

Vanadium Yeast의 독성저감 효과

박승희¹ · 정규혁^{2*}

¹식품의약품안전청, ²*성균관대학교 약학부

Toxic Reduction Effect of Vanadium Yeast

Seung-Hee Park¹ and Kyu-Hyuck Chung^{2*}

¹Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704 Korea

²*College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746 Korea

(Received December 10, 2001 / Accepted December 30, 2001)

ABSTRACT : Vanadium has been known as environmental pollutants resulted from the burning of fossil fuels in nature. It led to toxic responses by prooxidant activity, inducing free radicals and the accumulation in the tissues. Recently, there has been growing interest in an essential nutritional requirement of vanadium and especially the treatment of diabetes. But because of its strong toxicity, these chemicals have narrow safety margin. In order to reduce metal toxicity, and increase absorption and biological activities, metal ions such as selenium and chromium were uptaken in yeast cells. In this study, Vanadium yeast was prepared by uptaking vanadate in yeast cells. Vanadate induced hematological and biochemical changes in the experimental rat blood were inhibited by the treatments of vanadium yeast. Lipid peroxidation and catalase activity were significantly increased in kidney and liver after a single intraperitoneal injection of vanadate to rats. However, these observations were apparently reduced in the vanadium yeast treated group. Vanadium amount in blood, kidney and liver after a single intraperitoneal injection of vanadium yeast was significantly reduced than that of vanadate treated group. In conclusion, vanadium yeast uptaken vanadate in yeast cells could reduce toxic effects of vanadate.

Keywords : vanadium yeast, antidiabetic activity, lipid peroxidation, toxic reduction

서 론

Vanadium은 자연환경에서 주로 +3, +4 및 +5가의 3가지 산화형태를 가지고 있다. 고등동물의 체내에서는 blood plasma 등 pH 4~8의 체액에서 vanadium +5가인 vanadate (VO₃⁻)로 분포되어 있으며, 세포내에서는 vanadium +4가인 vanadyl(VO₂⁺)로 존재한다. Vanadate는 음이온수송체계에 의해 세포로 들어가 glutathione에 의해 vanadyl로 환원되고, vanadyl은 산소존재하에서 vanadate로 산화되며, 세포내 vanadyl은 철결합단백질 및 인화합물과 같은 organic ligand와 결합한다(Hamada, 1994). Vanadium의 독성은 화학적 형태에 따라 다양하며 양이온 및 음이온 모두 독성을 나타낸다. 일반적으로 독성은 이온가가 증가할수록 증가하여 vanadium +5가가 가장 독성이 높다. Vanadium의 oxide중에는 vanadium pentoxide가 trioxide 또는 dioxide보다 용

해성 및 독성이 더 높다(Hudson, 1964).

Vanadium을 rat 또는 mice에 피하 또는 복강내 투여했을 때 vanadyl과 H₂O₂의 반응에 의해 생기는 hydroxyl radical에 의해 신장에서 lipid peroxidation을 증가시키며 (Adler 등, 1995), chelate된 vanadyl은 lipid peroxidation을 저해한다고 보고되었다(Shi 등, 1996). Free radical이 lipid peroxidation을 일으키는데 있어서 중요한 역할을 하며 vanadium에 의해 유발된 lipid peroxidation은 내인성 lipid peroxidation과 함께 장기에 독성을 유발하는데 결정적이며, 또한 vanadium은 뇌에서 lipid peroxidation을 일으켜 생리적 기능에 손상을 입혀 CNS 기능장애를 나타내기도 한다 (Donalson 등, 1985; Keller 등, 1988). 한편 vanadium의 조직내 축적은 vanadate로 투여하였을 때가 vanadyl을 투여하였을 때 보다 더 많이 축적되는 것으로 보고되어 있다 (Sakurai, 1994).

Vanadium은 포유동물의 세포배양의 성장과 생존에 필요한 필수영양적 원소로 인식되어 왔으며(Macma, 1980), 인슐린

*To whom correspondence should be addressed

유사작용을 가지고 있어 당뇨병치료에 vanadium의 생물학적 이용 가능성에 대해 흥미가 높아져 왔다. 그러나 고등동물에서 이러한 효과를 나타내려면 독성농도에 가까운 양을 투여해야하며 이에 따라 음식물섭취 감소, 체중증가 감소, 뇨산 및 크레아티닌 증가, vanadium의 조직내 축적 등에 의한 여러 가지 독성 및 사망 등과 같은 독성을 유발시킬 수 있다(Domingo 등, 1991). 따라서 vanadium의 독성을 경감시키려고 하는 시도가 이루어지고 있다.

항산화제인 vitamin C 또는 E 등을 병용하여 vanadium +5가를 독성이 약한 vanadium +4가로 환원시킴으로써 독성을 경감시키거나, chelating agent인 tiron 또는 deferoxamine 등을 병용하여 vanadium의 노배설을 증가시키고 조직내 축적을 감소시킴으로써 독성을 경감시키는 연구가 보고되었다. 그러나 독성을 경감시키는 효과가 제한적이고 작용기전 및 상호관련성에 대한 연구가 충분히 이루어지지 않은 상태이며 앞으로 더 많은 연구가 필요한 실정이다. 한편 금속 화합물의 독성을 저감시키는 효과적인 방안으로 yeast와의 복합체를 만드는 방법이 활용되고 있다. 필수영양원소인 selenium, chromium 및 zinc 등의 yeast복합체는 현재 의약품으로 이용되기도 한다. 따라서 본 연구에서는 vanadium의 독성을 저감시키는 방법으로 vanadium을 yeast에 uptake시켜 결합체를 형성시켜 vanadium yeast를 제조하고, vanadium의 대표적 독성작용인 세포 과산화 효과 등에 대한 독성 저감효과를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 동물

6~7주령의 건강상태가 양호한 Sprague Dawley(S.D.) 웅성 rat(170~200 g)는 제일상사에서 구입하여 24±2°C, 상대습도 55±5%, 12시간 명암조건에서 사육하였다. 1주일 이상의 순화를 거친 후 건강한 동물만 선별하여 실험에 사용하였다. 절식시간을 제외한 모든 실험기간동안 사료 및 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다. 실험군은 1군을 10마리로 하였으며, sodium orthovanadate 30 mg/kg 및 동일한 vanadium 상당량의 vanadium yeast를 주사용 생리식염수에 녹여 rat에 단회 복강투여하였다.

실험방법

Vanadium yeast 제조

Yeast 세포인 *Saccharomyces cerevisiae* H 1022를 국립보건원에서 분양받아 1% yeast extract, 2% peptone 및 2% glucose를 함유하는 YEPD 배지에 접종한 다음 25°C에서 24시간 shaking incubator에서 배양하였다. 지수기까지

배양한 yeast 세포를 원심분리하여 채취한 다음 빙냉증류수로 3회 세척하였다.

세포를 채취한 직후 2% harvested yeast와 150 mM phosphate buffer(pH 6.0) 및 250 mM glucose 혼합액에 5 mM sodium orthovanadate를 넣은 다음 25°C에서 24시간 shaking incubator에서 배양하였다. 배양이 완료된 vanadium yeast 배양액을 원심분리하여 상층액을 제거하여 vanadium yeast cell을 채취하였다. Yeast 세포의 세포막 표면에 부착된 vanadium을 제거하기 위하여 50 mM EDTA (pH 7.0)로 4회 세척하여 원심분리하고 잔류물을 100°C에서 5시간 건조한 다음 vanadium yeast로 하였다(Bode 등, 1990). Vanadium yeast에 질산·과염소산혼합액(4:1)을 넣어 분해한 다음 Inductively Coupled Plasma Spectrometer (ICP, GBC Integra XM2)를 사용하여 세포에 함유된 vanadium의 함량을 측정하고 yeast 세포의 건조중량을 기준으로 표기하였다.

혈액학적 및 혈액생화학적 검사

실험동물에 sodium orthovanadate 및 vanadium yeast를 투여한 후 3시간 및 9시간 후 복부 동맥에서 채혈하였으며, 혈액학적 검사용 혈액은 EDTA가 함유된 시험관에 채혈하고 나머지 혈액은 혈액응고 방지제가 없는 혈청분리관에 넣어 실온에 30분 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청학적 검사용 시료로 사용하였다. 혈액학적 검사는 자동혈액분석기(Technicon사의 H1 system)를 이용하여 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 혈색소량(HGB), 적혈구용적(Hct), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC)를 측정하였으며 혈액생화학적 검사는 자동혈액생화학분석기(RA-XT)를 사용하여 γ -glutamyltranspeptidase(γ -GTP), 혈당, 콜레스테롤, 중성지방, 크레아틴, blood urea nitrogen(BUN)을 측정하였다.

과산화지질의 측정

실험동물에 각각의 약물을 투여한 후 3시간 및 9시간 후에 간장과 신장을 적출하였다. 적출된 간장 및 신장에 1.15% potassium chloride를 9 volume 넣어 균질화하여 조직내 단백질의 농도를 정량한 다음 10 mg/ml로 일정하게 희석하였다. 희석된 조직 균질액내 과산화지질의 양을 2-thiobarbituric acid(TBA)법에 의해 malonyl dialdehyde (MDA) 양으로 정량하였다(Placer 등, 1966). 분리된 butanol 층의 흡광도는 UV/VIS Spectrophotometer(Pharmacia Biotech Novaspec 2)로 535 nm 및 520 nm에서 측정하였다.

Catalase 활성도 측정

실험동물에 각각의 약물을 투여한 후 3시간 및 9시간 후에 적출한 일정량의 간장과 신장 조직에 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)를 넣어 균질화하여 105,000×g

로 10분간 초원심분리하여 cytosol을 분리하였다. 단백질을 정량하여 10 mg/ml로 희석한 cytosol 50 μ l에 19 mM hydrogen peroxide 600 μ l를 넣어 hydrogen peroxide 소실량을 UV/VIS Spectrophotometer로 240 nm에서 2분간 흡광도를 측정하였다. 이때 extinction coefficient는 43.6 M-cm-로 하여 계산하였다(Beers 등, 1952).

Superoxide dismutase 활성도 측정

Catalase 측정과 동일한 방법으로 cytosol을 분리한 후 단백질을 정량하여 10 mg/ml로 희석한 cytosol 50 μ l에 50 mM bicarbonate buffer(pH 10.2) 2.4 ml, 3 mM xanthine 0.1 ml, 3 mM EDTA 0.1 ml, 0.15% bovine serum albumin 0.1 ml, 0.75 mM nitroblue tetrazolium 0.1 ml를 넣어 10 분간 상온에서 방치한 다음 xanthine oxidase 50 mU를 넣어 25°C에서 20분간 섞고 0.6 mM cupric chloride 0.1 ml를 넣어 UV/VIS spectrophotometer로 540nm에서 1분간 흡광도 변화를 측정하였다.

Vanadium의 조직내 함량 측정

실험동물에 각각의 약물을 투여한 후 3시간 및 9시간 후에 복부대동맥으로부터 채혈한 혈액과 적출한 간장 및 신장에 함유된 vanadium 함량을 조사하였다. 혈액은 1.5 ml를 취하여 질산 5 ml를 넣었으며, 간장 및 신장은 일정량을 취하여 물 2 ml 및 질산 5 ml를 넣어 Microwave Digestion System(Milestone s.r.l., mls 1200 mega, Italy)으로 분해한 다음 물을 넣어 정확하게 10 ml로 하여 ICP(GBC Integra XM2 ICP)로 vanadium의 양을 측정하였다.

결 과

혈액학적 및 혈액생화학적 변화

실험동물의 복강내에 vanadate 및 vanadium yeast를 vanadium양으로 30mg/kg 각각 투여한 3시간 및 9시간 후의 혈액학적 변화를 측정한 결과, Table 1에서 보는 바와 같이 백혈구수(WBC), blood platelet, neutrophils-segmented는 vanadate 투여에 의해 대조군에 비해 증가하였으나 vanadium yeast 투여군에서는 대조군과 유사하게 나타났다. 또한 lymphocytes, eosinophils, basophils는 vanadate 투여에 의해 감소되었으나 vanadate yeast 투여군에서는 감소가 나타나지 않아 yeast와의 결합체 형성으로 인하여 vanadate에 의해 유발되는 혈액학적 변화가 억제되는 것으로 나타났으며 적혈구수(RBC), hemoglobin, hematocrit 등은 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다.

혈액생화학적 변화를 측정한 결과, Table 2에서 보는 바와 같이 aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), triglyceride 및 blood urea nitrogen(BUN)은 vanadate 투여에 의해 대조군에 비해 증가하였으나 vanadium yeast 투여군에서는 증가가 억제되었다. γ glutamyltranspeptidase(γ -GTP) 및 glucose는 vanadate 투여에 의해 감소되었으나 vanadium yeast 투여군에서는 감소가 억제되었다. 따라서 vanadate의 혈액학적 및 혈액생화학적 독성영향이 yeast와의 결합체에서는 현저히 감소되는 것으로 나타났다.

Table 1. Hematological observation in S.D. rats treated intraperitoneally with vanadate (30 mg/kg) and vanadium yeast (30 mg/kg as vanadate)

Parameter	Control	3 hrs		9 hrs	
		Vanadate	Vanadium yeast	Vanadate	Vanadium yeast
BLP ($\times 10^3/\mu$ l)	582.0 \pm 0.0	782.0 \pm 95.3*	611.3 \pm 141.1	655.8 \pm 83.3	586.5 \pm 87.0
WBC ($\times 10^3/\mu$ l)	8.0 \pm 0.8	9.7 \pm 2.4	8.1 \pm 1.6	13.5 \pm 1.2*	7.4 \pm 1.2#
RBC ($\times 10^6/\mu$ l)	6.9 \pm 0.4	7.5 \pm 0.4	7.2 \pm 0.4	7.2 \pm 0.2	6.8 \pm 0.2
HGB (g/dl)	13.6 \pm 0.4	15.1 \pm 1.0	14.0 \pm 1.0	14.2 \pm 0.4	13.9 \pm 0.4
Hct (%)	41.9 \pm 1.8	45.2 \pm 3.0	42.7 \pm 2.6	42.2 \pm 1.2	40.9 \pm 1.0
MCV (fl)	59.5 \pm 2.4	59.6 \pm 1.2	59.0 \pm 0.8	58.6 \pm 0.25	9.8 \pm 0.3
MCH (pg)	19.7 \pm 1.1	19.8 \pm 0.4	19.3 \pm 0.4	19.7 \pm 0.1	19.9 \pm 0.2
MCHC (%)	33.1 \pm 0.5	33.3 \pm 0.2	33.3 \pm 0.3	33.6 \pm 0.2*	33.2 \pm 0.2
Seg (%)	29.2 \pm 1.6	71.7 \pm 2.8**	56.8 \pm 5.6**	67.1 \pm 2.6**	55.6 \pm 5.4**
Lympho (%)	66.7 \pm 1.3	27.0 \pm 2.8**	34.5 \pm 5.4**	28.1 \pm 3.2**	37.7 \pm 5.0**
Mono (%)	0.7 \pm 0.2	0.3 \pm 0.1	3.4 \pm 2.2**	1.8 \pm 0.6	2.4 \pm 0.9**
Eosino (%)	1.6 \pm 0.3	0.8 \pm 0.1*	2.8 \pm 0.7**	2.2 \pm 0.8	2.9 \pm 1.8**
Baso (%)	1.8 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1**	1.2 \pm 0.5	0.7 \pm 0.1**	1.5 \pm 0.2

Data are mean \pm S.E.

*Significantly different from control group at p<0.05.

**Significantly different from control group at p<0.01.

BLP; blood platelet, WBC; white blood cell, RBC; red blood cell, HGB; hemoglobin, Hct; hematocrit, MCV; mean corpuscular volume, MCH; mean corpuscular hemoglobin, MCHC; mean corpuscular hemoglobin concentration, Seg; neutrophils-segmented, Lympho; lymphocytes, Mono; monocytes, Eosino; eosinophils, Baso; basophils.

Table 2. Biochemical observation in S.D. rats treated intraperitoneally with vanadate (30 mg/kg) and vanadium yeast (30 mg/kg as vanadate)

Parameter	Control	3 hr		9 hr	
		Vanadate	Vanadium yeast	Vanadate	Vanadium yeast
AST(U/l)	212.6±13.9	420.6±86.1*	243.2±30.2	301.4±27.4*	296.8±9.2*
ALT(U/l)	61.4±6.3	136.2±27.7*	55.0±4.3	107.2±8.1**	60.0±13.0
γ-GTP(U/l)	27.8±6.5	19.0±3.8*	23.4±5.8	17.5±4.5**	22.4±4.0
GLU(mg/dl)	131.8±6.2	107.2±1.7	131.6±16.7	110.0±6.6	113.0±21.1
CHOL(mg/dl)	153.8±21.3	124.4±8.7	108.0±9.7*	165.6±17.7	128.3±17.5
TRIG(mg/dl)	50.0±7.1	85.2±11.2*	55.6±6.9	206.8±28.0**	126.5±40.9
CREAT(mg/dl)	0.6±0.0	0.8±0.1*	0.5±0.0*	0.8±0.1*	0.5±0.0*
BUN(mg/dl)	16.2±1.2	28.4±3.5*	24.6±3.2*	30.6±3.5**	21.5±4.4

Data are mean±S.E.

*Significantly different from control group at p<0.05.

**Significantly different from control group at p<0.01 AST; aspartate aminotransferase, ALT; alanine aminotransferase, γ-GTP; γ-glutamyltranspeptidase, GLU; glucose, CHOL; cholesterol, TRIG; triglyceride, CREAT; creatinine, BUN; blood urea nitrogen.

간장 및 신장의 과산화지질 함량 변화

제조된 vanadium yeast를 조음과 처리한 후 differential centrifugation방법으로 cell fractionation하여 세포기관내에 흡수된 vanadium의 함량을 측정된 결과 yeast 세포 중 핵에 13%, mitochondria, lysosome 및 peroxisome에 1%, 세포막 및 endoplasmic reticulum에 1%, lysosome 및 cytosol에 85%가 분포하고 있음을 확인하였다.

Vanadate 및 vanadium yeast를 vanadium양으로 30 mg/kg 투여한 후 3시간 및 9시간 후에 간장 및 신장의 과산화지질 함량을 측정된 결과, 간장 조직중의 과산화지질 함량은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 투여 3시간 후의 함량변화는 대체로 유사하였으나 9시간 후에는 vanadate 투여군은 대조군에 비해 증가하였으며 vanadium yeast 투여군의 경우에는 vanadate 투여군에 비해 과산화지질의 생성이 감소된 것으로

나타났다. 신장 조직 중의 과산화지질 함량도 Fig. 2에서 보는 바와 같이 vanadate 투여군에서는 투여 3시간 및 9시간 후 생성된 malondialdehyde(MDA)량이 대조군에 비해 증가하였으나 vanadium yeast 투여군의 경우 vanadate 투여군에 비해 현저히 감소된 것으로 나타났다. 따라서 vanadate와 yeast cell과의 결합체의 형성이 간장 및 신장에서 vanadate에 의한 과산화지질 생성을 억제하는 것으로 나타났다.

간장 및 신장의 superoxide dismutase 활성도 변화

Vanadate 및 vanadium yeast를 vanadium양으로 30 mg/kg 투여한 3시간 및 9시간 후의 간장의 superoxide dismutase (SOD) 활성도 변화를 측정된 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 투여 3시간 후의 변화는 대체로 유사하였다. 투여 9시

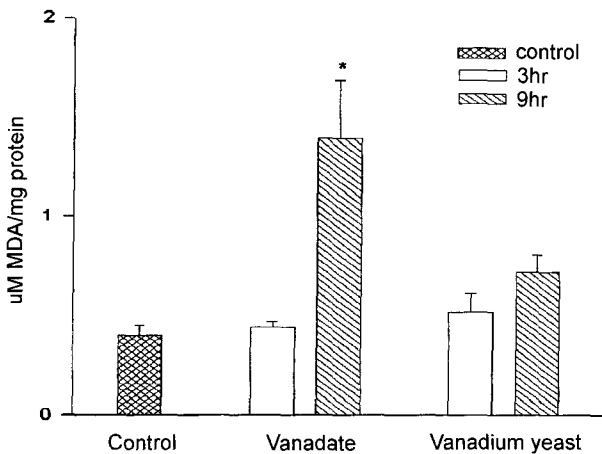


Fig. 1. Effect of lipid peroxidation on S.D. rats treated intraperitoneally with vanadate (30 mg/kg) and vanadium yeast (30 mg/kg as vanadate) in liver. *: Significantly different from control group at p<0.05.

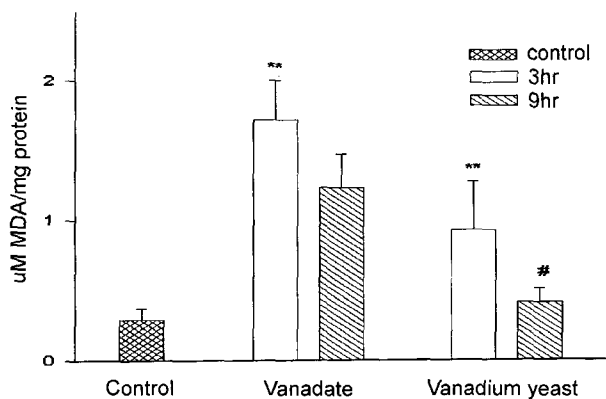


Fig. 2. Effect of lipid peroxidation on S.D. rats treated intraperitoneally with vanadate (30 mg/kg) and vanadium yeast (30 mg/kg as vanadate) in kidney. **: Significantly different from control group at p<0.01, #: Significantly different from vanadate treated group at p<0.05.

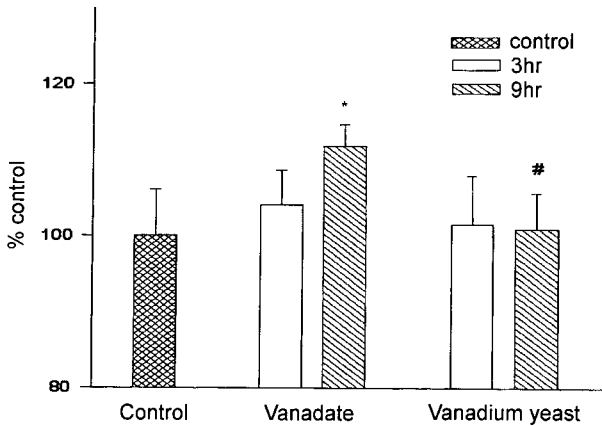


Fig. 3. Effect of superoxide anion on S.D. rats treated intraperitoneally with vanadate (30 mg/kg) and vanadium yeast (30 mg/kg as vanadate) in liver. *: Significantly different from control group at $p < 0.05$, #: Significantly different from vanadate treated group at $p < 0.05$.

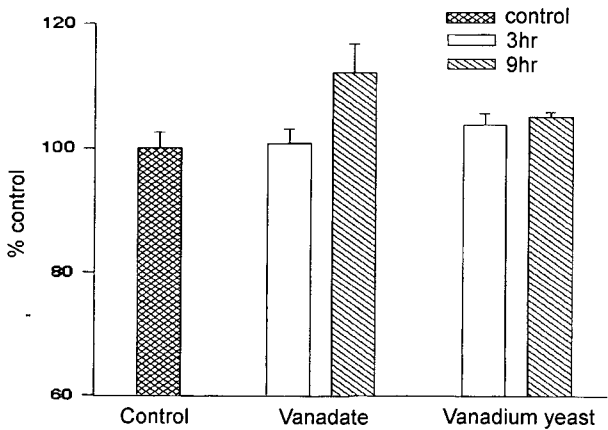


Fig. 4. Effect of superoxide anion on S.D. rats treated intraperitoneally with vanadate (30 mg/kg) and vanadium yeast (30 mg/kg as vanadate) in kidney.

간 후에는 vanadate 투여군에서는 SOD 활성도가 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였으나 이에 비해 vanadium yeast 투여군에서는 증가효과가 나타나지 않아 대조군과 유사하였다. 신장의 SOD 활성도 변화를 측정한 결과도 Fig. 4에서 보는 바와 같이 간장의 경우와 유사하게 투여 9시간후의 SOD 활성도가 vanadate 투여군에서는 대조군에 비해 약간 증가하는 경향이 있었으나 유의성은 없었고 vanadium yeast 투여군에서는 대조군과 유사하였다. 따라서 vanadate와 yeast cell과의 결합체 형성에 의해 vanadate의 superoxide anion 형성작용이 억제되는 것으로 나타났다.

간장 및 신장의 catalase 활성도 변화

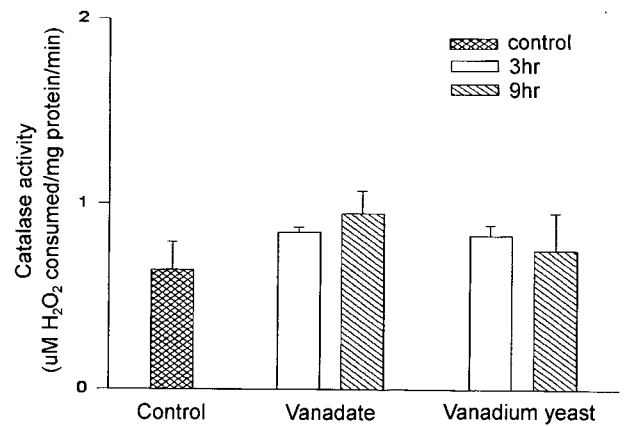


Fig. 5. Effect of catalase on S.D. rats treated intraperitoneally with vanadate (30 mg/kg) and vanadium yeast (30 mg/kg as vanadate) in liver.

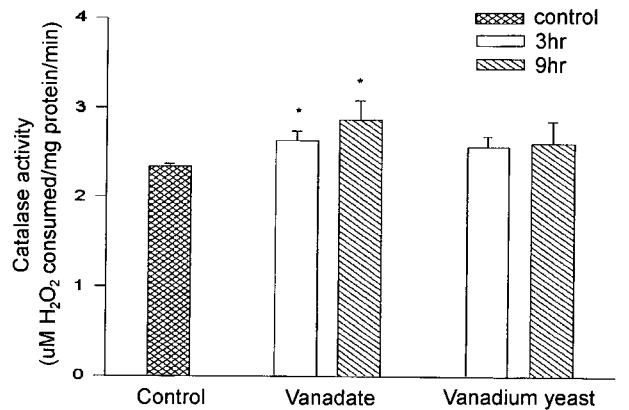


Fig. 6. Effect of catalase on S.D. rats treated intraperitoneally with vanadate (30 mg/kg) and vanadium yeast (30 mg/kg as vanadate) in kidney. *: Significantly different from control group at $p < 0.05$.

Vanadate 및 vanadium yeast를 vanadium의 양으로 30 mg/kg 투여한 3시간 및 9시간 후의 간장의 catalase 활성도 변화를 측정한 결과, Fig. 5에서 보는 바와 같이 vanadate 투여군에서는 대조군에 비해 증가하는 경향이 보이나 유의성은 없었으며 vanadium yeast 투여군에서는 투여 9시간 후에는 대조군과 유사하여 증가가 억제되는 경향이 있었다. 신장의 catalase 활성도 변화를 측정한 결과, Fig. 6에서 보는 바와 같이 vanadate 투여군에서는 투여 3시간 및 9시간 후의 catalase 활성도가 대조군에 비해 시간이 경과할수록 현저히 증가하였다. 이에 비해 vanadium yeast 투여군에서는 대조군에 비해 유의성 있는 증가가 나타나지 않아 vanadate와 yeast cell과의 결합체를 형성시킴으로써 특히 신장에서의 vanadate에 의한 catalase 활성도 증가를 저해하는 것으로 나타났다.

Table 3. Vanadium amounts in tissues on S.D. rats treated intraperitoneally with vanadate (30 mg/kg) and vanadium yeast (30 mg/kg as vanadate)

Parameter	Control	3 hrs		9 hrs	
		Vanadate	Vanadium yeast	Vanadate	Vanadium yeast
Blood ($\mu\text{g/l}$)	71.1 \pm 2.6	948.5 \pm 172.5**	485.1 \pm 66.9**	208.7 \pm 17.5**	153.5 \pm 88.9
Kidney ($\mu\text{g/g}$)	0.2 \pm 0.1	53.2 \pm 6.5**	22.1 \pm 2.1**	19.8 \pm 4.4*	7.7 \pm 1.0*
Liver ($\mu\text{g/g}$)	0.4 \pm 0.1	27.5 \pm 8.0*	12.1 \pm 2.0*	12.8 \pm 3.4	2.9 \pm 1.4

Data are mean \pm S.E.

*Significantly different from control group at $p < 0.05$.

**Significantly different from control group at $p < 0.01$.

Vanadium의 혈액 및 조직분포

Vanadate 및 vanadium yeast를 vanadium양으로 30 mg/kg 투여한 3시간 및 9시간 후의 vanadium의 혈액 및 조직 분포를 측정된 결과, Table 3에서 보는 바와 같이 vanadate 투여군에서는 혈액, 간장 및 신장에서 고농도의 vanadium이 측정되었다. 이에 비해 vanadium yeast 투여군에서는 혈액 및 장기조직 중의 함량이 감소되어 yeast와의 결합체 형성으로 인하여 체내의 축적성이 감소되는 것으로 나타났다. 한편 투여후 시간대 별로 보면 투여 3시간 후에 고농도로 분포되었다가 시간이 경과하면서 축적량이 감소하는 것으로 추정되었다. 또한 간장에 비해 신장에서의 축적량이 많은 것으로 나타났다.

고 찰

Vanadium은 체내에서 주로 +4가와 +5가 산화상태로 존재하며 vanadium +5가는 glutathione에 의해 vanadium +4가로 환원되면서 H_2O_2 에 의해 hydroxyl radical을 형성하여 (Shi 등, 1990) 여러 효소들을 저해하거나 활성화하고, 신장, 간장 등에 축적하여 여러 가지 독성작용을 나타내는 것으로 알려져 그간 독성물질로 인식되어 왔다. 그러나 vanadium이 인슐린유사작용을 나타내는 것으로 보고된 이래 체내 필수영양물질인지에 대한 흥미가 높아져 왔다 (Heyliger 등, 1985). 이러한 항당뇨작용에도 불구하고 vanadium의 강한 독성으로 인하여 safety margin이 좁아 치료목적으로 사용하기에는 문제점이 있다.

따라서 vanadium의 독성을 저감시키고 인슐린유사작용을 유지 또는 강화시키는데 많은 연구가 진행되고 있다. Vanadium의 독성을 저하시키기 위한 방안으로 독성경감제를 동시 투여하는 방법이 있는데 항산화제 또는 항산화효소를 병용투여하는 방법들이 시도되었다. 항산화제인 ascorbic acid (Dai 등, 1995) 및 tocopherol (Haider 등 1991), chelating agent인 Tiron (Domingo 등 1993) 및 deferoxamin (Gomez 등, 1991), hydroxyl radical scavenger인 ethanol 및 D-

mannitol (Hamada, 1994), 항산화효소인 catalase 및 superoxide dismutase (Hamada, 1994), 및 zinc (Zaporowska 등, 1992) 와의 병용투여에 의해 vanadium의 독성이 경감되는 것으로 보고되었다.

한편 인체에 대한 필수영양소로서의 약리 작용이 있는 중금속중 독성이 강한 물질을 독성저감형태로 투여하는 방법으로 최근 많이 시도되고 있는 방법이 yeast cell과의 결합체를 형성하는 것이다. Selenium yeast를 사료에 첨가하여 동물에 투여한 결과 selenium yeast는 selenium 0.75 mg에 해당하는 적은 양으로 selenium 3 mg에 해당하는 sodium selenite와 같은 효과를 나타내며, selenium yeast를 젖소에 9개월 동안 투여시 체내조직에 위험한 수준까지는 selenium 농도가 증가되지 않은 것으로 보고되었다 (Ortman 등, 1997). 현재 Cr, Zn 및 Se을 yeast와 배양하여 얻은 결합체는 인체 영양제로서도 활용되고 있다. 또한 사람 및 고등동물에서 탄수화물대사에 필수원소인 chromium은 위장관에서 잘 흡수되지 않는다. 그러나 Brewer's yeast와 같은 천연물질에 함유된 유기성 chromium(III) complex는 무기 chromium 또는 합성된 유기성 chromium(III) complex보다 흡수 및 생물학적 활성은 더 높다고 보고된 바도 있다 (Kumpulainen 등, 1978). 본 조사에서는 vanadium과 yeast를 함께 배양하여 yeast 세포와의 결합체 (vanadium yeast)를 생성하였으며 이의 독성을 vanadate와 비교하였다.

Vanadium 독성에 대한 yeast 결합체의 작용을 조사하기 위해 vanadate의 대표적 독성작용인 지질과산화작용 (Russanov 등, 1994)에 대한 영향을 비교관찰하고, hydroxyl radical의 형성을 저해하는 catalase의 활성도, superoxide radical의 형성을 저해하는 SOD 활성도 등 효소활성도를 비교 조사하였다. 신장 및 간장에서 과산화지질의 함량을 측정된 결과, vanadate 투여에 의해 과산화지질의 생성이 현저히 증가하였으나 vanadium yeast 투여군에서는 vanadate 투여군에 비해 과산화지질의 현저한 증가가 나타나지 않았다. 이로써 vanadate와 yeast와의 결합체 형성에 의해 간장 및 신장에서 vanadate에 의해 유발되는 과산화지질의 생성이 억

제되는 것으로 사료된다. Vanadate 투여에 의해 신장에서 catalase의 활성도가 현저히 증가하였으며 간장에서는 SOD 활성도가 대조군에 비해 약간 증가하였다. 이로 미루어보아 vanadate가 신장에서 hydroxyl radical을 현저히 형성하며, 간장에서는 vanadyl이 분자산소에 의해 vanadate로 산화되고 superoxide radical을 생성하여 SOD의 활성을 유도하는 작용이 있는 것으로 추정된다. 이러한 현상이 yeast cell과 결합시켜 얻은 복합체를 투여한 군에서는 나타나지 않았으므로 간장 및 신장에서 vanadate에 의해 형성되는 hydroxyl radical 및 superoxide radical의 생성을 현저히 억제시키는 것으로 사료된다. 본 조사결과로 보아 vanadate의 yeast와의 결합체 형성은 vanadate에 의해 유발되는 지질과산화 작용을 저해하는 것으로 사료된다.

Vanadate 및 vanadium yeast의 체내 분포를 조사한 결과 복강내 투여 후 혈액, 간 및 신장에서 모두 vanadium yeast 투여군이 vanadate 투여군보다 낮은 농도를 나타내었다. 따라서 vanadate의 yeast와의 결합체 형성에 따른 축적성 저해가 vanadate의 독성감소작용과 관련이 있을 것으로 추정된다.

결 론

자연계에 널리 분포하면서 화석연료 연소시 주로 발생하는 vanadium은 환경 및 산업 독성물질로 여겨져 왔으나 최근에는 생체내 미량금속으로 동물의 발생 및 성장에 필수적인 원소로 알려져 있다. 특히 혈당강화작용, 심근수축작용 등이 보고되면서 인슐린을 대체하는 새로운 당뇨병 치료제로서의 가능성이 제기되고 있으나 이에 수반하는 독성이 문제되고 있다.

Vanadate의 독성을 저감시키기 위해 yeast와 배양하여 얻어진 vanadium yeast의 독성영향을 조사하였다. Vanadate 투여군에서 나타나는 혈액학적 및 혈액생화학적 변화와 지질과산화 작용 및 항산화 활성에 미치는 작용이 vanadium yeast에서는 억제되는 것으로 나타나 yeast와의 결합체를 형성시킴에 따라 vanadate의 독성을 경감시킬 수 있는 것으로 나타났다.

참고문헌

- Adler, A.J., Caruso, C., Berlyne, G.M. (1995): The effect of aluminum on the vanadium-mediated oxidation of NADH. *Nephron*, **69**(1), 34-40.
- Beers, R.F., Sizer, I.W. (1952): A spectrophotometric methods for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *The Journal of Biological Chemistry*, **195**, 133-140.
- Bode, H.P., Friebel, C., Fuhrmann, G.F. (1990): Vanadium uptake by yeast cells. *Biochemical et Biophysica Acta*, **1022**, 163-170.
- Dai, S., McNeill, J.H. (1995): Ascorbic acid supplementation prevents hyperlipidemia and improves myocardial performance in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **27**(1), 11-18.
- Domingo, J.L., Gomez, M., Llobet, J.M., Corbella, J., Keen, C.L. (1991): Improvement of glucose homeostasis by oral vanadyl or vanadate treatment in diabetic rats is accompanied by negative side effects. *Pharmacol. Toxicol.*, **68**(4), 249-253.
- Domingo, J.L., Gomez, M., Llobet, J.M., Corbella, J., Keen, C.L. (1991): Oral vanadium administration to streptozotocin-diabetic rats has marked negative side-effects which are independent of the form of vanadium used. *Toxicology*, **66**(3), 279-287.
- Domingo, J.L., Sanchez, D.J., Gomez, M., Llobet, J.M., Corbella, J. (1993): Oral vanadate and Tiron in treatment of diabetes mellitus in rats: improvement of glucose homeostasis and negative side-effects. *Vet. Hum. Toxicol.*, **35**(6), 495-500.
- Donaldson, J., Hemming, R., Labella, F. (1985): Vanadium exposure enhances lipid peroxidation in the kidney of rats and mice. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **63**(3), 196-199.
- Gomez, M., Domingo, J.L., Llobet, J.M., Corbella, J. (1991): Effectiveness of some chelating agents on distribution and excretion of vanadium in rats after prolonged oral administration. *J. Appl. Toxicol.*, **11**(3), 195-198.
- Haider, S.S., el-Fakhri, M. (1991): Action of alpha-tocopherol on vanadium-stimulated lipid peroxidation in rat brain. *Neurotoxicology*, **12**(1), 79-85.
- Hamada, J. (1994): Vanadium induced hemolysis of vitamin E deficient erythrocytes in Hepes buffer. *Experientia*, **50**(1), 49-53.
- Heyliger, E.C., Tahiliani, G.A., McNeill, J.H. (1985): Effect of vanadate on elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats. *Science*, **227**, 1474-1477.
- Hudson, T.G.F. (1964): Vanadium : Toxicology and biological significance. *Elsevier Science Publishers*.
- Keller, R.J., Sharma, R.P., Grover, T.A., Piette, L.H. (1988): Vanadium and lipid peroxidation: evidence for involvement of vanadyl and hydroxyl radical. *Arch. Biochem. Biophys.*, **265**(2), 524-533.
- Kumpulainen, J., Koivistoinen, P., Lahtinen, S. (1978): Isolation and partial chemical characterization of chromium (III) fractions existing in Brewer's yeast and Sabouraud's liquid medium. *Bioinorg. Chem.*, **8**, 419-429.
- Macma, I.G. (1980): Vanadium an element in search of a role. *Trends Biochem. Sci.*, **5**, 92-94.
- Ortman, K., Pehrson, B. (1997): Selenite and selenium yeast as feed supplements for dairy cows. *J. Vet. Med.*, **44**, 373-380.
- Placer, Z.A., Cushman, L.L., Johnson, B.C. (1966): Estimation of product of lipid peroxidation(malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry*, **16**, 359-365.
- Russanov, E., zaporowska, H., Ivancheva, E., Kirkova, M., Konstantinova, S. (1994): Lipid peroxidation and antioxidant

- enzymes in vanadate-treated rats. *Comp. Biochem. Physiol. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, **107**(3), 415-421.
- Sakurai, H. (1994): Vanadium distribution in rats and DNA cleavage by vanadyl complex: implication for vanadium toxicity and biological effects. *Environ. Health Perspect.* 102 Suppl **3**, 35-36.
- Shi, X., Jiang, H., Mao, Y., Ye, J., Saffiotti, U. (1996): Vanadium (IV)-mediated free radical generation and related 2'-deoxyguanosine hydroxylation and DNA damage. *Toxicology*, **106**(1-3), 27-38.
- Shi, X.L., Sun, X.Y., Dalal, N.S. (1990): Reaction of vanadium (V) with thiols generates vanadium (IV) and thiyl radicals. *FEBS Lett.*, **271**(1-2), 185-188.
- Zaporowska, H., Wasilewski, W. (1992): Combined effect of vanadium and zinc on certain selected haematological indices in rats. *Comp. Biochem. Physiol. C.*, **103**(1), 143-147.