

개에서의 조직 아이코사노이드 생산과 혈액응고 매개변수에 관한 식이성 지방산 비율의 영향(5)

(Influence of Dietary Fatty Acid Ratios on Tissue Eicosanoid Production and Blood Coagulation Parameters in Dogs)

Dana M. Vaughn*, PhD, Gregory A. Reinhart**, PhD

조영웅***, PhD

서론(Introduction)

지난 10여년동안, 중차대한 주의가 아이코사노이드 생산을 수정하기 위한 식이성 오메가-3(n-3) 지방산 첨가의 사용에 관하여 초점이 맞춰 이루어졌다. 오메가-3 지방산의 어유원(fish oil sources)들은 인체내에서 심폐질환, 암, 당뇨 및 염증 또는 알레르기성 피부와 장 질환의 발생을 감소시키는데 성공적으로 사용되어진 바 있다.¹⁻⁶ 오메가-6과 오메가-3 다불포화지방산을 배합한 첨가사료는 개와 같은 가축들의 건강과 외모에 유익한 것으로 믿어진다. 개와 고양이들의 다양한 소양증을 일으키는 피부증세에서 사료중에 오메가-3 지방산을 첨가했을 때 좋은 반응을 나타냈다.⁷⁻¹¹ 특발성 지루성 피부염을 앓고 있는 4마리의 개들에서 사료중에 오메가-3 지방산을 첨가했을 때 뚜렷한 개선이 나타났다.¹² 다른 조사연구에서도 지방산의 사용은 고관절부 관절염에 걸린 개들에 대해서도 유익하게 될 수도 있다는 것이 제시되었다.¹³ 오메가-3 지방산들에 대한 다른 제시들은 고지질혈증(hyperlipidemia), 혈전색전질환(thromboembolic disease) 및 종양(neoplasia)의 치료를 포함하고 있다.⁸

아이코사노이드들은 20-탄소지방산들의 대사산물들로; 그것들은 류코트라이인, 트롬복세인, 프로스타글란딘 및 수산화 아이코사테트라에노이드산들을 포함

한다. 이러한 화학조절 물질들은 다양한 염증, 혈관이완 및 대사작용을 가지며 아라키돈산(n-6)과 아이코사펜타에노이드산(n-3)에서의 사이클로옥시제네이스와 리폭시제네이스의 작용으로 생성된다.

아라키돈산은 아이코사노이드 생합성에서 생긴 1단계 기질로서 혈청과 혈장내에서 발견되어질 수가 있으며 세포막인지질의 구성요소이다. 아라키돈산(20:4 n-6)은 4개의 2중결합을 가지는 20-탄소지방산이다; 마지막 2중결합은 분자의 오메가(꼬리부분) 끝으로부터 6번째 탄소위에 있어서 오메가-6 지방산이라 부른다. 대조적으로 오메가-3 다불포화지방산 즉, 20-탄소 아이코사펜타에노이드산(20:5 n-3)처럼 분자의 꼬리끝에서부터 세번째에서 마지막 탄소위에 추가적인 2중결합을 가진다. 이 추가 2중결합은 다불포화 오메가-3 지방산들로부터 만들어진 아이코사노이드들의 분자반응 또는 반응력(molecular reactivity)을 감소시킨다. 오메가-3과 오메가-6 지방산 계통의 정상대사작용은 그림1과 같다(그림1).

오메가-3 지방산들은 류코트라이인 B, 프로스타글란딘 E 및 트롬복세인 A의 이성체들로 전환되며 상응하는 오메가-6 지방산 이성체들보다 아주 덜 친-염증성이다. 오메가-3 유래 류코트라이인 B₅(LTB₅)는 상응하는 오메가-6 유래 류코트라이인 B₄(LTB₄)보다 류코트라이인 B 수용체를 자극시키는데 있어 30-100배나 약하다고 보고되었다.¹⁴⁻¹⁸

호중구상에 있는 LTB₄ 수용체의 자극은 호중구 보충(neutrophil recruitment), 화학주성(Chemotaxis), 탈과립(degranulation), 게다가 류코트라이인 B합성(leukotriene B synthesis) 및 염증반응의 영구화(the perpetuation of an inflammatory response)의 주기성 직렬(cyclic cascade)에서

* Scott-Ritchey Research Center, Auburn University, Auburn, Alabama. Current address: InnoPet, Inc., Fort Lauderdale, Florida U.S.A.

** Research and Development, The Iams Company, Lewisburg, Ohio, U.S.A.

*** 조영웅(역자) 대한수의사회 사무처장

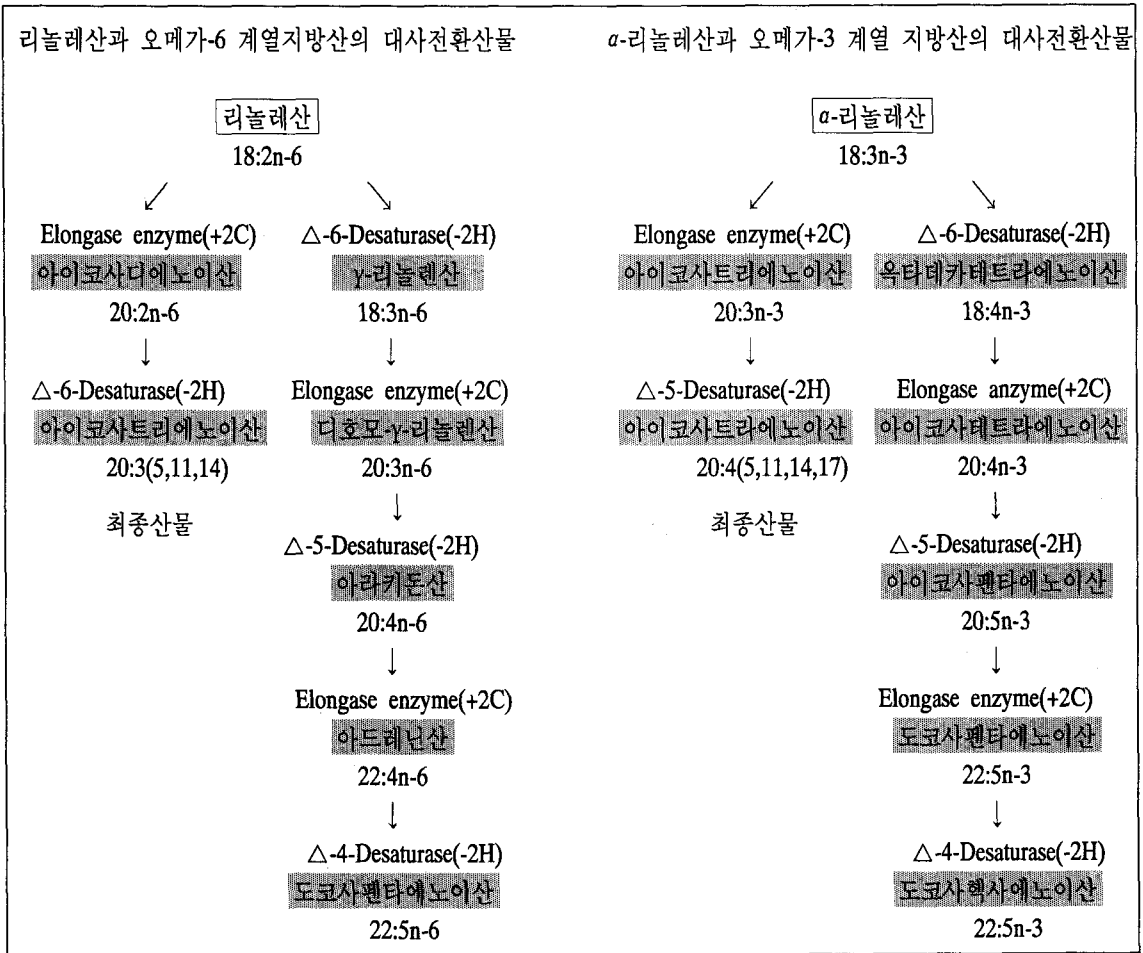


그림 1. 리놀레산과 오메가-6 계열 및 α-리놀렌산과 오메가-3 계열지방산의 대사전환산물.

의 초기단계의 하나다.¹⁴ 선택적으로 증가시킨 합성 LTB₅의 양은 LTB₄-유도 호중구 반응을 경쟁적으로 억제하였으며 차후에는 LTB₄-매개염증이 소멸되었다.¹⁵

오메가-3 지방산들은 합성을 억제함으로써 LTB₄의 친-염증작용을 감소시켜 주는데 기여할 수도 있다. 오메가-3 아이코사펜타에노산은 류코트라이인 A 하이드로레이스와 5-리폭시지네이스에 의해 LTB₅로 대사되어진다. 아이코사펜타에노산은 류코트라이인 A 가수분해효소에 대한 오메가-6 아라키돈산에 대항하는 경쟁적인 기질로서 작용한다.^{1,19,20} 추가적으로, LTB₅는 5-리폭시지네이트의 약한 억제제가 되어질 수 있다.²¹

아이코사노이드들은 조직내에 저장되지 않는다.

대신, 다양한 자극들의 반응에 의해 세포막 인지질속에 있는 다불포화지방산들로부터 합성되어진다. 오메가-3 지질들인 아이코사펜타에노산(20:5 n-3)과 도코사헥사에노산(22:6 n-3)을 규정식에 첨가했을 때 오메가-6 지방산들의 농도중 상용하는 감소를 가진 조직과 순환세포^{22,23}의 세포막 인지질속으로 이러한 오메가-3 지방산의 삼입이 결과로 나타난다.^{6,24,25}

인체내에서 오메가-3 지방산의 고수준 소비는 출혈 시간과 혈소판기능에 다양하게 영향을 끼치는 것으로 제시되어왔다.^{26,27} 이와같은 영향들을 설명해주는 메카니즘은 세포막의 유동성²⁸, 혈소판 친응고작용²⁹ 및 혈소판 아이코사노이드 산물³⁰에서의 변화들을 포함할 수도 있다. 개들에서 오메가-3 지방산 보충 또는

표 1. 식이성 오메가-6 : 오메가-3 비율과 오메가-6, 오메가-3 및 리놀레산의 백분율

표적 오메가-6:오메가-3 식이성 지방산 비율	오메가-6 지방산으로써 총식이성 지방산의 백분율	오메가-3 지방산으로써 총식이성 지방산의 백분율	리놀레산으로써 총식이성에너지의 백분율
5:1	18.1	3.4	8.27
10:1	18.7	1.8	8.55
25:1	19.3	0.8	8.82
50:1	25.8	0.5	11.79
100:1	38.3	0.4	17.50

Reinhart G.A.의 자료에서 채택. 개의 식이성지방산 비율과 조직지방산 함량. 식이성지방산첨가 : 최신치료양상. ACVIM 13차 연례 수의학 포럼; 1995:22-25.

오메가-6 지방산 대 오메가-3 지방산들의 비율조정에 대한 유사한 반응들은 조사되어진 바가 없다.

시중에 판매되는 개사료들에는 오메가-6과 오메가-3 지방산들 모두를 첨가한 다불포화지방산들을 함유한다. 개들과 고양이들은 오메가-6 지방산에서 오메가-3 지방산을 전환시키지 못하며 그 반대경우도 마찬가지이다. 보우드류와 동료(Boudreau and associates)들은 사료중에 오메가-3 지방산들의 절대량은 아라키돈산 대사를 억제하는데 중요할 뿐만아니라 사료중 오메가-6:오메가-3 지방산의 비율이 적절해야만 된다는 것을 제시해주고 있다.³¹ 우리 연구진들은 개에서 오메가-6:오메가-3 지방산의 비율을 결정하는 것 즉, 친-염증성 오메가-6 LTB₄를 억제하도록 요구되는 수준과 항-염증성 오메가-3 LTB₅를 생산하기 위한 연구를 진행하고 있다. 개의 피부와 호중구들 속에 있는 류코트라이인 B합성에 관한 오메가-6:오메가-3 다불포화 지방산을 증가시키는 비율로 사료첨가 시킬 때의 효과가 평가되었다. 피부내에서의 류코트라이인 B합성은 피부가 대부분의 알레르기 반응들의 표적기관이 되고 있기 때문에 평가되어졌다.^{10,32} 각기 다른 식이성 오메가-6:오메가-3 지방산 비율의 피부에 대한 영향을 결정하기 위하여, 피부아이코사노이드 대사의 어떤 모델 즉, 류코트라이인 B합성의 자극제로 알려진 세균의 지질 다당류(bacterial lipopolysaccharide, LPS)의 피내접종을 포함한 것들이 개발되었다.

재료 및 방법(Materials and Methods)

공시동물과 사료 : 30마리의 특수목적으로 번식된 1년생 비글종(thirty, purpose-bred, one year old beagles)

들은 콘크리트바닥의 견사^a 내에 각각 수용되어졌다 (a-Marshall Farms, North Rose, NY). 개들은 미리 바람직한 조건을 갖춘 상태에 있도록 해주면서 매일 아침 한번씩 무제한 급이를 시켜주었고 음수는 자유롭게 마실 수 있게 하였다. 공시된 모든 개들은 8주동안 닭고기, 닭고기 부산물, 옥수수, 쌀 및 닭지방으로 만든 배합사료를 급여시키도록 전제조건화 시켰다. 오메가-6 대 오메가-3 지방산의 비율은 20.1:1이었다.

8주의 전제조건 기간이 지난후까지 6마리의 개로 구성된 5개군은 각각 5개의 시험사료중의 1개를 급여받을 수 있게 하였다. 단백질, 탄수화물 및 지방원(the protein, carbohydrate and fat sources)과 이 사료중에 상대적인 량에 관한 것이 전제조건 사료의 단백질, 탄수화물 및 지질원과 매우 유사하였다. 추가적인 지질원으로 사용된 닭지방은 지질원으로서 지방산 조성을 조절하기 위해 첨가되었다(표1). 정제된 청어유^b(refined menhaden oil^b)로서 첨가된 아이코사펜타에노이산(20:5 n-3)과 도코사헥사에노이산(22:6 n-3); 아마유(flax oil)로서 공급된 알파-리놀렌산(18:3 n-3); 잇꽃유(safflower oil)는 리놀레산(18:2 n-6)의 농후공급원으로 첨가되어졌다. 오메가-6 대 오메가-3 비율들을 함유한 배합규정식 사료들은: 5:1(사료A), 10:1(사료B), 25:1(사료C), 50:1(사료D) 및 100:1(사료E)였다. 실제 오메가-3 지방산들과 오메가-6 지방산들의 비율과 총량은 표1과 같다(표1).

전 과정은 오우번대학 동물진료 및 이용위원회(Auburn University Animal Care and Use Committee)의 승인을 받았다.

피부생검 : 우리 연구실내에서 수행된 예비조사연구에서 피부내에서의 개의 LTB₄ 수준은 낮거나 측정 불능으로 나타났다. 하여튼, 0.1mg의 세균의 지질다

당류(LPS)^c의 피내접종 90분후 시행된 피부생검에서는 예측가능한 LTB₄ 반응을 보여주었다. 모든 가위로 자른 것(all clipping)은 표본유도 LTB₄(preparation induced LTB₄)를 피하도록 생검재료를 수집하기 24시간 전에 시행되었다. 피부생검과 혈장표본들은 전제조건 기간(0주)의 말기와 시험사료를 급여시킨 6주와 12주 후에 채취하였다. 모든 표본들은 20시간 단식후에 채취하였다. 정맥용 염산질라진^d(intravenous xylazine Hcl, 1mg/kg^d)이 진통제로 사용되었으며 황산아트르핀(0.4mg/kg)^e을 전처치로서 근육주사한 다음 진정시켰다.

전혈과 피부하부조직은 각 표본으로부터 제거되어졌고 그리고 나서 즉시 드라이아이스로 냉동시켰다. 표본 바이알들은 아르곤가스(argon gas)로 충전되었고 영하 80℃에 저장되었다.

피부생검으로부터 류코트라이인 B이성체들의 격리, 분리 및 측정 : 냉동피부표본들은 1.5ml 에칠초산염내에 계량, 혼합, 정치시켜 일정한 균질화시켰다.^f (b-Zapata Haynie Corporation; c-*E. coli*, T⁵ Rc mutant, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.; d-Rompun®, Miles, Inc. Shawnee Mission, KS.; e-Vedco, Inc., St. Joseph, MO.; f-Polytron, Brinkman Inst, Westbury, NY).

마이크로팁 탐침(microtip probe)은 균질화시키기 위해 1.5ml에칠초산염으로 행구었다. 혼합물은 4℃에서 4분동안 500g씩 원심분리될 때까지 얼음에 보관되었다. 피펫으로 상층액을 수집하고 건조시킨 다음, 산성화 메탄올 200μl 속에 재현탁시키고 아르곤가스로 와동(vortexd), 배수(flushed) 시킨 후 영하 80℃에 저장하였다.

산성메탄올 내에 있는 류코트라이인은 건조되고 200μl의 d-H₂O에서 재현탁시켰다. 현탁액은 진공하의 360mg 원주를 통과시켰다.⁸ 류코트라이인 이성체들은 메탄올로 용출시켰고 건조^h에 의해 제거하고 100ml 산성화 메탄올로 재현탁시켰다. 폰샤키 등³³(von Schacky *et al.*³³)과 갈론(Gallon) 그리고 바르첼리³⁴(Barcelli³⁴)의 방법들은 개량되어 이성체들을 분리하는데 이용되었다. LTB 표준규격을 활용하였을 때 회수율은 약 78%이었다.

류코트라이인 B 농축액들은 앞서 언급했던 방사선 면역분석(radioimmunoassay) 방법으로 측정하였다.^{35,36}

혈소판분리와 기능시험 : 경정맥으로부터 채혈된

혈액표본들은 항응고제 3.8% 3가나트륨구연산염(trisodium citrate) 1ml로 항응고시켜 혈소판 부 혈장(platelet rich plasma, PRP)의 분리에 앞서 평균혈소판 용적을 측정하기 위하여 분석되었다. 혈소판 부 혈장은 6~700g씩 21℃에서 3~4분동안 다수의 원심분리방법에 의해 수집되었고 자가유래 혈소판 빈 혈장(platelet poor plasma) 300,000μl에서 용출시킨 것이다.

혈소판 응집은 아데노신 2인산염(adenosine diphosphate; 25, 10 및 5μM 최종적) 및 교원질(collagen; 12, 6 및 3μg/ml 최종적)을 각 표본수집기간에 사용하여 진술한 바와 같이 실행하였다.^{37,38} 혈소판응집측정에 병행하여, 혈소판 방출은 에루살미와 주커³⁹(Jerushalmy and Zucker³⁹)의 개량방법을 이용하여 평가하였다.

응고시험 : 항트롬빈 III(antithrombin III) 작용은 색소생성 기질(chromagenic substrate)를 이용하는 자동화 분석기(automated chemical analyzer)를 가지고 측정하였다. 활성부트롬보플라스틴(activated partial thromboplastin), 프로트롬빈 시간(prothrombin time)과 트롬빈 시간(thrombin time)이 섬유소원측정기(fibrinometer)를 이용하는 구연산처리 혈장을 가지고 수행되었다. 표본과 대조군들은 2반복으로 평가되었다.

호중구의 산화성 파열 : 정제 호중구의 호흡성 파열(respiratory burst)은 2중 빔 분광계(dual beam spectrophotobeam)내에서 500mM일 때 산화 시토크롬 C(oxidized cytochrome C)의 환원에서부터 환원 시토크롬 C까지를 모니터에 의한 방법으로 특성을 밝혀냈다. 호중구들은 각각 0일, 6주, 12주에 채집한 후 평가하였다.

호흡성 파열은 앞서 기술한 바와 같이 측정하였다.³⁶ 결과들은 호중구 백만개당 생성된 nmoles의 superoxide로 보고하였다.

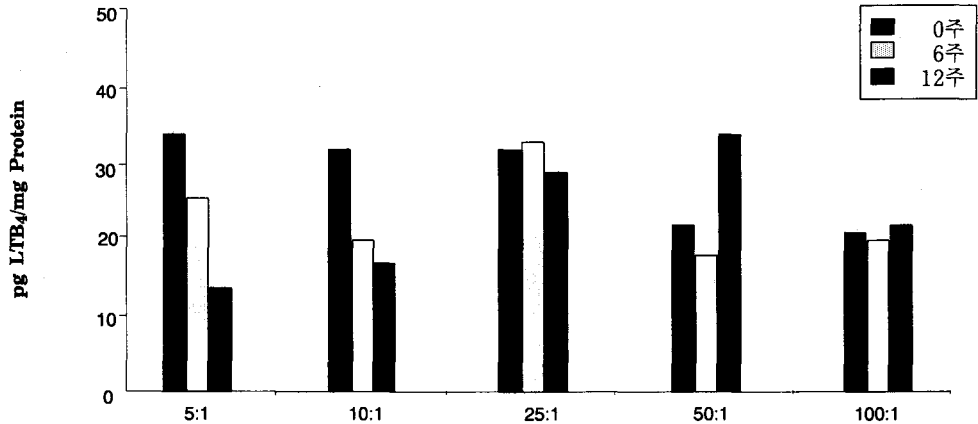
통계분석 : 자료들은 군간 평균치 사이에 P<0.05시에 two-tailed student's t-test 유의성 검정이나 또는 분산분석(analysis of variance) 방법으로 통계적인 평가를 하였다.

자료들은 평균치±n=군별 개 6마리에 대한 표준편차(the mean±standard error of the mean(SEM) for n=6 dogs/group)로 표시하였다. (g-Sep-Pak Classic C 18 extraction columns, Waters/Millipore Corp, Milford, Ma; h-Speed-Vac Concentrator, Savant Instruments Inc. Farmingdale, NY; i-Cobas Mira, Roche Diagnostic Sys-

tems, Nutley, NJ; j-s-2238, COATEST antithrombin, Helena Laboratories, Beaumont, TX; k-Actin, American Dade, Aquada, Puerto Rico; l-Activated thromboplastin,

American Dade, Aquada, Puerto Rico; m-Fibrinogen, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.).

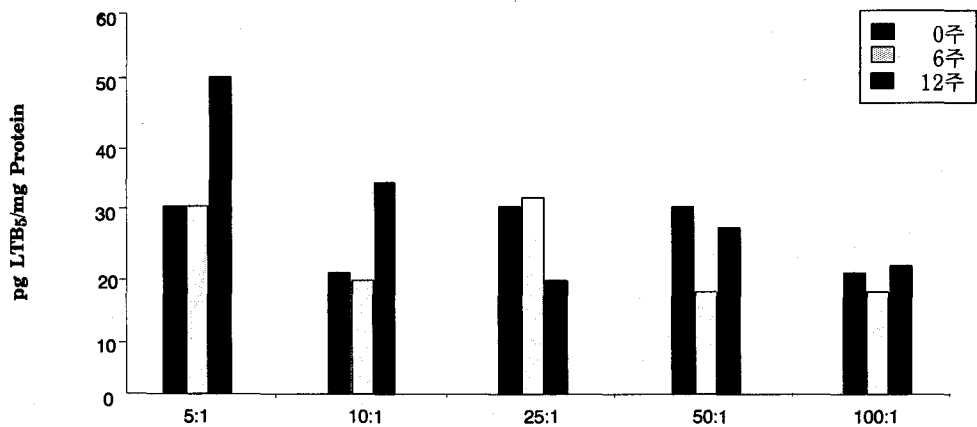
개의 피부내 LTB₄ 합성에 관한 식이성 오메가-6 : 오메가-3 지방산 비율들의 효과



오메가-6 : 오메가-3 지방산 비율

그림 2. 리포폴리사카라이드 주사 90분후 개의 피부중의 리포폴리사카라이드-유도 LTB₄ 합성에 관한 식이성 오메가-6 대 오메가-3 지방산 비율들의 효과. 수치들은 평균치±군별 개 6마리의 표준평균편차. *P<0.05, 시작(0시간) 농도와 비교해 볼 때 유의성 있는 차이가 있음.

개의 피부내 LTB₅ 합성에 관한 식이성 오메가-6 : 오메가-3 지방산 비율들의 효과



오메가-6 : 오메가-3 지방산 비율

그림 3. 리포폴리사카라이드 주사 90분후 개의 피부중의 리포폴리사카라이드-유도 LTB₅ 합성에 관한 식이성 오메가-6 대 오메가-3 지방산 비율들의 효과. 수치들은 평균치±군별 개 6마리의 표준평균편차. *P<0.05, 시작(0시간) 농도와 비교해 볼 때 유의성 있는 차이가 있음.

결과(Result)

5 : 1과 10 : 1의 비율의 사료투여군에서 개의 피부 내의 LTB₄ 합성에 관한 2가지의 효과가 나타났다. 시작(0시간)과 비교해볼 때 6주와 12주에 LTB₄는 감소하였고 LTB₅는 증가하였다(그림 2와 3). 12주후 5 : 1의 비율의 사료투여군에서는 기초선(baseline)과 비교하여 62%에서 LTB₄의 LPS-유도피부합성이 감소하였다(P<0.05). 10 : 1의 비율의 사료투여군에서는 같은 기간중에 48% 감소로 나타났다. 25 : 1, 50 : 1 및 100 : 1의 비율의 사료에서는 LTB₄ 생산에 있어서 기준선대(versus) 어떤 변화도 나타나지 않았다.

피부에서의 류코트라이인 B₅ 합성은 LPS에 의해 유도되어 각각 5 : 1과 10 : 1의 비율의 사료에서 79%와 48%씩 증가되었다(그림 3). 남아있는 규정식 처리 군들은 LTB₅ 합성을 유의성 있게 바꾸지는 못했다.

피부표본 중에서는 LBT₃가 검출된 바가 없었다.

아이소프로테레롤(isoprotererol)에 의해 자극을 받은 개의 호중구는 쉽게 과산화물(superoxide) 음이온을 생성한다(표 2). 산화성 파열(oxidative burst)은 호중구 백만개당 과산화물이 8.5±0.9에서 13.2±1.5nmoles의 농도로 생성되었다. 오메가-6 대 오메가-3 지방산 비율들의 사료들에서 이 측정에 대한 유의한 차이가 있는 것은 아무것도 없었다.

혈소판 기능 또는 응고시험에서의 통계적 또는 임상적으로 유의한 차이는 없었다.

총 괄 : 공시한 모든 개들은 조사연구기간중 건강한 상태를 유지하였다.

고찰(Discussion)

오메가-3 지방산 보강제품의 사용은 개의 염증성 피부장애들의 관리에 있어서 일반화되고 있다. 규정식(식이요법) 메카니즘을 통한 피부 아이코사노이드 대사의 모델설정은 개들에서 소양성 피부증 치료의 가능한 방법으로 제시되어 왔다.^{7,8,10,11}

지방산 첨가의 활용은 아라키돈산 직렬과 아이코사노이드 생산을 포함하게 되는 수도 있을 몇몇 다른 인자들을 제시하고 있는 다수의 연구들에서 다양한 성공사례를 만나게 된다.

비율효과(ratio effect)는 지방산(오메가-6 또는 오메가-3 중 하나)들의 규정식의 공헌(dietary contribution)은 보고된 바 없기 때문이거나 그리고 가정이지만 고려되지 않았기 때문에 초창기 조사연구들에서는 다양한 결과가 나온 것으로 설명될 수 있다. 식이성 지방산 섭취가 지방산 첨가와 총섭취 및 오메가-6과 오메가-3 비율이 정해진 것과의 반응사이의 상관관계가 있는 것으로 알려졌다. 이 조사연구는 만약 개의 조직들내에서 식이성 오메가-6 대 오메가-3 지방산의 비율들에서의 변화가 LTB₄와 LTB₅의 합성에 변화를 주는 것을 결정하도록 수행되었다. 급성 염증반응들의 *in vivo*(피부)와 *in vitro*(호중구) 모델들의 조화는 각종 실험사료들의 효과들을 평가하도록 이용되었다.

종전의 조사연구들에서는 류코트라이인 B는 호중구 과립^{35,40} 중에 저장되어 있지 않은 것으로 나타났으며, A23187과 같은 자극제에 반응되는 호중구 막인 지질에서 합성되어 졌다. 이 조사에서는 급성 염증반응의 *in vitro*(시험관내) 호중구 모델이 이용되었는데 식이성 오메가-3 지방산들은 호중구의 세포막 인지질

표 2. 호중구 호흡성파열에 관한 오메가-6 대 오메가-3 지방산의 영향

사 료	기준선	6주	12주
5 : 1	8.7±1.9	8.5±0.9	8.6±1.1
10 : 1	11.2±1.2	12.5±1.5	12.8±0.8
25 : 1	11.6±0.7	10.9±1.2	12.1±2.4
50 : 1	9.7±2.4	13.2±1.5	9.2±0.9
100 : 1	9.2±1.8	10.7±1.0	10.5±0.9

단위들은 30µm의 아이소프로테레롤로 자극을 가한 후 20-30분 간격사이의 백만개의 호중구당 생성된 과산화물의 nmoles임. 자료는 평균치±군별 개 6마리의 표준평균편차. 36마리에서 수집함.

속으로 섞여 들어가는 것을 간접적으로 나타나게 해주었다. A23187과 칼슘-자극 인지질 효소 A_2 (calcium-stimulated phospholipase A_2)를 이용하여 분리한 호중구들의 배양 이후에는 호중구 막인지질들의 에스테르 결합들을 분할시켰고 유리 아이코사펜타에노이산은 이동하였고 그리고 나서 류코트라이인 A 가수분해 효소와 5-리폭시지네이스에 의해 류코트라이인 B_5 로 대사되었다. 비자극 호중구들은 LTB_5 의 존재를 평가하였고 소견은 음성이었다. 이것은 LTB_5 와 LTB_4 같은 것들은 자극에 대한 반응으로 합성되지만 그러나 호중구 과립내에는 저장되지 않았다.

오메가-6 : 오메가-3 비율이 5 : 1과 10 : 1로 된 사료를 가지고 시험한 것들 중 조직중에 아이코사노이드 대사에 양성변화가 있었다. 6주동안 실험사료를 급여 시킨후 칼슘이온투과담체(calcium ionophore)로 분리와 배양된 5 : 1과 10 : 1 비율들의 사료를 급여시킨 개들에게서 호중구들은 얻었으며 이것은 대조 호중구보다 각각 30과 33% 이하의 LTB_4 를 합성하는 것이라는 것을 발견했다.

증가된 LTB_5 의 농도들은 이러한 동일한 호중구 현탁액들로 부터 공동합성되었다. LTB_5 (호중구 1.2×10^6 당 $33 \sim 36$ pg)의 양은 5 : 1과 10 : 1의 비율 사료들은 6주간 급여시킨 개들의 호중구에서 방출된 것으로 대조 호중구에서 방출된 LTB_4 (호중구 1.2×10^6 당 77pg)와 비교했을 때 생리학적으로 관련성이 있다.

5 : 1과 10 : 1의 사료를 12주간 계속 급여시킨 후 얻은 류코트라이인 B 측정치들은 6주 측정치와 통계적인 차이($P > 0.05$)가 없는 호중구 LTB_4 농도에서 평균 총계 감소들을 나타냈다. 비록 류코트라이인 B 대사가 오메가-3 다불포화지방산들의 증가비율에 의한 분명한 변화가 나타났으며, 호흡성 과열반응자료에 있어서 나타나는 것과 같이 호중구 기능을 타협지을 수 있는 것은 아니었다.

아이소프로테롤로 자극시킨 개의 호중구들은 쉽게 과산화물 음이온들로 생성되었다. 정제 호중구들로부터 방출된 상관과산화물의 양은 유의성있게 변화한 것은 아무것도 없었다. 개의 염증성 피부질환을 치료목적으로 하는 치료모델을 선정할 때, 이상적인 약제(agent)는 해당질환의 염증성분을 조정하여야 하며 그러나 면역계의 기능장애를 촉진시켜서는 안될 것이

다. 오메가-3 지방산들은 사료중에 적정한 오메가-6 : 오메가-3 지방산의 비율을 제공해준다면 이러한 범주를 충족시켜주는 것으로 나타난다.

오메가-6과 오메가-3 다불포화지방산들이 세포막 인지질들 속으로 삽입시 경합한다는 제시가 분명하다는 것을 입증하는 것이다.^{22,23,41} 여하튼, 오메가-6 : 오메가-3 비율에 있어서의 변화에 기인하는 아이코사노이드 대사증가에 대해 총 인지질 구덩이(total phospholipid pool)가 가능하다는 증거는 없다. 이것은 오메가-6 지방산들이 50 : 1과 100 : 1의 사료의 상관비율에 있어서 증가가 자극을 받은 호중구 또는 피부내의 증가된 LTB_4 가 결과로서 생긴 것이 아니라 이유를 설명해줄 수도 있다. 비록 LTB_4 와 LTB_5 의 혈장농도들이 식이성 오메가-3 지방산들의 증가된 비율들에 호중구 반응과 평행되었을지라도 사료중에 오메가-6 지방산의 비율을 증가시키는 것이 증가된 혈장 LTB_4 농도들을 생성하는 데는 또한 실패하였다. 세포막인지질내 다불포화지방산들의 농도를 조절하는 항상성 기능의 존재는 주어진 양 이상의 오메가-6 지방산들 중에 왜 증가되는가를 설명할 수 있으며 아이코사노이드 대사에 있어서는 더이상 증가가 없었다.

이 실험의 생체내 실험부분(*in vivo portion*)에서 식이성 오메가-6 : 오메가-3 다불포화지방산에 있어서의 다양한 작용이 개의 피부내의 LTB_4 생성을 변화시켜 주는 것을 실증하여 주었다. 세균의 리포폴리사카라이드의 피내접종은 개들의 피부내에 류코트라이인 B_4 합성을 자극시켜 줌으로 치료되는 염증반응의 모델을 세우는데 이용되었다. 이 모델의 이론적 배경은 인체의학문헌에서 찾아냈다. 리포폴리사카라이드는 인체의 대식세포와 단세포내에서 LTB_4 생산을 자극하는데 이용되었다.⁴²⁻⁴⁴

시험에 사용된 사료중 오메가-6 : 오메가-3 비율이 5 : 1과 10 : 1인 것들은 리포폴리사카라이드로 자극시킨 뒤에 류코트라이인 B_5 면역작용이 증가되고 류코트라이인 B_4 농도는 현저하게 감소되어 생성되었다. 조직 LTB_4 내에서의 감소는 동등수준이거나 또는 50% 이상으로 임상적인 상황에서 염증반응의 지질성분을 회색하는데 충분할 만큼 큰 것으로 생각되었다.^{45,46} LTB_4 와 LTB_5 농도들의 변화량은 이 조사의 단계

에 약 50%에서 생성되었고 그리고 생리학적으로 유의성이 있었다. 시험사료를 급여시킨 12주동안 개의 피부중에 아이코사노이드 대사가 보고되어지도록 생성할 수 있게 요구되어 졌다. 이번 시험설계 구도는 호중구중 류코트라인 B합성에서의 유사한 변화를 일으키도록 요구되어진 6주간 대조로 이루어졌다.

이러한 조건들은 순환중에 있는 혈구내에서 보다 고정피부세포들의 막들안에서 오메가-6 : 오메가-3 지방산의 동일하게 지속시킨 비율이 이루어질 수 있도록 더 오래 지속되는 것을 가리킨다. 수의사들과 애견가들의 임상적인 연루(이전)는 사료중 오메가-6 : 오메가-3 지방산의 비율을 조절함으로써 수주일동안 치료반응에서 일어나지 않을 수도 있다. 실제로, 이 조사연구에서는 오메가-3 지방산을 개의 피부질환을 치료목적으로 사용할 때 처음 시험시 치료의 납득할 만한 기간은 12주간이 될 수 있다고 제시한다. 뒤에 계속된 보고에서는 7일에서 21일에서 반응이 있었다고 제시한다.⁴⁷

비록 관심사항이 혈소판 기능과 응고프로필에 부정적인 영향을 오메가-3 지방산을 섭취할 때 잠재적인 효과에 관하여 구두로는 표현되어 왔지만 이 조사에서는 어떠한 증거나 효과에 대해 발견된 것이 없었다. 이 조사에서 쓰인 오메가-3 지방산의 수준은 조심스럽게 조절되었다. 이러한 수준보다 높은 수준이나 또는 5 : 1의 비율이하의 오메가-3 지방산 섭취수준은 조사되지 않았다.

혈소판 또는 응집효과의 제시사항들이 고려되었다. 추가로, 식이요법은 산화성 파열에 의한 측정방법과 같은 호중구 기능에 관한 효과를 가지는 것은 아무것도 없었다. 이 조사의 실험실내(*in vitro*) 또는 생체내(*in vivo*) 실험부분 두개중 어느 하나에 있어서도 부작용은 관찰된 바 없었다.

몇개의 실험실에서의 조사연구에 알레르기성 또는 염증성 피부증들은 증가된 아라키돈산 대사와 친-염

증성 아이코사노이드 농도와 연관성이 있다는 것이 예시되었다.^{4,24,25,48-50} 이것은 오메가-3 지방산들 사료를 통하여 투여되거나 또는 약품에 첨가할 때, 피부오메가-6 아이코사노이드 농도에 수반되는 감소가 있는 아토피성 또는 염증성 피부증상을 경감시켜줄 수 있다.^{2,4,6,51-54} 현재 조사중에 있는 자료들에서는 식이성 오메가-6 : 오메가-3 비율이 5 : 1 대 10 : 1이 친-염증성 LTB_4 의 농도를 저하시켰고 LTB_5 의 농도는 경쟁적으로 증가되었다. 시험사료의 5 : 1과 10 : 1 비율들은 개의 필수지방산 요구를 직면하게 되었다.

개별환축에 의해 소비되는 특수시중사료의 지방산 비율은 결정하는 것과 이러한 오메가-6 : 오메가-3 지방산의 적정비율을 이루기 위한 다불포화지방산 첨가를 시도하는 것은 애견가들과 수의사들에 대해서는 어렵게 되거나 실행불가능한 제안이 될 수가 있을 것이다. 적절한 지방산 비율을 보장해주는 가장 편리한 방법은 특별히 처방된 사료를 사용함으로써 환축에게 전달할 수 있다. 그러한 사료들은 아토피성, 알레르기성 피부염과 벼룩교상과민증과 같은 개의 염증성 피부증상들의 치료 또는 예방에서 강력하게 유용하다.^{7, 8,10,11} 아이코사펜타에노이산을 첨가한 사료를 급여시킨 개에게 추가적인 이점으로서 모피상태가 양호하게 되었다고 보고되었다.^{33,52}

결론적으로 피부와 혈액조직은 오메가-6 대 오메가-3 다불포화지방산의 5 : 1과 10 : 1 비율의 사료를 6주와 12주동안 급여시킨 개에서 채취하였고 친-염증성 LTB_4 수준은 감소되었고 약-염증성 LTB_5 의 농도는 증가되는 것으로 나타났다. 개 사료중 오메가-6 : 오메가-3 지방산의 이와같은 적정비율의 혼합은 각종 염증성 피부증상들의 치료를 약속해준다.

감사의 말씀 : 저자들은 오우번대학교 수의과대학 병리생리학교실의 Mary K. Boudreaux님에게 혈액응고 매개변수실험을 수행하고 고찰하는데 있어서 그녀의 업적에 대해 심심한 사의를 표합니다.

참 고 문 헌

1. Bjerve KS, Brubakk AM, Fougner KJ, Johnsen H, Midthjell K, Vik T. Omega-3 fatty acids: essential fatty acids with important biological effects and serum phospholipid fatty acids as markers of dietary omega-3 fatty acid intake. *Am J Clin Nutr*, 1993; 57(Suppl.) : 8018-8068.
2. Hertog JM, Lamers JM, Achterberg PW, Van Heuven D, Nijkump FP, Verdouw PD. The effects of dietary mackerel oil on the recovery of cardiac function after acute isochemic events in the pig. *Basic Res Cardiol*, 1987; 82: 223-234.
3. Homstra G, van Houwelingen AC, Kivita GA, Fisher S, Uedelhoven W. Dietary fish and prostanoid formation in man. *Advance Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res*, 1991; 21(A): 225-228.
4. Kojima T, Terano T, Tanabe E, Okamoto S, Tamura Y, Yoshida S. Longterm administration of highly purified eicosapentaenoic acid provides improvement of psoriasis. *Dermatologica*, 1991; 182(4): 225-230.
5. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr*, 1991; 54(3): 438-463.
6. Ziboh VA. Implications of dietary oils and polyunsaturated fatty acids in the management of cutaneous disorders. *Arch Derm*, 1989; 125: 421-445.
7. Codner EC, Thatcher CD. Nutritional management of skin disease. *Compend Cont ed Pract Vet*, 1993; 15(3): 411-423.
8. Logas D, Beale KM, Bauer JE. Potential clinical benefits of dietary supplementation with marine-life oil. *JAVMA*, 1991; 199(22): 1631-1636.
9. Miller WH, Scott DW, Wellington JR. Efficacy of DVM derm caps liquid in the management of allergic and inflammatory dermatoses of the cat. *J Amer Anim Hosp Assoc*, 1993; 29: 37-40.
10. Scott DW, Miller WH. Nonsteroidal management of canine pruritis: chlorpheniramine and a fatty acid supplement(DVM derm caps) in combination, and the fatty acid supplement at twice the manufacturer's recommended dosage. *Cornell Vet*, 1990; 80: 381-387.
11. White PD. Essential fatty acids: use in management of canine atopy. *Compend Cont ed Pract Vet*, 1993; 15(3): 451-457.
12. Miller WH. Fatty acid supplements as anti-inflammatory agents. In: Kirk RW, ed. *Current Veterinary Therapy X*. Philadelphia: WB Saunders Co, 1989; 563-565.
13. Miller WH, Scott DW, Wellington JR. Treatments of dogs with hip arthritis with a fatty acid supplement. *Canine Pract*, 1992; 6-8.
14. Charleston S, Evans JF, Zamboni RJ, et al. Leukotriene B₃, leukotriene B₄ and leukotriene B₅, binding to leukotriene B₄ receptors on rat and human leukocyte membranes. *Prostaglandins*, 1986; 32(4): 503-516.
15. Kragballe K, Voorhess JJ, Goetzl EL. Inhibition by leukotriene B₅ of leukotriene B₄ induced activation of human keratinocytes and neutrophils. *J Invest Derm*, 1987; 88(5): 555-558.
16. Lee TH, Sethi T, Crea AE, et al. Characterization of leukotriene B₃ : comparison of its biological activities with leukotriene B₄ and leukotriene B₅ in complement receptor enhancement, lysozyme release and chemotaxis of human neutrophils. *Clin Sci*, 1988; 74(5) : 467-475.
17. Seya A, Terano T, Tamura Y, Yoshida S. Comparative effect of leukotriene B₄ and leukotriene B₅ on calcium mobilization in human neutrophils. *Prostaglandins, Leukotrienes, Essential Fatty Acids*, 1988; 34(1) : 47-50.
18. Lagarde M. Metabolism of fatty acids by platelets and the functions of various metabolites in mediating platelet function. *Prog Lipid Res*, 1988; 27:135-152.
19. Iversen L, Fogh K, Kragballe K. Effect of dihomogamma-linolenic acid and its 15-lipoxygenase metabolite on eicosanoid metabolism by human mononuclear leukocytes *in vitro* : selective inhibition of the 5-lipoxygenase pathway. *Arch Derm Res*, 1992; 284:222-226.
20. O'Keefe SF, Lagarde M, Grandgirard A, Sebedio JL. Trans n-3 eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid isomers exhibit different inhibitory effects on arachidonic acid metabolism in human platelets compared to the respective *cis* fatty acids. *J Lipid Res*, 1990; 31(7): 1241-1246.
21. Nathaniel DJ, Evans JF, Leblanc Y, et al. Leukotriene A₃ is a substrate and an inhibitor of rat and human neutrophil LTA₄ hydrolase. *Biochem Res Comm*, 1985; 131(2): 827-835.
22. Charnock JS, Abeywardena MY, McLennan PL. Comparative changes in the fatty acid composition of cardiac phospholipids after long-term feeding of sun seed oil or tuna oil-supplemented diets. *Ann Nutr Metab*, 1986; 30:393-406.
23. Fletcher MP, Ziboh VA. Effects of dietary supplementation with eicosapentaenoic acid or gamma-linolenic acid on neutrophil phospholipid fatty acid composition and activation responses. *Inflammation*, 1990; 14(5): 585-597.
24. Ziboh VA, Chapkin RS.

- Biological significance of polyunsaturated fatty acids in the skin. *Arch Derm*, 1987; 123(12): 1686-1690. **25.** Ziboh VA, Miller CC. Essential fatty acids and polyunsaturated fatty acids: significance in cutaneous biology. *Ann Rev Nutr*, 1990; 10:433-450. **26.** Ahmed AA, Holub BJ. Alteration and recovery of bleeding times, platelet aggregation and fatty acid composition of individual phospholipids in platelets of human subjects receiving a supplement of cod-liver oil. *Lipids*, 1984; 19: 617-624. **27.** Von Schacky C, Fischer S, Weber PC. Long-term effects of dietary marine n-3 fatty acids upon plasma and cellular lipids, platelet function and eicosanoid formation in humans. *J Clin Invest*, 1985; 76:1626-1631. **28.** Homstra G, Rand ML. Effect of dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on the fluidity of platelet membranes in rat and man. *Prog Lipid Res*, 1986; 25: 636-638. **29.** Nordoy A. The role of dietary fatty acids in thrombosis. *Prog Lipid Res*, 1986; 25: 455-459. **30.** Goodnight SH Jr, Harris WS, Connor WE, Illingworth DR. Polyunsaturated fatty acids, hyperlipidemia and thrombosis. *Arteriosclerosis*, 1982; 2: 87-113. **31.** Boudreau MD, Chanmugam RS, Hart SB, Lee SH, Hwang DH. Lack of dose response by dietary n-3 fatty acid at a constant ratio of n-3 to n-6 fatty acid in suppressing eicosanoid biosynthesis from arachidonic acid. *Am J Clin Nutr*, 1991; 54: 111-117. **32.** Lloyd DH. Essential fatty acids and skin disease. *J Sm Anim Pract*, 1989; 30:207-212. **33.** von Schacky C, Fahrner C, Fisher S. Catabolism of leukotriene B₂ in humans. *J Lipid Res*, 1990; 31: 1831-1838. **34.** Gallon LS, Barcelli UO. Measurement of prostaglandin E₂ and other eicosanoids in biological samples using high pressure liquid chromatography and radioimmunoassay. *Prostaglandins*, 1986; 31: 217-225. **35.** Amalsadvala TM, Vaughn DM. Characterization of leukotriene B₄ synthesis in Greyhound polymorphonuclear leukocytes. *Prost Leuk and Essential Fatty Acids*, 1992; 45: 283-288. **36.** Vaughn DM, Reinhart GA, Swaim SF, Lauten SD, Gamer CA, Boudreaux MK, Spano JS, Hoffman CE, Conner B. Evaluation of dietary n-6 to n-3 fatty acid ratios on leukotriene B synthesis in dog skin and neutrophils. *Vet Derm*, 1994; 5:163-173. **37.** Born G. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*, 1962; 194: 927-929. **38.** Boudreaux MK, Dillon AR, Spano JS. Enhanced platelet reactivity in heartworm-infected dogs. *Am J Vet Res*, 1989; 50: 1544-1547. **39.** Jerushalmy Z, Zucker M. Some effects of fibrinogen degradation products(FDP) on blood platelets. *Thromb Diath Haemorrh*, 1966; 15: 413-419. **40.** Iversen L, Fogh K, Ziboh VA, Kristensen P, Schemdes A, Kragballe K. Leukotriene B₄ formation during human neutrophil keratinocyte interactions: evidence for transformation of leukotriene A₄ by putative keratinocyte leukotriene A₄ hydrolase. *J Invest Derm*, 1993; 293-298. **41.** Chanmugam PS, Boudreaux MD, Hwang DH. Dietary(n-3) fatty acids alter fatty acid composition and prostaglandin synthesis in rat testis. *J Nutr*, 1991; 121: 1173-1178. **42.** Takahashi H, Abe M, Hashimoto S, Takayama K, Miyazaki M. *In vivo* effect of lipopolysaccharide on alveolar and peritoneal macrophages of rats: superoxide anion generation and 5-lipoxygenase metabolism of arachidonic acid. *Amer J Resp Cell Molecular Biol*, 1993; 91: 526-531. **43.** Conti P, Panara MR, Barbacane RC, Bongrazio M, Dempsey RA, Reale M. Human recombinant IL-1 receptor antagonist(IL-1Ra) inhibits leukotriene B₄ generation from human monocyte suspensions stimulated by lipopolysaccharide(LPS). *Clin Exper Immun*, 1993; 91: 526-531. **44.** Rankin JA, Sylvester I, Smith S, Yoshimura T, Leonard EJ. Macrophages cultured *in vitro* release LTB₄ and neutrophil attractant/activation protein(interleukin-8) sequentially in response to stimulation with lipopolysaccharide and zymosan. *J Clin Invest*, 1990; 86: 1556-1564. **45.** Aked D, Foster SJ, Howarth A, McCormick Me, Potts HC. The inflammatory response of rabbit skin to topical arachidonic acid and its pharmacological modulation. *Brit J Pharmacol*, 1986; 89: 431-438. **46.** Aked D, Foster SJ. Leukotriene B₄ and prostaglandin E₂ mediate the inflammatory response of rabbit skin to intradermal arachidonic acid. *Brit J Pharmacol*, 1987; 97: 545-552. **47.** Scott DW, Miller WH. Efficacy of an omega-3 omega-6 fatty acid containing commercial dog food in the management of atopy. *Proc 12th Europ Soc Vet Derm*, 1995: 163. **48.** Ruzicka TS, Ring J. Enhanced releasability of prostaglandin E₂ and leukotrienes B₄ and C₄ from leukocytes of patients with atopic eczema. *Acta Dermatologica Venereology(Stockholm)*, 1987; 67: 469-475. **49.** Inamoto I, Tomoe S, Yoshida S. Role of leukotriene B₄ in substance P-induced granulocytic infiltration in mouse skin. *Regulatory Peptides*, 1993; 46: 225-227. **50.** Ruzicka T, Simmer T, Peskar BA, Ring J. Skin levels of arachidonic acid derived inflammatory

mediators and histamine in atopic dermatitis and psoriasis. *J Invest Derm*, 1986; 86: 105-108. 51. Hamazaki, T. Intravenous infusion of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Proc Soc Exper Biol and Med*, 1992; 200: 171-173. 52. Lloyd DH, Thomsett LR, Essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopy: a preliminary study. *Vet Derm*, 1989; 1: 41-44. 53. Miller CC, Yamaguchi RY, Ziboh VA. Guinea pig epidermis generates putative anti-inflammatory metabolites from fish oil polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 1989; 24: 988-1003. 54. Miller CC, Ziboh VA, Wong T, Fletcher MP. Dietary supplementation with oils rich in(n-3) and (n-6) fatty acids influence *in vivo* levels of epidermal lipoxygenase products in guinea pigs. *J Nutr*, 1990; 120: 36-44.

대한수의사회지 합본판 배포 안내

본회에서 발간하는 대한수의사회지의 연도별 합본판을 한정판으로 제작하여 회원들에게 실비로 배포하고자하니 관심있는 회원님들의 많은 참여를 기대합니다.

합본판 현황

발간년도	발행부수	잔여부수	발간년도	발행부수	잔여부수	발간년도	발행부수	잔여부수
1977-78	7	3	1986	10	5	1992	29	20
1979-80	9	5	1987	10	5	1993	29	14
1981-82	9	5	1988	14	9	1994	29	14
1983	10	5	1989	11	5	1995	29	13
1984	10	4	1990	19	11			
1985	10	5	1991	19	11			

공급가격 : 15,000원/합본 권당(발송비용 포함)

(송금후 발송처를 통보하여주시기 바랍니다.)

송금구좌 : 은 행 명 : 농협중앙회 신촌지점

구좌번호 : 037 - 17 - 001052

예 금 주 : 대한수의사회