

비타민 E 보강식이가 KK 마우스에서 지질과산화물과 신장 항산화계 효소 활성도에 미치는 영향

안현숙 · 임은영 · 김해리*

서울대학교 식품영양학과

Effects of Vitamin E Supplementation on Lipid Peroxides and Renal Antioxidative Enzyme Activities in KK Mice

Ahn, Hyun Sook · Lim, Eun Young · Kim, Harriet*

Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul, Korea

ABSTRACT

We investigated the effects of vitamin E supplementation on lipid peroxidation and on the activities of antioxidative enzymes in kidney of KK mice of various age and duration of diabetes. Weaned KK mice were fed high fat a diet containing 20% corn oil(wt/wt), and were sacrificed at 4, 6, and 9 months of age. The high vitamin E diet consisted of the high fat diet supplemented with an excessive amount of dl- α -tocopheryl acetate(2080 IU/kg diet). In the diabetic groups, we found an increase in lipofuscin and decrease in antioxidative enzyme activities with aging. Treatment with vitamin E did not modify the level of fasting blood glucose. However, a significant decrease in lipofuscin and increase in antioxidative enzyme activities were observed in diabetic mice.

The present result suggests that high vitamin E supplementation protects against lipid peroxidative damage in diabetic KK mice. (*Korean J Nutrition* 30(10) : 1153~1159, 1997)

KEY WORDS : high vitamin E supplementation · KK mice · antioxidative enzymes · lipid peroxidation of kidney.

서론

자유라디칼이 인체에서의 노화와 여러 질병의 발병과 관련이 있음이 주목을 받고 있다. 특히 당뇨병과 관련하여 자유산소라디칼은 만성합병증 발생에 관여하는 주요 기전 중 하나로 생각된다¹⁾²⁾. 당뇨에서는 신장의 기능 및 형태적인 변화가 다양하게 나타나는 것으로 알려져 있고, 신장의 형태적인 변화는 주로 신사구체에서 관찰되는데, 대표적인 것으로 모세관 기저막의 비후, 미만성 신사구체경화, 결절성 사구체경화 등이 있다. 그러나 이러한 형태적 변화는 당뇨병이 상당기간 진행

채택일 : 1997년 9월 25일

된 이후에야 관찰된다³⁾. 동물 실험에서는 Weil 등⁴⁾이 백서에서 실험적으로 유발시킨 당뇨가 3개월이 경과된 뒤부터 당뇨병 환자에서 볼 수 있는 소견들과 유사한 변화를 관찰하였다고 보고하였다. Yaqoob 등⁵⁾이 당뇨 환자들에서 자유라디칼활성도의 변화가 당뇨병 신증의 발생과 정도에 중요함을 보고한 바와 같이 당뇨병 환자에서는 혈장 지질과산화물이 증가되어 있고 당뇨병성 신증 정도와 상관관계가 있다고 알려져 있다. Wohaiieb 등⁶⁾은 STZ 유도성 당뇨백서의 신장에서 catalase(CAT)와 superoxide dismutase(SOD)의 활성도는 감소하고 glutathione peroxidase(GPX)의 활성도가 증가함을 보고했으며, Loven 등⁷⁾은 신장의 SOD 활성도 감소는 glutathione(GSH)감소와 밀접한 관련이 있으며

GSH투여로 신장의 SOD활성도 감소를 예방할 수 있다고 보고하였다. 유 등⁸⁾의 실험에서는 당뇨병성 신증이 없는 군에 비하여 당뇨병성 신증이 있는 군에서 총 glutathione량과 GPX의 활성도가 유의한 감소를 보였다고 하였다. 이와 같이 당뇨병상태에서는 과산화지질의 증가와^{9,10)} 생체내 항산화제의 감소가 관찰된 바 있어⁶⁻¹⁰⁾ 산화적 스트레스가 증가되는 것으로 보고되고 있기에 항산화제의 보충을 통해서 당뇨병 만성합병증의 발생을 예방할 것으로 기대된다. 또한, NIDDM 환자에게 비타민 E를 장기간 투여하였을 경우, 인슐린의 기능이 향상되고¹¹⁾, 유의적으로 혈당, triglycerides, 유리 지방산, 총 cholesterol 등이 감소되었으며¹²⁾, 혈소판의 응집도 감소되었다¹³⁾는 보고도 있는 바 당뇨병성 만성합병증을 예방하는 데 있어서 다른 항산화제보다 비타민 E의 이용이 더 유용할 것으로 사료된다. 지금까지 당뇨 동물에서 항산화 효소들의 활성도 변화는 종과 조직에 따라 다양한 결과를 나타냄이 보고되어 있고, 또한 당뇨 유병기간에 따른 변화에 대한 연구들은 부족한 실정이다. 따라서 본 연구는 당뇨상태에서 지질과산화물과 신장의 항산화제 효소 활성변화를 확인하고, 비타민 E 보강식이에 이에 미치는 영향을 밝혀보고자 계획되었다. 이를 위해 제 2형 당뇨병의 동물 모델인 KK 마우스를 사용하였는데, KK 마우스는 일본에서 처음 개발된 Japanese KK 마우스와 이를 C57BL/6 종과 교합시킨 Toronto-KK(T-KK) 잡종 마우스, 이외의 몇 가지 종으로 나누어진다. T-KK 마우스의 경우 체중이 증가되면 고혈당이 나타나나, Japanese KK 마우스의 경우 당뇨병을 발현시키기 위하여서는 고칼로리 식이의 투여가 필요하다. KK 마우스의 고혈당 증세는 그다지 극심하지는 않으며, 생후 약 4개월에서 1년 사이에만 나타나는 것으로 보고되어 있다¹⁴⁾. KK 마우스에서 당뇨성 사구체 경화는 기저막 비후와 사구체 간질에 기저막 유사 물질의 축적으로 관찰되며, 이런 변화는 2개월부터 나타난다고 보고되었다¹⁵⁾.

본 실험은 KK 마우스에 고지방 식이를 섭취시켜 당뇨를 유발하고, 당뇨 유발후 0개월, 2개월, 5개월에 지질과산화물과 항산화제 효소의 변화를 확인하고, 당뇨병에 의한 변화가 비타민 E의 투여로 억제되는지 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 식이 및 당뇨 유도

생후 4주제인 KK 마우스를 서울대학교 실험동물 사육장으로부터 공급받아 1개월간 일반 고형사료(삼양

사)를 먹이면서 사육하였다. 그 후 고지방, 저비타민 E 식이군(이하 고지방 식이군)과 고지방, 고비타민 E 식이군(이하 고비타민 E 식이군)으로 나누어 8주간 사육하고 혈당을 측정하여 정상군과 당뇨군으로 나누고 계속 사육하면서 4개월, 6개월, 9개월에 희생시켰다.

고지방 식이(fat 20% wt/wt, 39% cal/cal)의 조성은 Table 1과 같다. 이 고지방식이의 비타민 E 수준은 56IU/kg diet이다. 이는 옥수수 기름에 들어 있는 α -tocopheryl acetate 양으로부터 기인된 것이며, 비타민 E free 비타민 혼합물은 ICN(ICN Biochemical, USA)으로부터 구입하여 사용하였다. 또 고비타민 E 식이에는 dl- α -tocopheryl acetate(Sigma Chemical, USA)를 첨가하여 비타민 E의 수준은 2080IU/kg diet로 하였다.

실험기간 동안 사육환경은 온도 20~25℃를 유지하였으며 습도는 60%로, 명암주기는 12시간 간격으로 유지하였다.

2. 당뇨 판정

고지방 식이로 사육한지 1개월후부터 혈당을 측정하기 시작하였다. 월 2회 아침 9:00~10:00 사이에 꼬리 정맥에서 혈당을 측정하여 200mg/100ml 이상이면 당뇨병으로 판정하였다¹⁶⁾. 혈당은 혈당 감지기(Blood glucose sensor, Medisense, Inc., Waltham, MA, USA)로 측

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

Ingredient	(g/kg diet)
Corn starch	544
Casein	150
Corn oil	200
α -Cellulose	50
Mineral mixture ⁽¹⁾	40
Vitamin mixture ⁽²⁾	10
DL-Methionine	5
Choline chloride	1

(1) Composition of mineral mixture(kg mixture)
CaHPO₄ 500g, NaCl 74g, K₂SO₄ 52g, potassium citrate monohydrate 220g, manganous carbonate 3.5g, ferric citrate 6.0g, zinc carbonate 1.6g, cupric carbonate 0.3g, KIO₃ 0.01g, KCr(SO₄)₂ · 2H₂O 0.55g, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.01g, sucrose, finely powdered 118.9g

(2) Vitamin E free mixture, ICN Biochemicals(Cleveland, Ohio)/(kg mixture)
Vitamin A acetate(500,000IU/g) 1.8g, vitamin D₂(850,000 IU/g) 0.125g, ascorbic acid 45g, inositol 5g, choline chloride 75g, menadione 2.25g, p-aminobenzoic acid 5.00g, niacin 4.25g, riboflavine 1.00g, pyridoxine hydrochloride 1.0g, thiamine 1.00g, calcium pantothenate 3.00g, biotin 0.02g, folic acid 0.09g, vitamin B₁₂ 0.00135g, sucrose, finely powdered to 1kg

정하였는데, 4개월에 정상군과 당뇨군으로 나누어서 각각 9개월까지 사육하였다. 4개월에는 정상이었다가 실험기간 도중 당뇨가 발생된 것은 정상군에서 제외시켰고, 4개월에 당뇨가 발생된 것만 당뇨군으로 분류 후 실험에 이용하였으므로 당뇨군 6개월은 당뇨 발생 후 2개월, 당뇨군 9개월은 당뇨 발생 후 5개월이 된다.

3. 분석 시료의 전처리

실험동물은 희생시키기 전 18시간 동안 금식을 시켰다. 실험동물은 생후 4개월, 6개월, 9개월에 decapitation 방법으로 희생하였고 희생시키기 전 혈당과 체중을 측정하였다. 간과 신장 조직을 적출하여 차가운 생리 식염수에 세척한 후, 흡수지로 물기를 제거하고 액체질소로 급속냉동시킨 후 냉동보관했다가 분석에 사용하였다.

4. Lipofuscin 함량 측정

간의 균질액에서 Sheldahl과 Tappel¹⁷⁾의 방법으로 측정하였다. 간을 적출하여 냉각된 균질용 용액(154mM KCl, 50mM Tris-HCl, 1mM EDTA buffer, pH 7.4)를 넣어 조직을 균질화하였다. 이 균질액을 1,000×g에서 10분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직절편을 제거하고 상층액의 단백질 농도가 10mg/ml가 되도록 하였다. 이 상층액을 1ml에 chloroform과 methanol 2 : 1 혼합액을 6ml 첨가하여 1분간 격렬히 흔들어 섞었다. 이 혼합액을 3,000×g에서 20분간 원심분리하고 chloroform층을 2ml 취한 후 2ml의 chloroform을 첨가하여 spectrofluorometer(Kontron Instruments P-800, Swiss)를 이용하여 excitation wavelength 366nm, emission wavelength 435nm로 형광도를 측정하였다.

5. Glutathione peroxidase(GPX), Glutathione reductase(GR), Catalase(CAT)의 활성도 측정

신장을 잘게 다진 후 균질용 용액(154mM KCl, 50 mM Tris-HCl, 1mM EDTA buffer, pH 7.4)를 넣고 4℃에서 균질화한 다음, 4℃, 1,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 세포조각들을 제거하고 상층액을 모아 4℃, 10,000×g에서 20분간 원심분리하여, pellet은 10mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)로 재부유시켜 액체질소로 급속냉동 후 냉동보관하였다. 상층액은 모아서 4℃, 100,000×g에서 60분간 다시 원심분리하여 cytosol층(상층액)과 microsome층(pellet)으로 분리하였고 cytosol층을 액체질소로 급속냉동한 다음 냉동보관하였다.

GPX의 활성도는 Tappel¹⁸⁾의 방법을 이용하였다. 기

질로 cumene-hydroperoxide 첨가시 생성된 산화형 glutathione이 과량의 glutathione reductase와 일정량의 NADPH의 존재하에 다시 환원되는 속도를 측정하였다.

GR 활성도는 Carlberg와 Mannervick¹⁹⁾의 방법으로, Catalase활성은 Aebi²⁰⁾의 방법으로 측정하였다. 시료의 단백질 정량은 Smith 등²¹⁾의 방법에 준하여 하고, 표준품으로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

6. 통계처리

각 분석치는 평균±표준 편차로 제시하였다. 각 실험군간의 유의도 검증은 Tukey's HSD test에 의하여 p < 0.05 수준에서 실시하였고, 각 지표간의 유의성을 알아 보기 위해서는 대조군과 T-test를 실시하였고, 지질 과산화물 및 항산화 효소 활성도들의 상관관계는 Pearson's correlation coefficient로 알아보았다.

결과 및 고찰

1. 체중 및 공복시 혈당 변화

체중변화는 Fig. 1에 나타내었다. 체중증가에서 고비타민 E 식이에 의한 유의적인 차이는 발견되지 않았다. 공복시 혈당의 변화는 Fig. 2에 나타내었는데, 고비타민 E 식이에 의해서 유의적인 차이는 없었다.

2. 당뇨 유도예의한 변화

KK 마우스에 고비타민 E 식이를 공급하여 생후 4개

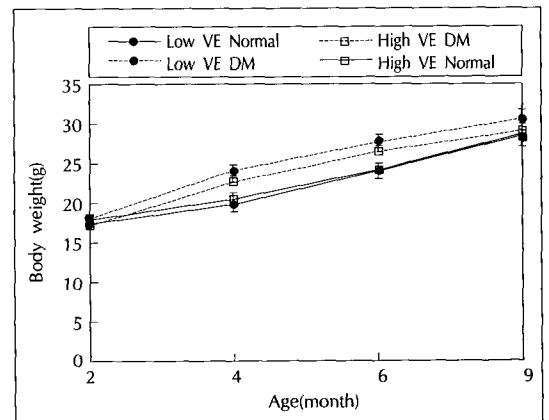


Fig. 1. Effects of vitamin E supplementation on body weight of KK mice. 8 KK mice for each point. Values are mean±SD. Low VE : High fat, low VE diet(corn oil 20%, 51IU VE/kg diet). High VE : High fat, high VE diet(corn oil 20%, 2080IU VE/kg diet).

월, 6개월, 9개월(당뇨 0개월, 2개월, 5개월)에 지질과산화물인 lipofuscin을 측정한 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

고지방 식이 섭취시, 4개월, 6개월, 9개월에 lipofuscin은 정상군에서 각각 7.00, 7.35, 18.18의 AU/mg protein의 값을 나타내어 9개월에는 4개월의 2.6배로 증가되었다. 4개월 당뇨군은 당뇨 발생에 의해 lipofu-

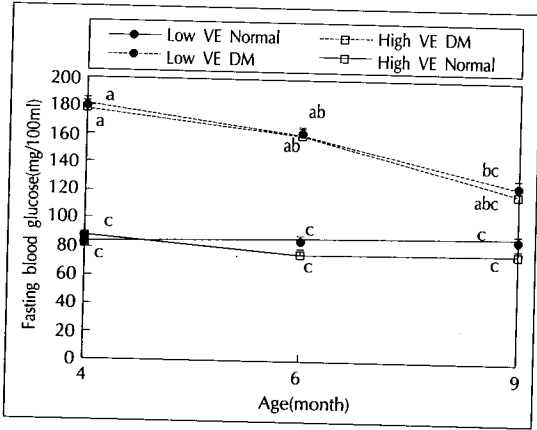


Fig. 2. Effects of vitamin E supplementation on fasting blood glucose in normal and diabetic KK mice. 8 KK mice for each point. Values are mean \pm SD. Low VE : High fat, low VE diet(corn oil 20%, 51IU VE/kg diet). High VE : High fat, high VE diet(corn oil 20%, 2080IU VE/kg diet). Means with the same alphabets are not significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

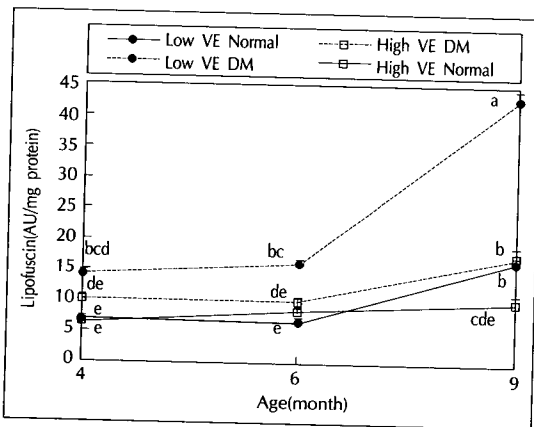


Fig. 3. Effects of vitamin E supplementation on hepatic lipofuscin in normal and diabetic KK mice. Low VE : High fat, low VE diet(corn oil 20%, 51IU VE/kg diet). High VE : High fat, high VE diet(corn oil 20%, 2080IU VE/kg diet). Means with the same alphabets are not significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. Values are mean \pm SD, $n = 5 - 9$.

scin이 당뇨 발생에 의해 정상군의 2배로 증가되어 13.88 AU/mg protein이 되었고, 특히 9개월에 급격히 증가되어 9개월 정상군의 2.3배로 증가되었다. 이는 당뇨 진행에 의한 증가가 노화에 의한 증가를 능가한 것으로서 당뇨병의 병태 생리를 노화의 가속화로 보는 견해²²⁾를 지지한다 할 수 있다. 당뇨군에서 지질과산화물이 현저하게 증가되는 것은 생체막 지질에서 PLA₂의 활성증가로 arachidonic acid 함량이 증가되고 따라서 lipooxygenase와 cyclooxygenase system이 항진되어 자유 라디칼 생성이 증가된 것²³⁾에 기인한다고 사료된다.

신장에서 GR의 활성도를 관찰한 결과는 Fig. 4와 같다. 정상군에서 GR의 활성은 월령이 증가하면서 계속 감소되었으며, 9개월에는 4개월의 80%를 나타내었다. 또한, 당뇨군에서는 정상대조군과 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다.

GPX의 활성도를 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. 정상군에서 6개월에 4개월 정상군의 80%로 감소되었고, 월령이 증가되어도 더 이상 감소되지 않았으며 9개월에는 4개월의 72%를 나타내었다. 4개월 당뇨군에서는 정상대조군보다 활성도가 22%가 감소되었으나, 9개월 당뇨군에서는 정상대조군과 유의한 차이를 나타내지 않았다. CAT의 활성도는 Fig. 6과 같다. 정상군에서 월령이 증가하여도 변화가 없었고, 당뇨에 의해 활성도가 감소되었는데 특히 9개월에 급격한 감소를 나타내어 정상대조군의 52%가 되었다. 이상의 실험 결과 당뇨

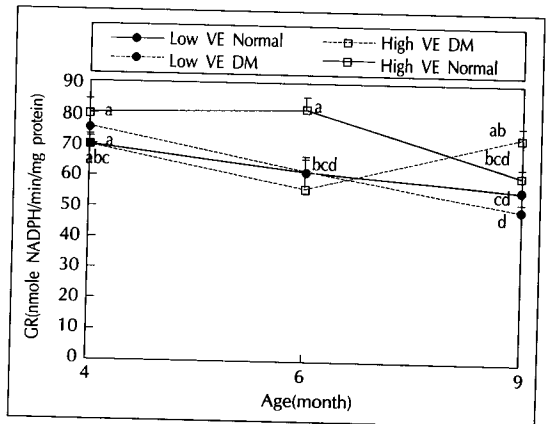


Fig. 4. Effects of vitamin E supplementation on renal GR activities in normal and diabetic KK mice. Low VE : High fat, low VE diet(corn oil 20%, 51IU VE/kg diet). High VE : High fat, high VE diet(corn oil 20%, 2080IU VE/kg diet). Means with the same alphabets are not significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. Values are mean \pm SD, $n = 5 - 9$.

KK마우스의 신장 항산화계 효소 중 GPX와 CAT가 유의한 효소활성 변화를 나타내어 GR보다 당뇨병과 더 밀접한 관련이 있을 것으로 생각되었고, lipofuscin은 GR, GPX, CAT 활성도와 각각 $r = -0.58(p < 0.001)$, $r = -0.6(p < 0.001)$, $r = -0.77(p < 0.001)$ 의 상관관계를 나타내었는데, 당뇨 상태에서 GPX와 CAT 활성의 저하에 따른 지질과산화물의 증가는 당뇨병성 합병증 유발의 한 소인이 될 것으로 사료된다. 또한, 당뇨병의 유병기간에 따른 항산화계 효소 활성도를 비교 관찰하였을 때, GPX활성도의 감소는 당뇨 유도후 0개월, 2개월에 CAT 활성의 감소는 당뇨 유도후 5개월에 급격히 일어났으며, 9개월에 CAT의 활성이 정상대조군에 비해 유의한 감소를 보였으나, GPX와 GR의 활성도는 유의한 차이를 보이지 않았다.

당뇨군에서 항산화계 효소들의 활성은 감소되었는데, 이러한 현상은 당뇨군에서 불포화지방산 함량이 높은 생체막이 산화적 stress에 대해 민감하여 지질과산화물이 일어나게 되고, 이로 인해 효소활성에 필요한 세포 소기관들의 과산화적 손상이 가속화됨으로써 효소 활성이 저하된 것으로 보인다.

3. 고비타민 E 식이 섭취에 의한 변화

고비타민 E 식이를 먹인 경우 정상군에서는 월령이 증가되어도 lipofuscin이 유의적인 증가를 나타내지 않았다(Fig. 3). 또한 당뇨가 발생되어도 정상대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 당뇨 5개월인 9개월 군에서는 증가되었지만 고지방 식이를 섭취한 당뇨

군보다는 감소된 값을 나타내었다. 본 연구 결과는 비타민 E 보강시 lipofuscin의 감소가 보였다는 여러 보고²⁴⁾²⁵⁾들과 일치하였고, 또한 Prichard 등¹²⁾이 STZ로써 당뇨병을 유발한 쥐에게 비타민 E를 투여한 후 혈장과 간조직의 지질과산화물 축적이 감소되었다는 결과와도 일치하였다. 정상군에서도 비타민 E 보강에 의해 lipofuscin 함량이 낮아진 것은 lipofuscin이 정상적인 대사 상태에서도 시간이 지남에 따라 축적되어 나이가 들수록 그 함량이 높아지는 물질이기 때문이라고 사료된다²⁶⁾. 고비타민 E 식이 섭취에 의해 지질과산화물이 현저하게 감소된 것은 비타민 E가 arachidonate 대사가 항진되는 것을 제어하여 lipoxygenase와 cyclooxygenase의 활성을 감소시켜 자유 라디칼의 생성을 억제시키고 동시에 chain-breaking antioxidant 역할을 한 것에 기인된 것이라고⁹⁾ 사료된다.

신장에서의 GR의 활성도는 Fig. 4와 같이 고비타민 E 식이를 섭취시킨 경우 정상군에서는 월령이 증가될 때 고지방 식이를 섭취한 정상군에 비해 GR 활성도가 증가되었고, 당뇨 발생시에도 고지방식이를 섭취한 당뇨 발생군에 비해 GR 활성도가 증가되었다. GPX의 활성도는 정상군에서는 고비타민 E 식이를 섭취한 경우 고지방식이를 섭취한 정상군에 비해 6개월에 증가되었고, 당뇨발생시에도 고지방식이를 섭취한 당뇨군에 비해 6개월, 9개월 모두 증가되었다(Fig. 5). CAT의 활성도는 고비타민 E식이에 의해 9개월에 활성도가 증가되는 효과를 나타내었다(Fig. 6). 고지방식이군에서

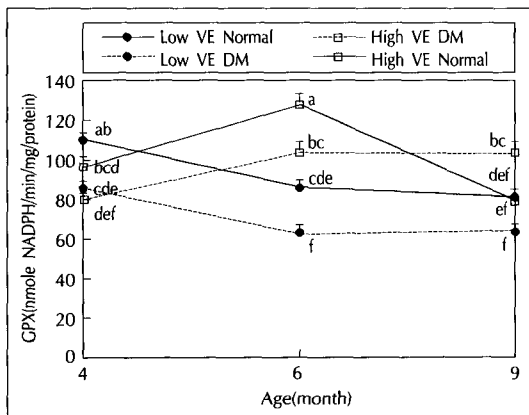


Fig. 5. Effects of vitamin E supplementation on renal GPX activities in normal and diabetic KK mice. Low VE : High fat, low VE diet(corn oil 20%, 51IU VE/kg diet). High VE : High fat, high VE diet(corn oil 20%, 2080IU VE/kg diet). Means with the same alphabets are not significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. Values are mean \pm SD, $n = 5 - 9$.

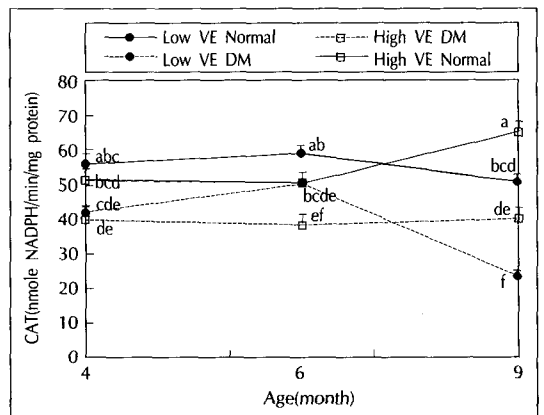


Fig. 6. Effects of vitamin E supplementation on renal CAT activities in normal and diabetic KK mice. Low VE : High fat, low VE diet(corn oil 20%, 51IU VE/kg diet). High VE : High fat, high VE diet(corn oil 20%, 2080IU VE/kg diet). Means with the same alphabets are not significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test. Values are mean \pm SD, $n = 5 - 9$.

는 당뇨 5개월인 9개월에 CAT의 활성이 정상대조군보다 유의적으로 낮았는데, 고비타민 E 식이를 섭취한 경우에는 CAT의 활성도가 증가되어서 고지방 식이군의 CAT 활성도 수준으로 회복되었다. 당뇨발생에 의해서 항산화계 효소 활성이 감소되나 비타민 E를 다량 공급했을 때에는 항산화계 효소 활성이 증가되었다. 이는 비타민 E가 생체막에 다량존재하는 다불포화 지방산에 대해 chain-breaking antioxidant로서 작용하여 세포막의 소기관들을 과산화로부터 보호함으로써 효소활성의 최적구조를 유지시켜 주는데 기여하기 때문으로 생각된다²⁶⁾. 결론적으로 당뇨 KK 마우스에서는 정상 대조군에 비해 지질과산화 반응이 촉진되었으나 식이에 비타민 E를 보강시켰을 때에는 항산화계 효소 활성이 증가됨으로 인하여 지질과산화가 감소하게 된 것으로 보인다.

설치류에 대한 비타민 E의 생리적 필요량은 15IU/kg diet로 권장량은 40IU/kg diet이다²⁷⁾²⁸⁾. 비타민 E를 과량 투여했을 때 장에서의 흡수율이 저하되고 대변으로 많은 양이 배설되므로, 항산화제로 식이에 첨가해 준 비타민 E는 과량 투여시에도 독성은 낮다. 마우스에서 2740mg/kg diet 보충시에도 독성이 관찰되지 않았다²⁹⁾³⁰⁾. 백서에서 10000IU/kg diet를 16개월간 섭취시켜도 독성이 나타나지 않았다는 보고가 있고²⁷⁾, 본 실험에서도 7개월간 고비타민 E(2080IU/kg diet)를 섭취시켰을 때 비타민 E로 인한 독성이 관찰되지 않았다.

이상의 결과 KK 마우스에서 월령증가 및 당뇨에 의해 지질 과산화물 생성의 증가 및 신장의 항산화계 효소 활성도의 감소를 관찰하였고, 고비타민 E 식이는 이 변화를 억제하여 주었음을 확인하였다.

요약 및 결론

제 2형 당뇨 모델인 KK 마우스를 이용하여 노화 및 당뇨 발생에 따른 지질 과산화 및 항산화계의 변화를 확인하고, 비타민 E 보강식이가 이에 미치는 영향을 밝혀 보고자 이유한 KK 마우스를 1개월간 pellet diet로 적응시킨 후 고지방 식이(corn oil 20%, wt/wt)를 먹여 당뇨를 유도하였다. 비타민 E 보강은 2080 IU/kg diet 수준으로 하였으며, 생후 4개월, 6개월, 9개월(당뇨 0개월, 2개월, 5개월)에 희생시켜, 지질과산화물(lipofuscin)을 측정하였고 신장의 항산화계 효소(glutathione peroxidase, glutathione reductase, catalase)의 활성도를 측정하였다. Lipofuscin의 농도는 당뇨에 의해 증가되었으며 당뇨가 진행되었을 때 lipofuscin은 9개월에 급격히 증가되어 9개월 정상군의 2.

3배로 증가되었다. GPX의 활성도는 6개월부터 감소되었고, 당뇨가 계속 진행되어도 더이상 감소되지 않았다. CAT의 활성도는 9개월에 급격한 감소를 나타내었고, GR의 활성도는 당뇨에 의해 유의적인 변화를 나타내지 않았다. 고비타민 E 식이를 섭취한 경우 당뇨에 의한 lipofuscin의 증가가 억제되었고, 신장의 항산화계 효소 활성도의 감소가 완화되었음을 관찰하였다.

이상의 결과로부터 KK 마우스에서는 월령이 증가함에 따라 lipofuscin의 증가 및 신장의 항산화 효소 활성도의 감소가 나타났고, 또한 당뇨 유발에 의해 이 변화들은 더욱 촉진되었으나, 2080IU/kg diet 수준의 고비타민 E 식이를 섭취시켰을 때 이런 변화들이 억제되었음을 확인하였다.

Literature cited

- 1) Leivobitz BE, Siegel BV. Aspects of free radical reactions in biological systems : aging. *J Gerontol* 35 : 45-56, 1980
- 2) Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 40 : 405-412, 1991
- 3) Osterby R. Early phases in the development of diabetic glomerulopathy. *Acta Med Scand(Suppl)* 574 : 3-82, 1974
- 4) Weil R, Nozawa M, Koss M, Weber C, Reemtsma K, Macintosh R. The kidney in streptozotocin diabetic rats. *Arch Pathol Lab Med* 100 : 37-49, 1976
- 5) Yaqoob M, Partrick AW, Stevenson A, Mason H, White MC, Bell GM. Relationship between markers of endothelial dysfunction, oxidant injury and tubular damage in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Sci* 85 : 557-562, 1993
- 6) Wohaieb SA, Godin DV. Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozotocin-induced diabetes in rat. Effect of insulin treatment. *Diabetes* 36 : 1014-1018, 1987
- 7) Loven D, Schedl H, Wilson H, Daabees TT, Stegink LD, Diekus M, Oberley L. Effect of insulin and oral glutathione on glutathione levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes* 35 : 503-507, 1986
- 8) 유병진 · 배학연 · 이병래. 당뇨병환자의 적혈구에서 항산화 효소 활성도의 변화. *대한내과학회잡지* 44(6) : 766-774, 1993
- 9) Higuchi Y. Lipid peroxides and α -tocopherol in rat with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Acta Med Okayama* 36(3) : 165-175, 1982
- 10) Uzel N, Sivas A, Uysal M, Oz H. Erythrocyte lipid peroxidation and glutathione peroxidase activities in patients with diabetes mellitus. *Horm Metabol Res* 19 : 89-90, 1987

- 11) Paolisso G, D'Amore A. Pharmacological doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetes patients. *Am J Clin Nutr* 57 : 650-656, 1993
- 12) Prichard KA, Patel ST, Karper CW, Newman HAI, Panganamala RV. Triglyceride lowering effects of dietary vitamin E in streptozotocin-induced diabetic rats. Increased lipoprotein lipase activity in livers of diabetic rats fed high dietary vitamin E. *Diabetes* 35 : 278-281, 1986
- 13) Wu HP, Tai TY, Chuang LM, Lin BJ, Wang JD, Teng CM. Effect of tocopherol on platelet aggregation in non-insulin-dependent diabetes mellitus in vivo and in vitro studies. *J Formos Med Assoc* 91(3) : 270-275, 1992
- 14) Dulin WE, Wyse BM. Diabetes in the KK-mouse. *Diabetologia* 6 : 317-323, 1970
- 15) Wehner H, Hohn D, Faix-Schade U, Huber H, Wazlser P. Glomerular changes in mice with spontaneous hereditary diabetes. *Lab Invest* 27(3) : 331-340, 1972
- 16) 이귀녕 · 이종순. 임상 병리 파일. pp.90. 의학 문화사, 서울. 1990
- 17) Sheldahl JA, Tappel AL. Fluorescent products from aging *Drosophila melanogaster* : An indicator of free radical lipid peroxidation. *Exp Gerontol* 9 : 33-41, 1974
- 18) Tappel AL. Glutathione peroxidase and hyperoxides. *Methods Enzy* 52 : 506-513, 1978
- 19) Carlberg I, Mannervick B. Glutathione reductase. *Methods Enzy* 113 : 484-499, 1985
- 20) Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzy* 105 : 121-6, 1988
- 21) Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Drovenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem* 150 : 76-85, 1985
- 22) Monnier VM, Kohn RR, Cerami A. Accelerated age related browning of human collagen in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA* 81 : 583-587, 1984
- 23) Panganamala RV, Cornwell DG. The effect of vitamin E on arachidonic acid metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 393 : 376-393, 1982
- 24) Reddy K, Fletcher B, Tappel A, Tappel AL. Measurement and spectral characteristics of fluorescent pigments in tissues of rats as a function of dietary polyunsaturated fats and vitamin E. *J Nutr* 193 : 908-915, 1973
- 25) Blackett AD, Hall DA. Tissue vitamin E levels and lipofuscin accumulation with age in the mouse. *J Gerontol* 36 (5) : 529-533, 1981
- 26) Urano S, Midori HH, Tochihi N, Matsuo M, Shiraki M, Ito H. Vitamin E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposomes to oxidative stress in aged diabetics. *Lipids* 26(1) : 58-61, 1991
- 27) Yang NY, Desai ID. Effect of high level of dietary vitamin E on liver and plasma lipids and fat soluble vitamins in rats. *J Nutr* 107 : 1418-1426, 1977
- 28) Trostler N, Brady PS, Romsos DR. Influence of dietary vitamin E on malondialdehyde level in liver and adipose tissue and on glutathione peroxidase and reductase activities in liver and erythrocytes of lean and obese(ob/ob) mice. *J Nutr* 109 : 345-352, 1979
- 29) 최은주. 비타민 E 보강식이를 섭취한 KK마우스에서 지질 과산화물과 혈청 당화단백질에 관한 연구, 서울대학교 석사학위 논문, 1994
- 30) Tappel A, Fletcher B, Deamer D. Effect of an antioxidants and nutrients on lipid peroxidation fluorescent products and aging parameters in the mouse. *J Gerontol* 28(4) : 415-424, 1973