.3 ^c	80.1 ± 9.8 ^{ab}	33.0 ± 1.4 ^{ab}	30.5 ± 6.2 ^{abc}
NBT	57.2 ± 7.3 ^{ab}	90.6 ± 9.7 ^{ab}	20.9 ± 2.7 ^a	23.6 ± 6.36 ^{ab}
NBTA	57.6 ± 4.1 ^c	92.9 ± 9.4 ^{ab}	21.2 ± 3.8 ^a	26.5 ± 4.9 ^{abc}
DBT	93.2 ± 9.3 ^c	116.6 ± 17.8 ^b	31.7 ± 4.9 ^{ab}	32.8 ± 5.4 ^{abc}
DBTA	109.1 ± 6.8 ^c	72.4 ± 5.9 ^a	40.5 ± 5.5 ^b	44.6 ± 14.2 ^c
NOV	55.2 ± 3.4 ^a	102.0 ± 13.7 ^{ab}	21.7 ± 1.6 ^a	20.6 ± 1.9 ^{ab}
NOVA	47.5 ± 4.9 ^d	72.8 ± 9.3 ^a	20.6 ± 3.8 ^a	28.3 ± 3.7 ^{abc}
DOV	91.8 ± 5.8 ^c	105.6 ± 13.1 ^{ab}	37.1 ± 2.4 ^b	36.1 ± 7.8 ^{bc}
DOVA	76.9 ± 5.2 ^{bc}	73.8 ± 5.4 ^a	39.2 ± 2.8 ^b	33.9 ± 11.7 ^{abc}
Significant factor ⁴⁾	D	NS	D	D

1) The same as the legend in Table 2

2) Mean ± SEM

3) The different alphabets in the same column are significantly at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

4) Significant factor

D: The effect of diabetes mellitus was significant at $\alpha = 0.05$ by F-test

로 사료된다. 그리고 일반적으로 혈장내 HDL-콜레스테롤 농도는 간장 내에서의 합성과 분해 정도에 따라 달라지며 HDL-콜레스테롤의 변동 경향은 연구자에 따라 상반된 결과를 보이고 있다.^{53, 54)} LDL-콜레스테롤은 당뇨병이 정상군에 비해 유의적으로 높은 수준이었으며, 대두유 당뇨병의 수준이 가장 높았다. 당뇨 유발후 L-arginine의 섭취는 혈장 LDL-콜레스테롤농도에 영향을 주지 않았다. 선행 연구들에서 당뇨병시 n-3 지방산이나 MUFA의 섭취가 혈장 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤을 감소시켜 혈액내 지질 대사를 개선시켰다고 보고 한 바 있다.^{43, 55)} Hogg등은⁵⁶⁾ L-arginine이 혈액내 LDL 산화를 억제하였다고 보고한 바 있다.

요약 및 결론

본 연구는 인슐린 의존형 당뇨병시 식이 지방의 종류와 L-arginine의 보충이 혈관내피세포의 기능손상 정도 및 체내 지질대사에 미치는 영향을 조사하기 위해 대두유, 우지, 올리브유를 포함한 식이와 음용수를 통해 L-arginine을 보충 투여하면서 혈당, 혈장 marker를 이용한 혈관 내피 세포의 기능손상의 변화 및 체내 지질대사의 변화를 살펴보았다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 당뇨병에서 L-arginine 투여가 식이 효율을 높였으며 우지당뇨군의 간 비대가 가장 뚜렷하였으며, 올리브유를 섭취하면서 L-arginine을 투여한 당뇨병의 간과 신장 비대가 억제되었다.

2) 혈당은 우지당뇨군 > 대두유 당뇨병 > 올리브유 당뇨병의 순서로 높았으며, 당뇨병시 L-arginine의 보충섭취는 우지 당뇨병에서 유의하게 혈당을 감소시켰으며, 대두유나 올리브유 당뇨병에서도 혈당을 감소시키는 경향을 보였다.

3) 혈장내 TXB₂의 농도는 당뇨병시 증가하였으며 L-arginine의 보충투여로 유의하게 감소되었다($p < 0.05$). 그러나 대동맥 6-keto PGF_{1 α} 는 유의적인 차이가 없었다. 혈장 vWf 수준은 정상상태에서는 우지를 공급한 군에서 가장 높았으며, 당뇨 유발후 혈장 vWf 농도는 유의하게 증가하였고, 올리브유 당뇨병이 대두유 당뇨병과 우지 당뇨병에 비해 가장 낮았으며, L-arginine의 투여로 혈장 vWf 수준이 유의하게 감소하였다.

4) 혈장 nitrite 농도는 정상시 올리브유군이 가장 높았고 대두유군, 우지군의 순서를 보였다. L-arginine의 보충섭취는 대두유군과 우지군에서 혈장 nitrite의 농도를 증가시켰다. 당뇨로 인해 혈장 nitrite 농도는 감소하는 경향이 있었으며 L-arginine의 섭취로 인해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).

5) 당뇨로 인해 혈장 총콜레스테롤의 농도는 증가하였으며 L-arginine의 섭취는 대두당뇨군과 올리브유 당뇨병의 혈장 총 콜레스테롤 농도를 유의하게 감소시켰으나 우지 당뇨병은 오히려 L-arginine섭취로 인해 증가하였다. 혈장 중성지방은 통계적으로 유의하지 않았으나 당뇨유발로 인해 증가하는 경향이었으며, L-arginine의 보충섭취로 인해 감소하는 경향이였다. 혈장 HDL-콜레스테롤은 당뇨병시 증

가하였다. 혈장 LDL-콜레스테롤은 당뇨로 인해 유의하게 증가하였으며 보충투여의 효과는 나타나지 않았다.

이상의 결과를 종합해 보면 당뇨시 포화지방의 섭취는 MUFA가 다량 함유된 올리브유 섭취에 비해 혈당상승 및 혈관내피세포의 기능 손상의 가능성을 더욱 초래하는 것으로 나타났다. 당뇨시 L-arginine의 보충투여를 하였을 때 혈당이 개선되었고, NO생성이 가장 증가하였으며 혈관내피세포의 기능변화의 지표로 사용되는 혈장내 TXB₂와 vWf의 농도가 낮아졌으며 혈장내 총콜레스테롤과 중성지방농도를 감소시키는 경향이였으며 이 효과는 올리브유를 섭취하였을 때 가장 유익한 것으로 나타났다.

당뇨시 혈관내피세포의 기능손상으로 인한 심혈관계 질환의 발병의 예방은 매우 중요한 요소이다. 본 연구에서 식이 지방과 병행하여 L-arginine을 보충 투여 하여 NO 생성을 증가시키는 것은 당뇨로 인한 혈관합병증을 억제 내지는 예방할 수 있는 또 다른 고려 방법이 될 수 있다고 본다. 또한 본 연구결과 TBX₂나 vWf와 같은 plasma 지표는 체내에 손상을 주지 않고 in vivo상태에서 혈관 내피 세포 기능의 손상을 예측하는 데 활용될 가능성을 제시한다.

Literature cited

- 1) National statistical office, '98 The Cause of Death Statistics, 1999
- 2) Ruderman NB, Haudenschild C. Diabetes as an atherogenic factor. *Prog Cardiovasc Dis* 26: 373-412, 1984
- 3) Garcia MJ, Mcnamara PM, Gordon T, Kannell WB. Morbidity and mortality in diabetes in the Framingham population. *Diabetes* 23: 105-111, 1974
- 4) Merimee TJ. Diabetic retinopathy: a synthesis of perspectives. *N Eng J Med* 322: 978-983, 1990
- 5) Zatz R, Bremmer BM. Pathogenesis of diabetic microangiopathy: the methodynamic view. *AM J Med* 80: 443-453, 1986
- 6) Atsunana T, Okumura K, Ishizaka H, Tsunoda R, Tayama S, Tabuchi T, Yasue H. Impairment of Coronary Blood Flow Regulation by Endothelium-Derived Nitric Oxide in Dogs with Alloxan-Induced Diabetes. *J Cardiovasc Pharmacol* 28: 60-67, 1996
- 7) Hadcock S, Richardson M, Winocour PD, Hatton MW. Intimal alterations in rabbit aortas during the first 6 months of alloxan-induced diabetes. *Arterioscler Thromb* 11: 517-529, 1991
- 8) Grunwald J, Hesz A, Robenek H, Brucker J, Buddecke E. Proliferation, Morphology, and low-density lipoprotein metabolism of arterial endothelial cells cultured from normal and diabetic minipigs. *Exp Mol Pathol* 42: 60-70, 1985
- 9) Chan NN, Vallance P, Colhoun HM. Nitric Oxide and vascular responses in Type I Diabetes. *Diabetologia* 43: 137-147, 2000
- 10) Koltai MZ, Hadhzy P, Psa I, Kocsis E, Winkler G, Rsen P, Pogtsa G. Characteristics of coronary endothelial dysfunction in experimental diabetes. *Cardiovascular Res* 34: 157-163, 1997
- 11) Bode-Böger, SM, Böger RH, Kienke S, Bhme M, Phivthongnam L, Tsikas D, Frölich JC. Chronic dietary supplementation with L-arginine inhibit platelet aggregation and thromboxane A2

- synthesis in hypercholesterolaemic rabbits in vivo. *Cardiovasc Res* 37: 756-764, 1998
- 12) Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. Characterization of the L-arginine: Nitric oxide pathway in human platelets. *Br J Pharmacol* 101: 325-328, 1987
- 13) Schafer AI, Crawford DD. Gimhrone MA. Jr. Unidirectional transfer of prostagladin endoperoxides between platelets and endothelial cell. *J Clin Invest* 73: 1105-1112, 1984
- 14) Chesfennatt CN, Owe-Young R, MacPherson J, Krifis SA. Substrate for endothelial prostacyclin production in the presence of platelets exposed to collagen is derived from the platelets rather than the endothelium. *Blood* 67: 1744-1750, 1986
- 15) Bunting S, Moncada S, Vane JR. The prostacyclin-thromboxane biosynthesis in cardiovascular disease. *Circulation* 67: 1174-1177, 1983
- 16) Stehouwer CDA, Fischer HRA, van Kuijk AWR, Polak BCP, Donker AJM. Endothelial dysfunction precedes development of microalbuminuria in IDDM. *Diabetes* 44: 561-564, 1995
- 17) De Meyer GR, Hoyaerts MF, Kockx MM, Yamamoto H, Herman AG, Bult H. Intimal deposition of functional von Willebrand factor in atheogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 2524-2534, 1999
- 18) Hirano T, Ookubo K, Kashiwazaki K, Tajuma H, Yoshino G, Adachi M. Vascular endothelial markers, von Willebrand factor and thrombomodulin index, specifically elevated in type 2 diabetic patient with nephropathy: comparison of primary renal disease. *Clin Chi Acta* 299: 65-75, 2000
- 19) Pieper GM, Dondlinger LA, Plasma and vascular tissue arginine are decreased in diabetes: Acute arginine supplementation restores endothelium-dependent relaxation by augmenting cGMP production. *J Pharmacol Exp Therapeutics* 283: 684-691, 1997
- 20) Duranfe W, Sen AK, Sunabara FA. Impairment of endothelial-dependent relaxation of arotae from spontaneously diabetic rats. *Br J Pharmacol* 94: 463-468, 1988
- 21) Calver A, Collier J, Vallance P. Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 90: 2548-2554, 1992
- 22) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC, Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the american institute of nutrition Ad Hoc Wirting Committee on the reformation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951, 1993
- 23) Croft KO, Beilin LJ, Vondongen R, Mathew E. Dietary modification of fatty acid and prostaglandin synthesis in the rat-effect of variations in the level of dietary fat. *Biochim Biophy Acta* 795: 196-207, 1984
- 24) Fitzpatrick FA, Gorman RR, McGuire JC, Kelly RC, Wynalda MA, Sun FF. A radioimmunoassay for thromboxane B₂. *Anal Biochem* 82: 1-7, 1977
- 25) Fitzpatrick FA, Stringfellow DA, Maclouf FJ, Rigaud M. In Prostaglandin. Ed by van JR, Gergstrom S. Raven Press, New York, 1979
- 26) Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502, 1972
- 27) Preston AM, Tome J, Morales JJ, Milan L, Cuevas AA, Medina J, Sandiago JA. Diabetic parameters 58 weeks after injection with streptozotocin in rats fed basal diets or diets supplemented with fiber, minerals and vitamins. *Nutr Res* 11: 895-906, 1991

- 28) Park SH, Lee HS, Effects of legume supplementation on the gastrointestinal function and diabetic symptoms in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor J Nutr* 32: 617-627, 1999
- 29) Gallaher DD, Csallany AS, Shoemam DW, Olson JM. Diabetes increase excretion of urinary malondialdehyde conjugates in rats. *Lipids* 28: 663-666, 1993
- 30) Seyer-Hansen K. Renal hypertrophy in streptozotocin-diabetic rats. *Clin Sci Mol Med* 51: 551-555, 1976
- 31) Mauer SM, Steffes MW, Michael AF, Brown DM. Studies of diabetic nephropathy in animal and man. *Diabetes* 25(suppl 2): 850-857, 1976
- 32) Hennig B, Dupont J. Lipoprotein lipid and protein responses to dietary fat and diabetes in rats. *J Nutr* 113: 1984-1994, 1983
- 33) Schmidt HH, Warner TD, Ishii K, SHeng H, Murad F. Insulin secretion from pancreatic B cells caused by L-arginine nitrogen oxides. *Science* 255: 721-723, 1992
- 34) Vischer UM, Emeis JJ, Bilo HJ, Stehouwer CDA, Thomsen C, Rasmussen O, Hermansen K, Wollheim CB, Ingerslev J. von Willebrand Factor(vWf) as a plasma marker of endothelial activation in diabetes: Improved reliability with parallel determination of the vWf propeptide(vWf: AgII). *Thromb Haemost* 80: 1002-1007, 1998
- 35) Kim WK, Lee KA, Kim SH. Effects of perilla oil and tuna oil on lipid metabolism and eicosanoids production in rats. *Kor J Nutr* 29: 703-712, 1996
- 36) Böger RH, Bode-Böger SM, Gutzki FM, Tsikas D, Weskohl HP, Frölich JC. Rapid and selective inhibition of platelet aggregatin and thromboxane formation by intravenous low dose aspirin in man. *Clin Sci* 84: 517-524, 1993
- 37) Barcelli UO, Wiess M, Beach D, Motz A, Thompson B. High linoleic acid diets ameliorate diabetic nephropathy in rats. *Am J Kidney Dis* 16: 244-251, 1990
- 38) Croft KD, Codde JP, Barden A, Vandongen R, Beilin LJ. Onset of changes in phospholipid fatty acid composition and prostaglandin synthesis following dietary manipulation with n-6 and n-3 fatty acids in the rat. *Biochim Biophys Acta* 834: 36-323, 1985
- 39) Fisher S, Weber PC. Prostaglandin I₂ in man after eicosapentaenoic acid. *Nature* 307: 165-168, 1984
- 40) Martina V, Bruno G, Trucco F, Zumpano E, Tagliabue M, Bisceglie CD, Pescarmona G. Platelet cNOS activity is reduced in patients with IDDM and NIDDM. *Thromb Haemost* 79: 520-522, 1998
- 41) Chan NN, Vallance P, Colhoun HM. Nitric oxide and vascular responses in type I diabetes. *Diabetologia* 43: 137-147, 2000
- 42) Thomsen C, Rasmussen Ow, Ingerslev J, Hermansen K. Plasma levels of von Willebrand factor in non-insulin-dependent diabetes mellitus are influenced by dietary monounsaturated fatty acids. *Thromb Res* 77: 347-356, 1995
- 43) Perez-Jimenez F, Castro P, Lopez-Miranda J, Paz-Rojas E, Blanco A, Lopez-Segura F, Velasco F, Marin c, Fuentes F, Ordovas JM. Circulation levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis* 145: 351-358, 1999
- 44) Wautier JL, Wautier MP, Schmidt AM, Anderson Gm, Hori O, Zoukourjan C, Capron L, Chappey O, Yan SD, Brett J, Guillausseau PJ, Stern D. Advanced glycation end products(AGEs) on the surface of diabetic erythrocytes bind to the vessel wall via a specific receptor inducing oxidant stress in the vasculature: a link between surface-associated AGEs and diabetic complications *Proc Natl Acad Sci* 91: 7742-7746, 1994
- 45) Vossen RC, van Dam Mieras MC, Homstra G, Zwaal RF. Differential effects on endothelial cell fatty acid modification on the sensitivity of their membranes phospholipids to peroxidation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty acids* 52: 431-437, 1995
- 46) Bger RH, Bode-Bger SM, Mgege A, Kienke S, Brandes R, Dwenger A, Frlich JC. Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production. *Atherosclerosis* 117: 273-284, 1995
- 47) Kelm M, Feelisch M, Spahr R. Quantitative and kinetic characterization of nitric oxide and EDRF release from cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 154: 236-244, 1988
- 48) Bger RH, Stefanie M, Bode-Bger, Brandes RP, Phivthong-ngam L, Bhme M, Nafe R, Mgege A, Frlich JC. Dietary L-arginine reduces the progression of atherosclerosis in cholesterol fed rabbits: Comparison with Lovastatin. *Circulation* 96: 1282-1290, 1997
- 49) Phivthong-ngam L, Bode-Bger SM, Bger RH, Bhme M, Brandes RP, Mgege A, Frlich J. Dietary L-arginine normalizes endothelin-induced vascular contractions in cholesterol-fed rabbits. *J Cardiovas Pharmacol* 32: 300-307, 1998
- 50) Nishimura M, Nanbu A, Komori T, Ohtsuka K, Takahashi H, Yoshimura M. Eicosapentaenoic acid stimulates nitric oxide production and decreases cardiac noradrenalin in diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27: 618-624, 2000
- 51) Giron MD, Sanchez F, Hortelano P, Periago JL, Suarez. Effects of dietary fatty acids on lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism* 48: 455-460, 1999
- 52) Clarkson P, Adams Mr, Powe AJ, Donald AE, McCredle R, Robisons J, McCarthy SN, Keech A, Celermajer DS, Deanfield JE. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest* 97: 1989-1994, 1996
- 53) Hang A, Hostmark AT. Lipoprotein lipases, lipoprotein and tissue lipids in rats fed fish oil or coconut oil. *J Nutr* 117: 1011-1017, 1987
- 54) Harris WS, Connor WE, McMurry MP. The comparative reductions of the plasma lipids and lipoproteins by dietary polyunsaturated fats: salmon oil versus vegetable oils. *Metabolism* 32: 179-184, 1983
- 55) Venkatraman JT, Pehowich D, Singh B, RRajotte TV, Thomson AB, Clandinin K. Effect of dietary fat on diabetes-induced changes in liver microsomal fatty acid composition and glucose-6-phosphatase activity in rats. *Lipids* 26: 441-444, 1991
- 56) Hogg N, Kalyanaraman B, Joseph J, Struck A. Parthqsarathy S. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by nitric oxide: potential role in atherogenesis. *FEBS Lett* 334: 170-174, 1993